

DENEYSEL SOL VARİKOSEL OLUŞTURULMUŞ RATLARDA TESTİSLERDEKİ ERKEN YAPISAL DEĞİŞİMLER VE KOLLAJEN DÜZEYLERİNİN KANTİTATİF ANALİZİ

EARLY STRUCTURAL CHANGES AND THE QUANTITATIVE ANALYSIS OF COLLAGEN LEVELS IN TESTES OF RATS WITH EXPERIMENTALLY INDUCED LEFT VARICOCELE

TURAN, T., KÖSEOĞLU, M.H.,* AYBEK, Z., DEMİRKAN, N.,** ATAHAHAN, Ö., TUNCAY, Ö.L.

ÖZET

Varikoselli olgularda konnektif doku elemanlarının rolü, muhtemelen biyokimyasal ve patolojik değişimleri hakkında yeterli veri olmamasından dolayı çok fazla ilgi çekmemiştir. Çalışmamızın amacı, deneysel varikosel modeli oluşturulan ratlarda, testislerdeki yapısal değişimleri göstererek kollajenin testiküler hasardaki rolünü araştırmaktır.

Araştırmamızda kullanılan pubertedeki Sprague-Dawley ratlar gelişigüzel iki gruba ayrıldı. Grup I'deki 6 rata laparotomi ve sol renal ven eksplorasyonu, grup II'deki 9 rata ise laparotomi ve sol renal vene parsiyel ligasyon uygulandı. Deney modelleri oluşturulduktan 10 hafta sonra ratların iki taraflı testis dokuları alındı ve doku kollajen düzeyleri kantitatif olarak ölçüldü. Ayrıca seminifer tübüller ve interstisyel dokudaki morfolojik değişiklikler ışık mikroskobu ile değerlendirildi.

Grup II'de hem sağ hem de sol testis dokusunda ölçülen kollajen düzeyleri grup I'e göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.01$). Grupların kendi içerisindeki sağ ve sol testisleri arasında, kollajen düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

Histopatolojik incelemede grup I'de testiküler morfolojide herhangi bir anormallik tespit edilmedi (Johnsen Skor 10). Grup II'de ise bilateral olmak üzere germ hücresi deskuamasyonu, kapiller proliferasyon ve venöz konjesyon saptandı.

Testiküler kollajen artışının, varikoselin gelişimi esnasında infertilite oluşturan patolojik işlevin bir parçası olabileceği sonucuna varıldı.

ABSTRACT

The role of connective tissue elements in patients with varicocele has received little attention, probably because of the deficiency of information regarding its biochemical and pathological aspects. Our aim was to investigate the role of collagen on testicular damage in experimentally varicocele induced rats and also to demonstrate the structural changes in testicular tissue.

In our study Sprague-Dawley rats which are in mid-puberty, were randomly assigned into two groups. Following laparotomy, the left renal vein exploration was performed in 6 rats of group I and partial left renal vein ligation was performed in 9 rats of group II. Ten weeks after experimentally induced varicocele, testicular tissues were obtained to determine the levels of collagen and the histopathological changes were examined under the light microscope.

In group II, the collagen levels of the right and left testes were significantly higher than in group I ($p<0.01$). The difference between the collagen levels of the right and the left testes in each group were not statistically significant ($p>0.05$).

Histopathological examination revealed no abnormality of testis morphology in group I (Johnsen Score 10). Germ cell desquamation, capillary proliferation and venous congestion were seen bilaterally in group II.

We concluded that, high levels of testicular collagen may be related to the pathological process that occurs during development of a varicocele, resulting in infertility.

ANAHTAR KELİMLER: Varikosel, testis, kollajen

KEY WORDS: Varicocele, testis, collagen.

Dergiye geliş tarihi: 15.9.1998

Yayına kabul tarihi: 20.11.1998

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji, *Biyokimya ve ** Patoloji Anabilim Dalı / Denizli

GİRİŞ

Varikosel oluşumundan; spermatik vendeki anormal valvler, sol spermatik venin sol renal vene dik açı ile ağzlaşması ve valvleri by-pass eden kollateral venlerin varlığı sorumlu tutulmaktadır.^{1,2} Son yıllarda Doppler ultrasonografi ile yapılan incelemelerde ise olguların % 57-58'inde varikoselin bilateral olduğu gösterilmiştir.^{3,4} Geniş bir hasta popülasyonunu etkilemesi ve varikosektominin etkinliğinin bilinmesine karşın, günümüzde varikoselin hangi mekanizma ile infertilite oluşturduğu hakkında değişik teoriler mevcuttur.

Kollajen, memelilerin hücrelerarası bağ dokusu (konnektif doku) komponentinin en önemli proteini olup, tüm proteinlerin yaklaşık % 25'ini oluşturmaktadır.⁵ Kollajen birikiminin birçok patolojik durumda yapısal doku değişiklikleri ile birlikte organ disfonksiyonuna yol açtığı bilinmektedir.

Gerek gonadal ven sistemi ve gerekse varikosedeki venöz drenaj açısından, ratlarla insan arasında çok önemli benzerlikler mevcuttur.⁶ Çalışmamızda, varikoselin infertilite oluşturmaya ile sonuçlanan patolojik işlevin bağ dokusu aktivasyonu ile ne derecede ilişkili olabileceği deneysel varikosel modeli ile araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda, denek olarak 10 haftalık sağlıklı erkek Sprague-Dawley (250-300 gr) ratlar kullanıldı. Denekler, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ve sıcaklığı sabit ortamda standart süt pelet besisi yemi ve musluk suyu ile beslendiler. Çalışma için 7 ve 10 denek içeren iki grup oluşturuldu.

Grup I'deki 7 denekte, eter anestezisini takiben orta hat kesisi ile karın içine girildi. Sol renal ven künt diseksiyon ile izole edildi ve daha sonra insizyon kapatıldı.

Grup II'deki 10 denekte, eter anestezisini takiben orta hat kesisi ile karın içine girildi. Sol renal ven izole edildi ve 0.85 mm kalınlığında metal tel, internal spermatik venin renal vene girdiği

yerin proksimalinden renal vene paralel konumda yerleştirildi. Daha sonra 4/0 ipek sütür ile renal ven bağlandı ve bağlama sonrası tel çekildiğinde renal vende yaklaşık % 50 oranında daralma sağlanarak kapatıldı.^{7,8} Deney modelleri oluşturulduktan sonra varikosel hasarı oluşumu için 10 hafta beklendi. On hafta sonra deneklere laparotomi yapılarak internal spermatik vende inspeksiyon ile dilatasyon olup olmadığı değerlendirildi.⁷

Histopatolojik değerlendirme için deney modelleri oluşturulduktan 10 hafta sonra alınan testis doku örnekleri 24 saat süre ile Bouin solüsyonunda tespit edildiler. Parafin bloklardan hazırlanan kesitler hematoxilen eosin (HE) ile boyandı. Seminifer tübüller ve interstisyel dokudaki morfolojik değişiklikler ışık mikroskobu ile değerlendirildi.

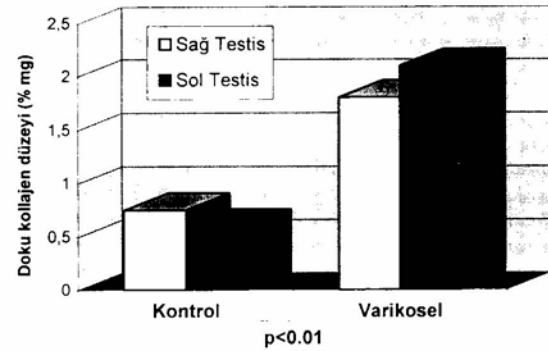
Biyokimyasal incelemede doku kollajen düzeyleri, hidroksipirolin üzerinden Woessner kolorimetrik metodu⁹ ile hesaplandı ve % (mg protein / 100 mg ıslık dokuda) olarak ifade edildi. İstatistiksel analizde "student t" testi kullanıldı.

BULGULAR

On haftalık bekleme süresi sonunda deneysel sol varikosel (DSV) oluşturulan grupta 9 ratta sol internal spermatik vende belirgin dilatasyon gözlemlendi, diğer 1 ratta inspeksiyon ile dilatasyon tespit edilmedi ve uygun deney modeli olmaması nedeni ile çalışma kapsamı dışında tutuldu. Kontrol grubunda ise 1 rat operasyondan 2 gün sonra kaybedildi.

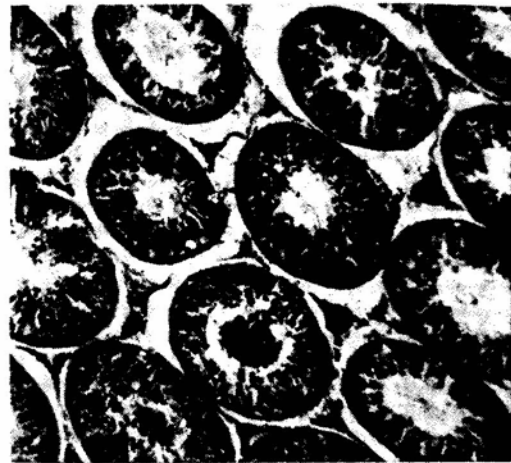
Doku kollajen düzeyleri ortalaması, kontrol grubunda sağ testiste % 0.75 ± 0.10 , sol testiste % 0.6 ± 0.09 olarak ölçülürken, deneysel sol varikosel oluşturulan grupta sağ ve sol testiste sırasıyla % 1.8 ± 0.37 ve % 2.1 ± 0.40 olarak bulundu. Kollajen düzeyleri, varikoselli grupta hem sağ hem de sol testis dokusunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksekti ($p < 0.01$) (Grafik 1)

Grupların kendi içerisinde sağ ve sol testislerde saptanan değerleri arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$).



Grafik 1: Testiküler doku kollajen düzeyleri (% mg)

Histopatolojik incelemede grup I'de testiküler morfolojide herhangi bir anormallik tespit edilmedi. Grup II'de (DSV) ise tüm deneklerde bilateral olmak üzere, germ hücresi deskuamasyonu, kapiller proliferasyon ve venöz konjesyon saptandı (Resim 1). Yine bu grupta 2 denekte germ hücre atrofisi tespit edildi. Işık mikroskobu ile yapılan incelemede, peritübüler ve interstisyel dokuda belirgin bir eozinofilik madde (kollajen) birikimi görülmedi.



Resim 1: Varikösel grubunda tüm deneklerde görülen germ hücre deskuamasyonu.

TARTIŞMA

Varikoselin infertilite oluşturulmasındaki muhtemel sebepler artmış testis kan akımı, hipertermi, hormonal fonksiyon bozukluğu, renal ve

adrenal metabolitlerin reflüsü ve hipoksidir.¹⁰ Günümüzde kabul edilen temel mekanizma ise, venöz göllenme sonucu oluşan intratestiküler ısı artışının spermatogenez ve testosteron yapımını olumsuz yönde etkilemesidir.¹¹

Nakada ve arkadaşları, özellikle 2 ve 3'üncü derecedeki varikoselli hastaların sol internal spermatic ven duvarında, kollajen ve nonkollajenöz proteinlerin kantitatif olarak arttığını ve bu artışın sperm sayısı ve hareketlilik oranındaki gerileme ile pozitif korelasyon gösterdiğini saptamışlardır. Araştırmacılar, varikoselli hastalarda sol internal spermatic ven dokusunda saptanan bu kollajen artışını, venöz kan akımındaki bozukluğa bağlamışlardır.¹²

Jones ve arkadaşları yaşları 13 ile 18 arasında değişen varikoselli olguların sol testislerinden alınan biopsilerde, peritübüler fibromyosit infiltrasyonu ile birlikte kollajen birikimine bağlı tübüler skleroz, hipospermatogenez, ortalama germ hücre/sertoli hücre oranında azalma saptamışlar ve varikoselli hastalarda testisteki yapısal değişimlerin, pubertede veya hemen sonra oluştuğu sonucuna varmışlardır.¹³

Testislerin temel venöz drenajını sağlayan internal spermatic venler arasında, özellikle lomber seviyede sağ-sol çapraz komünikan ilişkisi mevcudiyeti bilinmektedir.¹⁴ Yapılan deneysel çalışmalar sol varikoselin, 30 gün sonra testislerde belirgin bir histolojik değişim oluşturmadığını, ancak her iki testiste kan akımını artırdığını ve ısı artışına sebep olabildiğini göstermiştir.^{7,15} Aynı şekilde varikoselde sol testisin mevcudiyetinin sağ testisteki kan akımı artışı için gerek olmadığı, buradaki esas faktörün sol spermatic vendeki distansiyon olduğu yine sol orşiektomi yapılmış ratlarda deneysel sol varikösel modeli ile gösterilmiştir.

Araştırmacılar, sol spermatic vendeki distansiyonun borareseptörler, gerilmeye duyarlı reseptörler veya nöral ya da non-nöral bir "feedback" mekanizması yoluyla sağ testis kan akımını ve ısını artırdığını düşünmektedirler.¹⁵

Çalışmamızda deneysel sol varikösel oluşturmundan sonra testislerde ışık mikroskobu ile belirgin bir histopatolojik değişim saptanmamış ol-

masına karşın, her iki testiste kantitatif olarak saptanan yüksek kollajen düzeyleri, hastalığın farklı niteliğini ve erken tedavi ihtiyacını ortaya koymaktadır. Ancak, varikoselli olgularda varikoselektomi sonrası testis dokusundaki kollajen değişimini tespit etmeye yönelik herhangi bir araştırma henüz yapılmamıştır. Yalnızca Green'in yaptığı bir deneysel çalışmada, varikoselektomi sonrası testiküler kan akımının ve testis ısısının normale döndüğü gösterilmiştir.¹⁶

İdiopatik infertilite tanısı alan hastaların bir kısmının testislerinde de konnektif doku elemanlarında artış¹⁷ ve testiküler ısı yüksekliği saptanmış olması¹⁸, dolaşım bozukluğunun staz nedeni ile primer olarak değil, testiküler ısı artışına sebep olmak suretiyle bağ dokusu aktivitesini artırdığını düşündürmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızda varikoseelde kollajen aktivitesinin erken dönemde arttığının saptanmış olması, tedavinin mümkün olan en kısa zamanda yapılması gerektiği hipotezini desteklemektedir. Ancak konnektif doku elemanlarının üreme yetersizliklerindeki rolünü ve tedavinin başarısına yaptığı etkiyi açıklamaya yönelik, daha kontrollü ve uzun vadeli klinik ve deneysel çalışmalara ihtiyaç olduğu da bir gerçektir. Nitekim varikoselektomi, tüm olgularda düzelme sağlamamaktadır. Özellikle varikoselektomiden beklenen başarının değerlendirilmesinde, testislerdeki gelişmiş konnektif doku artışının varikoselektomi sonrası sperm parametrelerindeki düzelmeyi ne derecede etkilediği araştırmaya açık bir konudur.

KAYNAKLAR

1. Howards SS.: Varicocele. Fertil Steril 41: 356, 1984.
2. Murray RR, Mitchell SE, Kadir S, et al.: Comparison of recurrent varicocele anatomy following surgery and percutaneous balloon occlusion. J Urol, 135: 286, 1986.
3. Akkuş E, Özkara H, Alıcı B, Çelikel Y, Hattat H.: More bilateral varicoceles are diagnosed by color doppler ultrasonography. Int J. Androl, vol. 20 (supp 1), abstract 375, 1997.
4. Kadioğlu TC, Çayan S, Kadioğlu A, Ziyilhan O, Öz-

- can F, Tellaloğlu S.: Mikrocerrahi yüksek inguinal varikoselektomi yapılan hastalarda testise ait arter ve ven yapılarının görülme sıklığı. Türk Üroloji Dergisi, 23: 276, 1997.
5. Murray RK, Keeley FW.: The extracellular matrix; in Harper's biochemistry. Murray RK, Granner DK, Myes PA, Rotwell VW eds), 24, Edition, New Jersey, Appleton-Lange, 667, 1996.
6. Turner TT, Howards SS.: The venous anatomy of experimental left varicocele: comparison with naturally occurring left varicocele in the human. Fertil Steril, 62: 869, 1994.
7. Saypol DC, Howards SS, Turner TT and Miller E.: Influence of surgically induced varicocele on testicular blood flow, temperature and histology in adult rats and dogs. J Clin Invest. 68: 39, 1981.
8. Sydle FE, Cameron DF: Surgical induction of varicocele in the rabbit. J Urol, 130: 1005, 1983.
9. Woessner JF.: Collagen and hydroxyproline assay. Arch Biochem Biophys, 93: 440, 1961.
10. Pryor JL, Howards SS.: Varicocele. Urol Clin North Am, 14: 199, 1987.
11. Rajfer J.: Varicocele in; Congenital anomalies of the testis and scrotum. Walsh PC, Retik AB, Stamey TA, Vaughan ED (eds), Campbell's urology, seventh edition, Philadelphia, Saunders, vol. 2, 2187, 1988.
12. Nakata T, Sasagawa I, Kubota Y, et al: High level of noncollagenous protein of spermatic vein in patients with varicocele. J Urol, 151: 1539, 1994.
13. Jones MA, Sharp GH, Trainer TD.: The adolescent varicocele. A histopathologic study of 13 testicular biopsies. Am J Clin Pathol, 89: 321, 1988.
14. Wishahi M.: Detail anatomy of the internal spermatic vein and the ovarian vein, human cadaver study and operative spermatic venography; clinical aspects. J Urol 145: 780, 1991.
15. Turner TT and Lopez TJ.: Testicular blood flow in peripubertal and older rats with unilateral experimental varicocele and investigation into the mechanism of the bilateral response to the unilateral lesion. J Urol, 144: 1018, 1990.
16. Green KF, Turner TT and Howards SS.: Varicocele: reversal of testicular and temperature effects of varicolectomy. J Urol, 131: 1208, 1984.
17. Takaba H.: A morphological study of the testes in patients with idiopathic male infertility-immuno-histochemical analysis of collagens and laminin in human testes. Hinyokika-Kiyo, 36: 1173, 1990.
18. Zorngiotti AW.: Testis temperature, infertility, and the varicocele paradox. Urology, 16: 7, 1980.