



ARAŞTIRMA MAKALESİ

Köpek testislerinde hacim hesaplaması için Cavalieri metodu uygulanabilirliği

Murat Sırrı Akosman*, Vural Özdemir

Özet

Akosman MS, Özdemir V. Köpek testislerinde hacim hesaplaması için Cavalieri metodu uygulanabilirliği. *Eurasian J Vet Sci*, 2010, 26, 2, 63-67

Amaç: Sunulan bu çalışmada bir nesnenin hacminin hesaplanması için tarafsız ve etkin bir metot olan Cavalieri metodunun *invitro* olarak köpek testisi üzerine uygulanabilirliği araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 5 adet yetişkin köpekten alınan testisler kullanıldı. Arşimet prensibi ile hacimleri hesaplanan testislerin daha sonra Cavalieri metodu uygulanarak hacimleri hesaplandı ve sonuçlar karşılaştırıldı.

Bulgular: Yapılan ölçümler neticesinde sağ ve sol testisler için hacim ortalama olarak Arşimet prensibince 18.72 cm^3 , Cavalieri metoduyla da 18.25 cm^3 olarak bulunmuştur. İki metod ile elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadı ($p < 0.05$).

Öneri: Hacim hesaplamada endirekt yöntem olan su taşıma prensibi (Arşimet prensibi) küçük testislerde hacim hesaplamasında "kapiller etki" probleminin dolaylı hata verirken Cavalieri metodu nesnenin yapısından bağımsız olarak çalışır ve en karmaşık şekli olan nesnelerin hacimlerini bile kolayca hesaplayabilir. Elde edilen sonuçlar Cavalieri metodunun köpek testisinin hacminin hesaplanmasında kullanılabileceğini göstermiştir.

Abstract

Akosman MS, Ozdemir V. Capability of the Cavalieri method for volume estimation of the dog testis. *Eurasian J Vet Sci*, 2010, 26, 2, 63-67

Aim: Aim of this research was to investigate the capability of Cavalieri principle (unbiased and efficient method using to volume measurement) for the *in vitro* estimation of the volume of the dog.

Materials and Methods: Five male adult dog testes were used. First, testis volumes were measurement by water displacement method (Archimedes principle), then cavalieri method used to estimate the volume of same testis. Afterwards, the results of these methods were compared.

Results: The mean volume of the left and right testis together was found 18.72 cm^3 according to Archimedean principle and 18.25 cm^3 according to Cavalieri principles. Statistical difference was not found ($p < 0.05$).

Conclusion: The direct volume measurement method "water displacement" could not be Performed on the small testis because of the "capillary effect". However Cavalieri principle runs free from the shape and orientation of the material. The study showed that Cavalieri principle was capable to measure the testis volume.

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı ANS kampüsü, Afyonkarahisar, Türkiye

Geliş: 02.06.2010, Kabul: 15.08.2010

*akosmans@yahoo.com

Anahtar kelimeler: Cavalieri metod, köpek, testis hacmi

Keywords: Cavalieri principle, dog, testis volume

► Giriş

Köpek testisleri nispeten küçük, horizontal olarak bulunan, oblik, kabaca oval dış hatları olan, yanlardan basık, dorsal kenarı epididimis'le komşu olan üremeyle ilgili bir çift organdır (Miller 1993, Dyce ve ark 1997). Köpekler de testis boyutlarının sperma özellikleri ile ilgili parametrelerle çok sıkı ilişkisi olduğu bilinmektedir (Mialot ve ark 1985). Köpekler birçok araştırmada deney hayvanı olarak da kullanılabilen canlılardır (Edgerton ve ark 2010, Palm ve ark 2010, Everett ve ark 2010). Cavalieri metoduyla hacim hesaplanması daha önceki çalışmalarda çeşitli organlar üzerinde araştırılmış ve başarıyla uygulanmıştır (Altunkaynak ve Altunkaynak 2007, Li ve ark 2009, Pazvant ve ark 2009). Bunun yanında pek çok araştırmacı in vivo olarak Bilgisayarlı Tomografi görüntüleriyle Cavalieri metodunu birlikte kullanarak hacim hesaplamışlardır (Okur ve ark 2005, Duran ve ark 2007, Sahin ve ark 2008).

Testis hacimleri ise deneysel çalışmalarda (de Souza Predes ve ark 2009, Yoshida ve ark 2009, Liu ve ark 2010) olduğu kadar morfometrik çalışmalarda da (Almeida ve ark 2007, Herrera-Alarcon ve ark 2007) önem arz etmektedir.

Bir nesnenin örneğin sayı, hacim, yüzey alanı ve uzunluğu gibi üç boyutlu parametreleri hakkında sorular soran tarafsız ve etkin metotlar topluluğuna stereoloji denir (Gundersen ve ark 1988, Evans ve ark 2004). Stereolojik bir metot olan Cavalieri prensibi ise herhangi bir nesnenin hacmini veya bu nesneyi oluşturan komponentlerin hacmini ve hacim oranını hesaplamak için kullanılır. Bunun için nesne aralıkları bilinen paralel dilimlerle rastgele bir başlangıçla dilimlenir ve bu dilimlerin yüzey alanıyla yükseklikleri çarpılarak hacmi bulunur. Yüzey alanını hesaplayabilmek için her bir dilimin kesit yüzü üzerine düzensiz bir şekilde sıralanmış bir nokta ızgarası konulur ve kesit yüzlerinin içine temas eden bu noktalar sayılarak toplanır, her bir noktanın temsil ettiği alanla ve yükseklikle çarpılarak üzerinde çalışılan nesnenin hacmi bulunur (Gundersen ve Jensen 1987, Gundersen ve ark 1988). Cavalieri metodunda hata katsayısını 0.05 veya daha düşük bir değer elde etmek için yaklaşık 10 dilim üzerinde 100 ila 200 civarında nokta saymak yeterli kesinliği yakalayacaktır (Gundersen ve Jensen 1987).

Sunulan bu çalışmayla biyolojik uygulamalarda da kullanılan Stereolojik metotlardan birisi olan Cavalieri metodunun köpek testis hacmini ölçmek için uygulanabilirliğini ortaya koymak amaçlanmıştır.

► Gereç ve Yöntem

Materyal

Çalışma, Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Hastanesinde kastre edilmiş ortalama 20-25 kg ağırlığında ve ergin yaşta 5 adet erkek melez köpekten alınan

10 testis üzerinde gerçekleştirildi. Toplanan testisler immersiyon fikzasyon yoluyla tespit edilerek %10'luk nötral formalin solüsyonu içerisinde bir hafta bekletildi. Ortadan ikiye bölünerek hacim hesaplanması işlemine geçildi.

Hacim hesaplanması

Hacim hesaplanması için Arşimet prensibi ve Cavalieri metodu kullanıldı. Arşimet prensibi için, Cavalieri metoduyla ölçüme geçilmeden önce, testisler su dolu kaba atıldı ve taşıdığı su miktarı ölçülerek hacimleri hesaplandı.

Cavalieri metodu için ise tespit işlemi sonunda testisler 4.2 mm aralıklarla, bu aralık içindeki bir noktadan rastgele başlanarak dilimlendi ve 8 ila 11 arasında dilim elde edildi (Resim 1). Elde edilen dilimlerin sol tarafa bakan kesit yüzleri üzerine $d=0.5$ cm aralıkları olan (bir noktanın temsil ettiği alan $d=0.25$ cm²) noktalı ölçüm cetveli (Resim 2) yerleştirilerek dilimlerin içine düşen noktalar (\oplus) sayıldı (Resim 3). Böylece her bir dilimin yüzey alanı hesaplandı. Bu işlemlerden sonra her bir dilime düşen noktalar toplanarak kesit kalınlığıyla, her bir noktanın temsil ettiği alanla ve ikiye böldüğümüz için 2 ile çarpılarak toplam hacim bulundu; bu işlemleri temsil eden formül aşağıda belirtilmiştir (Gundersen ve ark 1988):

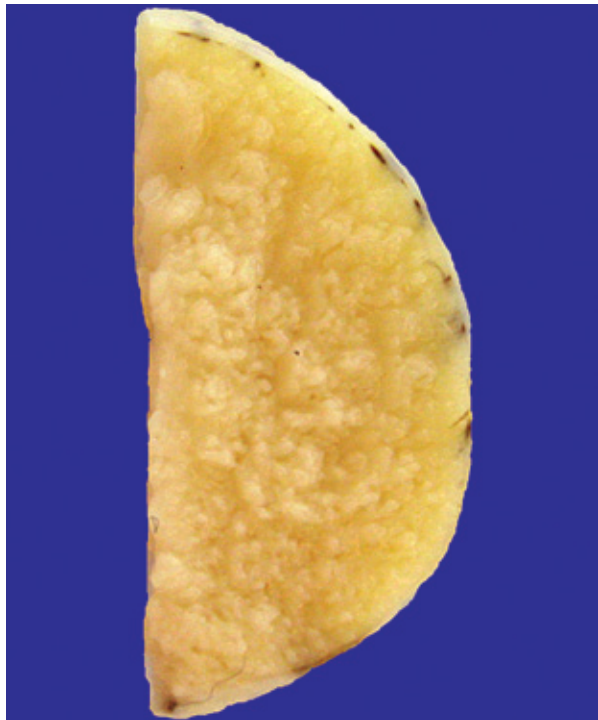
$$V = a(p) \times \sum P \times t \quad (1)$$

$a(p)$: Izgarada bir noktanın temsil ettiği alan (0.25 cm²)

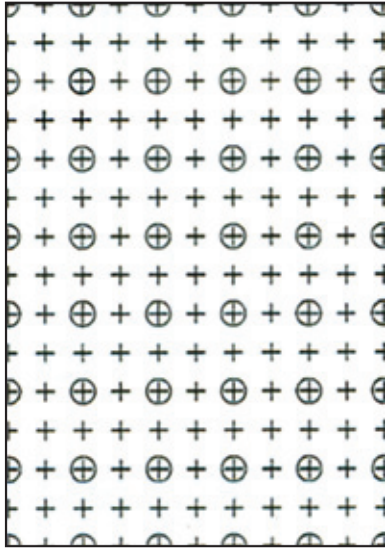
$\sum P$: Dilimlerin yüzeylerine düşen toplam nokta sayısı

t : Kesit kalınlığı (0.42 cm)

Testis hacmiyle birlikte çalışmanın hata katsayısı da hesaplanmıştır.



Resim 1: Alan hesaplaması yapılan testis dilimi.



Resim 2: Noktalı alan ölçüm cetveli ($d=0.5$ cm).

İstatistiksel analiz

Arşimet prensibi ve Cavalieri metodu arasındaki sonuçların istatistiksel önemi *Mann-Whitney U testi*, sağ ve sol testisler arasındaki hacim farklılıkları da Cavalieri metodu ve Arşimet prensibi için kendi aralarında Wilcoxon testiyle araştırıldı.

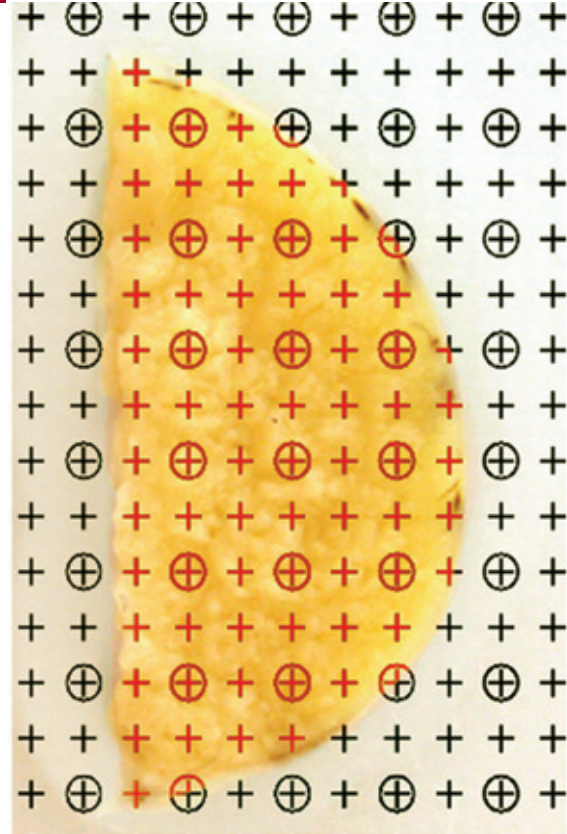
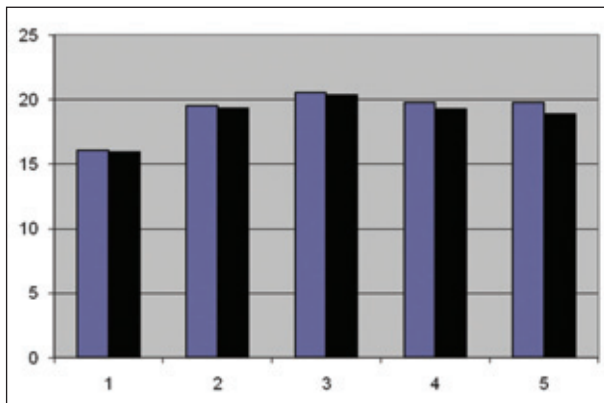
► Bulgular

Sunulan bu çalışmada ortalama testis ağırlığı 19.01 ± 1.5 g, testislerin uzunlukları (extremitas capitata - extremitas caudata arası) ortalama 3.9 ± 0.2 cm ve enleri (facies lateralis - facies medialis) de ortalama 2.86 ± 0.43 cm olarak bulundu.

Hacim verileri

Yapılan ölçümler neticesinde sağ ve sol testisler için ortalama hacim Arşimet prensibince 18.72 cm³, sol testisler için ortalama hacim 19.15 cm³, sağ testisler için ise 18.28 cm³ olarak bulundu (Tablo 1 ve 2). Aynı testisler üzerine uygulanan Cavalieri metoduyla ise sağ ve sol testisler için ortalama hacim 18.25 cm³, sol testisler için ortalama hacim 18.77 cm³, sağ testisler için 17.72 cm³ olarak hesaplandı (Tablo 1 ve 2).

Tablo 1: Arşimet prensibi ve Cavalieri metoduna göre sol testisler arasındaki fark (Mavi renk Arşimet prensibi sonuçlarını, Siyah renk Cavalieri metodu sonuçlarını göstermektedir).



Resim 3: Noktalı alan ölçüm cetveli uygulaması, tamamı kırmızı olan noktalar sayıldı.

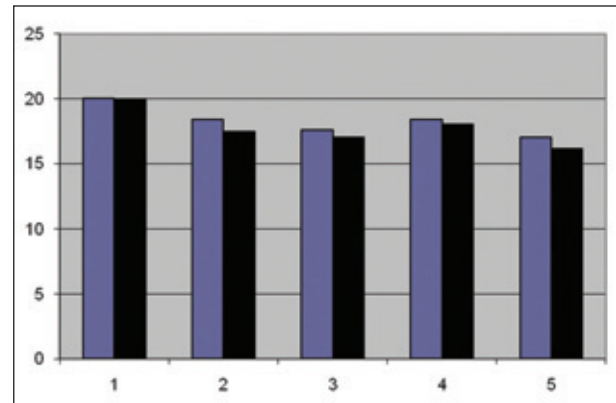
Çalışmanın stereolojik hata katsayısı

Çalışmada hesaplanan hata katsayısı (CE) ortalama 0.037 olarak bulundu.

İstatistiksel değerlendirme

Arşimet prensibi kullanılarak ölçülen her iki testisin ortalama hacimleriyle Cavalieri metodu kullanılarak ölçülen her iki testisin ortalama hacmi arasında istatistiksel olarak fark tesbit edilememiştir ($p>0.05$). Sağ ve sol testis hacimleri arasında da istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Bununla birlikte sol testislerin ortalama hacmiyle sağ testisler arasında çok az da olsa (0.05 - 0.1 cm³) farklılık gözlemlendi.

Tablo 2: Arşimet prensibi ve Cavalieri metoduna göre sağ testisler arasındaki fark (Mavi renk Arşimet prensibi sonuçlarını, Siyah renk Cavalieri metodu sonuçlarını göstermektedir).



► Tartışma

Testis hacmi, *invivo* olarak Orşidometre, Caliper ve Ultrason ölçümleriyle değerlendirilmiş ve araştırmacılar (Paltiel ve ark 2002, Gouletsou ve ark 2008) bunlardan Ultrason ölçümlerinin en doğru sonucu verdiğini belirtmişlerdir. Ancak Ultrasonun testis hacmini hesaplamadaki etkinliği ve doğruluğu tartışılmaktadır (Schiff ve ark 2004). Çünkü testis Ultrasonla muayene esnasında kolayca baskılanır ve bu yüzden yapı ve şeklinde bozulma meydana gelir. Bu da testis hacmini hesaplamak için Elipsoid formülü kullanılan Ultrason görüntülerinde hatalı sonuç alınmasına sebep olur. Ama yinede *invivo* olarak Ultrason görüntülerinde Lambert formülüyle hacim hesaplanması en doğru sonucu vermektedir (Paltiel ve ark 2002, Sakamoto ve ark 2007, Gouletsou ve ark 2008, Kabay ve ark 2009). Bunun yanında Kabay ve ark (2009) çalışmalarında Magnetic Resonance Imaging (MRI) görüntüleriyle Cavalieri metodunun bileşimiyle elde edilen hacimle, Orşidometre ve Ultrason görüntüleriyle elde edilen hacimleri karşılaştırmış ve MRI görüntülerinin de Orşidometre ve Ultrason görüntüleriyle karşılaştırılabilen sonuçlar verdiğini ve MRI görüntülemeindeki bazı sorunların aşılmasıyla yakın bir gelecekte hacim hesaplamasında daha da etkin olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

In vitro testis hacmi hesaplamak içinse en direkt metot su taşıma (Arşimet prensibi) metodudur ama "Kapiller etki"den dolayı 6-7 cm³'ün altındaki küçük hacimli testislerde uygulaması hatalı sonuçlar üretir (Gouletsou ve ark 2008). Halbuki Cavalieri metodu nesnenin yapısından, şeklinden bağımsız çalışır ve bu metotla düzensiz bir şekli olan yapının hacminden, yapı içindeki bileşenlerin hacmine kadar herşey hesaplanabilir (Gundersen ve Jensen 1987, Gundersen ve ark 1988).

Daha önce yapılmış olan çalışmalardaki hacim oranlarına bakılacak olursa; Gouletsou ve ark (2008) Tazı'lar üzerinde yapmış oldukları hacim araştırmalarında Ultrason görüntüleri yardımıyla ortalama testis hacmini 9.5±4.3 cm³ olarak, Paltiel ve ark (2002)'da yine tazı testislerinin ortalama hacmini su taşıma yöntemiyle 8.2 cm³ olarak bulmuştur. Minter ve DeLiberto'da (2008) çakal testislerini Caliper'le ölçmüşler ve ortalama testis hacmini 20.2±5.4 cm³ olarak bulmuşlardır. Sunulan çalışmanın bulguları bu çalışmaların bulgularıyla paralellik göstermektedir.

Bunlarla birlikte hata katsayısı bulgusu olan 0.037'lük değer ise Cavalieri metodu için uygun bir değerdir (Gundersen ve Jensen 1987).

► Öneri

In vivo ile *in vitro* olarak uygulanabilen ve *in vivo* MRI ve CT görüntüleriyle kombine edilerek kullanılan Cavalieri metodunun, *in vitro* olarak köpek testislerinde hacim hesaplanması amacıyla kullanılmasında en yakın sonuçlar alınabildiği görülmüştür. Su taşıma

metodunun bile yetersiz kaldığı durumlarda Cavalieri metodu rahatlıkla ve güvenle uygulanabilecek bir metottur. Yapılacak herhangi bir morfometrik ya da histopatolojik çalışma öncesinde testis hacimlerinin bu metotla kolaylıkla ölçülebileceği saptanmıştır.

► Kaynaklar

- Almeida FF, Leal MC, França LR, 2006. Testis morphometry, duration of spermatogenesis, and spermatogenic efficiency in the wild boar (*Sus scrofa scrofa*). *Biol Reprod*, 75, 792-799.
- Altunkaynak BZ, Altunkaynak ME, 2007. Relationship of body weight and volume of liver. A morphometrical and stereological study. *Saudi Med J*, 28, 891-895.
- de Souza Predes F, Diamante MA, Dolder H, 2009. Testis response to low doses of cadmium in Wistar rats. *Int J Exp Pathol*, 10, [Epub ahead of print].
- Duran C, Aydinli B, Tokat Y, Yuzer Y, Kantarci M, Akgun M, et al 2007. Stereological evaluation of liver volume in living donor liver transplantation using MDCT via the Cavalieri method. *Liver Transpl*, 13, 693-698.
- Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG, 1996 Textbook of veterinary anatomy, 2nd ed., W.B. Saunders Company, pp: 445.
- Edgerton DS, Basu R, Ramnanan CJ, Farmer TD, Neal DW, Scott M, et al 2010. Effect of 11{beta}-hydroxysteroid dehydrogenase-1 Inhibition on hepatic glucose metabolism in the conscious dog. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 16, [Epub ahead of print].
- Evans MS, Janson AM, Nyengaard JR, 2004. Quantitative methods in neuroscience: a neuroanatomical approach. 1th ed., Oxford University Press, pp:4.
- Everett TH, Wilson EE, Hulley GS, Olgin JE, 2010. Transmural characteristics of atrial fibrillation in canine models of structural and electrical atrial remodeling assessed by simultaneous epicardial and endocardial mapping. *Heart Rhythm*, 11, [Epub ahead of print].
- Gouletsou PG, Galatos AD, Leontides LS, 2008. Comparison between ultrasonographic and caliper measurements of testicular volume in the dog. *Anim Reprod Sci*, 108,1-12
- Gundersen HJ, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, et al 1988. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS*, 96, 379-394.
- Gundersen HJG, Jensen EB, 1987. The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc*, 147, 229-263.
- Herrera-Alarcon J, Villagomez-Amezcuca E, Gonzalez-Padilla E, Jimenez-Severiano H, 2007. Stereological study of postnatal testicular development in Blackbelly sheep. *Theriogenology*, 68, 582-591.
- Kabay S, Yucel M, Ozden H, Yaylak F, Ozbek O, Gumusalan Y, 2009. Magnetic resonance imaging is a complementary method to stereological measurement of testicular volume. *Urology*, 73, 1131-1135.
- Li C, Yang S, Chen L, Lu W, Qiu X, Gundersen HJ, et al 2009. Stereological methods for estimating the myelin sheaths of the myelinated fibers in white matter. *Anat Rec (Hoboken)*, 292, 1648-1655.

- Liu XZ, Tang YG, Liu H, Tang LX, Wen RQ, 2010. Relationship between testis volume and types of spermatogenic cells from testicular biopsy in patients with azoospermia or cryptozoospermia. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 16, 52-54.
- Mialot JP, Guerin CH, Begon D, 1985. Testicular development and sperm output in the dog from birth to postpubertal period. *Andrologia*, 17, 450-460.
- Miller ME, 1993. *Miller's anatomy of the dog*, 3rd ed., W.B. Saunders Company, pp:508-509.
- Minter LJ, DeLiberto TJ, 2008. Seasonal variation in serum testosterone, testicular volume, and semen characteristics in the coyote (*Canis latrans*). *Theriogenology*, 69, 946-952.
- Okur A, Kantarci M, Akgun M, Alper F, Cayir K, Koc M et al 2005. Unbiased estimation of tumor regression rates during chemoradiotherapy for esophageal carcinoma using CT and stereology. *Dis Esophagus*, 18, 114-119.
- Palm C, Hartmann K, Weber K, 2010. Expression and immunolocalization of calcium transport proteins in the canine duodenum, kidney, and pancreas. *Anat Rec (Hoboken)*, 23, [Epub ahead of print].
- Paltiel HJ, Diamond AD, Canzio DJ, Zurakowski D, Borer JG, Atala A, 2002. Testicular volume: Comparison of orchidometer and us measurements in dogs. *Radiology*, 222, 114-119.
- Pazvant G, Sahin B, Kahvecioglu OK, Gunes H, Ince N.G, Bacinoglu D, 2009. The volume fraction method for the evaluation of kidney: A stereological study. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 56, 233-239.
- Sahin B, Mazonakis M, Akan H, Kaplan S, Bek Y, 2008. Dependence of computed tomography volume measurements upon section thickness: An application to human dry skulls. *Clin Anat*, 21, 479-485.
- Sakamoto H, Saito K, Oohta M, Inoue K, Ogawa Y, Yoshida H, 2007. Testicular volume measurement: comparison of ultrasonography, orchidometry, and water displacement. *Urology*, 69, 152-157.
- Schiff JD, Li PS, Goldstein M, 2004. Correlation of ultrasonographic and orchidometer measurements of testis volume in adults. *BJU Int*, 93, 1015-1017.
- Yoshida T, Ohno K, Morotomi Y, Nakamura T, Azuma T, Yamada H, et al 2009. Clinical and pathological features of ascending testis. *Osaka City Med J*, 55, 81-87