

# DENEYSEL TEK TARAFLI KRİPTORŞİDİZMLİ SIÇANLARDA TESTİKÜLER MAST HÜCRESİ VE FİBROZİSİN ARAŞTIRILMASI

## Investigation of Testicular Mast Cells and Fibrosis in Rats With Experimental Unilateral Cryptorchidism

Nuray BOSTANCIERİ<sup>1</sup>, İskender DURAN<sup>1</sup>, Mehmet YÜNCÜ<sup>1</sup>

### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmada deneysel tek taraflı kriptorşidizmlı sıçanlarda elektron mikroskopik inceleme ve testiküler mast hücreleri ve fibrozis arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışmamızda sıçanlar kontrol ve kriptorşid olarak iki gruba ayrıldı. Deney hayvanlarının kriptorşidizm modeli oluşturulduktan 15 gün sonra testisleri alındı. Bu dokulara ışık ve elektron mikroskopik incelemeler için rutin takip prosedurleri uygulandı. Işık mikroskopik incelemeler için H-E ve TRI boyaması yapıldı. Ayrıca immün reaktivite çalışmaları için anti MCT antikorunu kullanarak mast hücre sayısı değerlendirildi.

**Bulgular:** Çalışmamızda kriptorşidik testislerde interstisyel alanda seminifer tübüllerin birbirinden uzaklaşması, germ hücrelerin bazal membrandan ayrılması, perivasküler fibrozis, ödem, konjesyon, hemoraji, interstisyel alanda ve peritübüler alanda fibrozisin artışı, seminifer tübül çaplarında ise azalma gözlemlendi. Elektron mikroskopide seminifer tübül ve interstisyumda şiddetli dejeneratif değişiklikler, bazal lamina kalınlığının belirgin şekilde arttığı, Sertoli hücrelerinin sitoplazmalarında yoğun SER vakuolizasyonu ve anormal kristaya sahip mitokondriyonlar, Sertoli-Sertoli hücreleri ve Sertoli-spermatojenik hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar ile spermatojenik hücrelerin kendi aralarındaki sitoplazmik köprüler bütünlüğünü yitirmişti. Peritübüler alandaki fibrozis ile mast hücre sayısı arasında pozitif bir korelasyon saptandı.

**Sonuç:** Çalışmamızdaki deneysel kriptorşidizm modelinde mast hücre sayısı ile fibrozis arasında pozitif yönde bir korelasyon olduğu tesbit edildi.

**Anahtar Kelimeler:** Elektron Mikroskopik Yapı; Fibrozis; Kriptorşidizm; Mast Hücresi

### ABSTRACT

**Objective:** In this study, it was aimed to investigate the relationship between electron microscopic examination and testicular mast cells and fibrosis in rats with experimental unilateral cryptorchidism.

**Material and Methods:** In this study, rats were divided into two groups as control group and experimental group with cryptorchidism. The testes of the rats were extracted fifteen days after the Cryptorchidism model had been developed in rats. These tissues were processed according to standard methods for the light and electron microscopic analysis. TRI and H-E stains were used for light microscopic examinations. Also, the mast cells were evaluated by using anti MCT anticors for immunoreactivity studies.

**Results:** In our study, the diverge of seminiferous tubules from each other in interstitial space, separation/disconnection of germ cells from basal membrane, perivascular fibrosis, edema, congestion, hemorrhage, the increment in the fibrosis in interstitial space and peritubullar space, and the decreament in the diameters of seminiferous tubules were observed in testes with cryptorchidism. Electron microscopic analysis revealed severe degenerative changes in seminiferous tubules and interstisium, significant increase in the thickness of basal lamina, intense SER vacuolization and mitochondrions with anormal crista in the cytoplasm of sertoli cells, destruction in tight junctions between the sertoli cells each other and also sertoli cells and spermatogenic cells, decomposition of cytoplasmic bridges between the spermatogenic cells. The positive correlation was detected between the number of the mast cells and fibrosis in peritubuller space.

**Conclusion:** The positive correlation was detected between the number of the mast cells and fibrosis in experimental cryptorchidism model.

**Keywords:** Electron Microscopic Structure; Fibrosis; Cryptorchidism; Mast Cell

<sup>1</sup>Gaziantep Üniversitesi,  
Tıp Fakültesi,  
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Nuray BOSTANCIERİ, Dr. Öğr. Ü.  
(0000-0002-3765-8274)  
İskender DURAN, Yük. Lis.  
(0000-0002-9180-1131)  
Mehmet YÜNCÜ, Prof. Dr.  
(0000-0002-2519-6834)

### İletişim:

Dr. Öğr. Ü. Nuray BOSTANCIERİ  
Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi,  
Histoloji ve Embriyoloji AD, 27310,  
Gaziantep/Türkiye  
Telefon: +90 533 436 2747  
e-mail: nuraybostancieri@gantep.edu.tr

Geliş tarihi/Received: 20.08.2020

Kabul tarihi/Accepted: 11.11.2020

DOI: 10.16919/bozoktip.783053

Bozok Tıp Derg 2021;11(1):41-48

Bozok Med J 2021;11(1):41-48

## GİRİŞ

Kriptorşidizm, erkek genital sisteminde sık görülen (yeni doğanların yaklaşık %1'i) multifaktöriyel etkenlerle oluşan konjenital anomalidir. Palpe edilemeyen testislerin teşhisinde diagnostik laparoskopi %80-90 başarı oranına sahiptir (1). Kriptorşidizm; azalmış fertiliteye, testiküler maligniteye, testiküler torsiyona, inguinal hernilere ve psikolojik sorunlara yol açabildiğinden üzerinde durulması gereken önemli bir klinik durumdur. Tedavisinde 6-18 ay arası yapılan cerrahi operasyon, hormonal tedavilere göre daha iyi sonuçlar vermektedir (2). Tedavi edilmeyen kriptorşidizm vakalarında infertilite sık görülür (3). İnmemiş testislerde fibrosizin önemli derecede arttığı bildirilmiştir (4).

Mast hücreleri yaygın olarak, gevşek bağ dokusunun bulunduğu hemen her yerde bulunabilen hücrelerdir Mast hücrelerinin inflamatuvar, nonspesifik reaksiyonlar, fibrozis, anjiyogenezis, yara iyileşmesi, allerjik reaksiyonlar gibi fizyolojik; peptik ülser, ülseratif kolit, ürtikerya pigmentosa, skleroderma, hipertansiyon, interstisyel akciğer hastalıkları gibi patolojik birçok olayda rolleri vardır (5). Mast hücrelerinin fibroblast çoğalmasını ve kollajen sentezini indükleyerek fibroze neden olduğu bildirilmiştir (6). İnsan ve hayvan in vitro çalışmalarında mast hücrelerinin, proteazları (kimaz ve triptaz) içerdiği ve fibroblast çoğalmasını indüklediği gösterilmiştir.

Fibrozis hem mast hücreleri ile hem de inmemiş testis ile ilişkilendirilen bir patolojidir. Ancak literatürde kriptorşidizm modelinde mast hücre ile fibrozis arasındaki ilişkiyi araştıran çalışma sayısı sınırlıdır. Bu çalışmada deneysel tek taraflı kriptorşidizimli sıçanlarda histopatolojik ve ultrastrüktürel değişiklikler ile testiküler fibrozis ve mast hücreleri arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) tarafından 05.04.2017 tarihinde 2017/8 sayılı kararı ile onaylandı. Bu çalışmada, yapılan power güç analizine göre toplamda 10 tane 15-17 günlük 23-27 gr ağırlıktaki erkek Sprague Dawley sıçanlar kullanıldı. Bütün sıçanların, çalışma başlangıcında ve sonunda ağırlıkları tartıldı. Hayvanlar iki eşit gruba ayrıldı. Deney grubu olarak

seçilen gruptaki sıçanların sol testislerine unilateral kriptorşidizm oluşturuldu. Kontrol grubuna ise herhangi bir cerrahi işlem yapılmadı.

**Unilateral Kriptorşidizm Modeli:** Hayvanlar xylazine/ketamin hidroklorür/ip ile genel anesteziye alınarak yüzeysel bir kesi ile inguinal bölge derisi açıldı ve künt diseksiyonla sol gubernakulum ulaşıldı. Bitişik dokulardan ayrılan sol gubernakulum kendi içine ters-yüz edilerek eksternal inguinal halkadan abdominal boşluk içine geri itildi ve ardından sol gubernakulum eksternal inguinal halka ile birlikte sabitlendi (7).

Deneyin bitiminde testisler RADWAG AS 220.R2 (İldam, Türkiye) hassas terazi ile tartıldı. Çalışmanın sonunda çıkarılan testis dokuları, %10 formaldehit ile fikse edildi. Işık mikroskobu çalışmaları için ayrılan dokular Leica TP1010 (Heidelberg, German) doku takip cihazında takip edilerek parafin bloklara alındı. Dokular, Leica RM2245 (Heidelberg, German) mikrotomu ile 4-5µm kalınlıkta kesilerek, Hematoksilen-Eozin (H-E) ve Masson's Trikrom (TRI) ile boyandı. İmmün reaktivite çalışmaları için ise 1/7500 sulandırılmış Anti- Mast Cell Tryptase (MCT) primer antikor ve karşıt boyama için ise, Mayers-Hematoksilen kullanıldı. İmmunokimyasal değerlendirilmede, kontrol ve deney gruplarının her biri için 20 farklı alanda 400X büyütmede mast hücre sayımı yapıldı. Elde edilen sonuçlar istatistiksel analiz ile ortalama mast hücre sayısı ± standart sapma olarak verildi.

Seminifer tübül çapları için ImageJ 1.51K (<http://imagej.net>) adlı Analiz Programı ve Leica DM 750 (Heidelberg, German) ışık mikroskobu ile ölçümler yapıldı. Fibrozis değerlendirilmesi, TRI boyası yapılmış her bir testis dokusu için 20 farklı alan taranarak 400X büyütmede yapıldı. Fibrozis yüzde oranına göre H skorlama yöntemi uygulandı (1: < %5 fibrozis, 2: %6-25 fibrozis, 3: %26-50 fibrozis, 4:> %50 fibrozis).

Elektron mikroskobu için hazırlanan bloklardan ultramikrotom yardımıyla yaklaşık 70 nm kalınlığında ultra ince kesitler elde edilip gridler üzerine toplandı. Kesitler geçirimsiz elektron mikroskobu ile incelendi.

Elde edilen veriler IBM SPSS 22.0 () istatistik paket programı ile analiz edildi. Sayısal verilerin normal dağılımı için Shaphiro Wilk testi kullanıldı. Normal dağılıma uyan değişkenlerin gruplar arasında bir farkı için student t testi kullanıldı. p < 0,05 istatistiksel açıdan anlamlı olarak kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmada sol kriptorşid testis ağırlıkları sağ skrotal testise göre azalmıştı ( $p=0,003$ ). Grup içi karşılaştırmada ise kriptorşid grubunda sol testis ağırlığı sağ skrotal testis ağırlığına göre daha düşüktü ( $p = 0,239$ ), (Tablo 1). Kriptorşid grubun sol ve sağ testis seminifer tübül çapları kontrol grubunun seminifer tübül çaplarına göre azalmıştı (Şekil 1). Kriptorşid grubunun hem sol hem sağ testisinde perivasküler fibrozis artmıştı (Resim 1E), ( $p = 0,001$ ). Testis damar çevresindeki fibrozis kalınlıklarının gruplar arası karşılaştırılmasında da anlamlı bir fark tespit edildi (Şekil 2). Ayrıca kriptorşid grubundaki sol ve sağ testislerinin interstisyel ve peritübüler alanlarında fibrozisin kontrol grubuna göre arttığı gözlemlendi ( $p = 0,001$ ), (Tablo 2).

Histopatolojik incelemede; kontrol grubu testisleri normal yapıdaydı (Resim 1A). Kriptorşid grupta ise; seminifer tübül çaplarında anlamlı bir azalma, germinatif epitelin bazal membrandan ayrılması,

lümene hücre dökülmesi ve interselüler alanda vakuolizasyon, interstisyel alanda tübüllerin birbirinden ayrılması ödem, perivasküler fibrozis, konjesyon ve hemoraji izlendi (Resim 1B-D). Kriptorşid grubun sağ skrotal testisinde daha az olmakla birlikte kriptorşid sol testise benzer patolojik bulgular gözlemlendi. İnterstisyel ve peritübüler alandaki mast hücre sayısında kriptorşid grubunun sol testislerinde; kontrol grubunun her iki ve kriptorşid grubunun ise sağ skrotal testislerine göre artış tespit edildi (Resim 1F-H). Peritübüler ve interstisyel alandaki fibrozis ile mast hücre sayısı arasında pozitif bir korrelasyon olduğunu saptandı. Sol kriptorşid testisin elektron mikroskopik değerlendirilmesinde; seminifer tübül ve interstisyumda şiddetli dejeneratif değişiklikler görüldü. Membrana propria total kalınlığının belirgin şekilde arttığı ve düzensizleştiği izlendi. Miyoid hücre sitoplazmalarındaki mikropinositotik veziküllerin dens hale geldiği gözlemlendi. Spermatojenik hücre sayısındaki

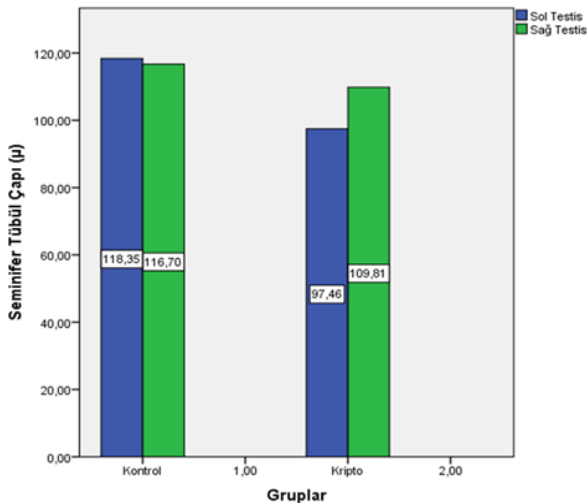
**Tablo 1.** Kontrol grupla karşılaştırıldığında kriptorşid grubunun testis ağırlıkları ( $p<0,05$ )

Gruplar	Ortalama $\pm$ SD(g)	p
Kontrol sol testis	0,46 $\pm$ 0,08	0,003
Kriptorşidizm sol testis	0,27 $\pm$ 0,03	
Kontrol sağ testis	0,42 $\pm$ 0,07	0,239
Kriptorşidizm sağ testis	0,38 $\pm$ 0,05	

**Tablo 2.** Sol ve sağ testislerin perivasküler fibrozisin gruplar arası karşılaştırılması

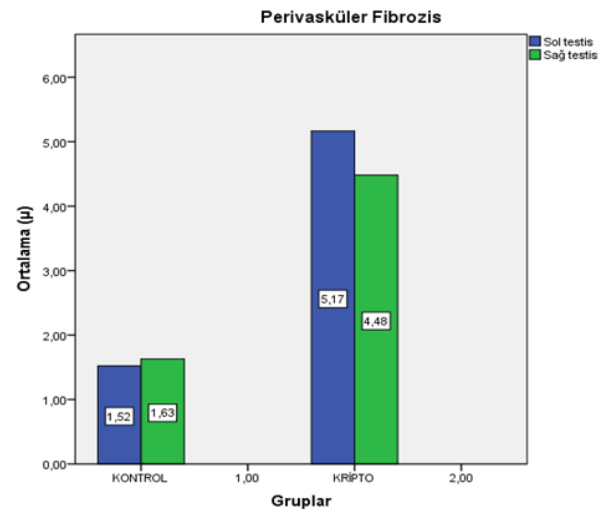
Gruplar	Ortalama $\pm$ SD	p
Kontrol sol testis	1,52 $\pm$ 1,20	0,001*
Kriptorşidizm sol testis	5,17 $\pm$ 3,05	
Kontrol sağ testis	1,63 $\pm$ 1,45	0,001*
Kriptorşidizm sağ testis	4,48 $\pm$ 2,62	

**Şekil 1.** Sağ ve sol testis seminifer tübül çapının gruplar arası karşılaştırılması



kripto: kriptorşid

**Şekil 2.** Deney ve kontrol grubuna ait sol ve sağ testis damarlarındaki perivasküler fibrozis kalınlıklarının gruplar arası karşılaştırılması



kripto: kriptorşid

**Resim 1A-** Kontrol grubu normal histolojik yapıda testis (H-E, X200)

**Resim 1B-** Kriptorşidizm grubu sol kriptorşid testis dokusunda ödem (H-E, X200)

**Resim 1C-** Kriptorşidizm grubu sol kriptorşid testis dokusunda konjesyon ve interstisyel alanda seminifer tübüllerin ayrılması (H-E X400)

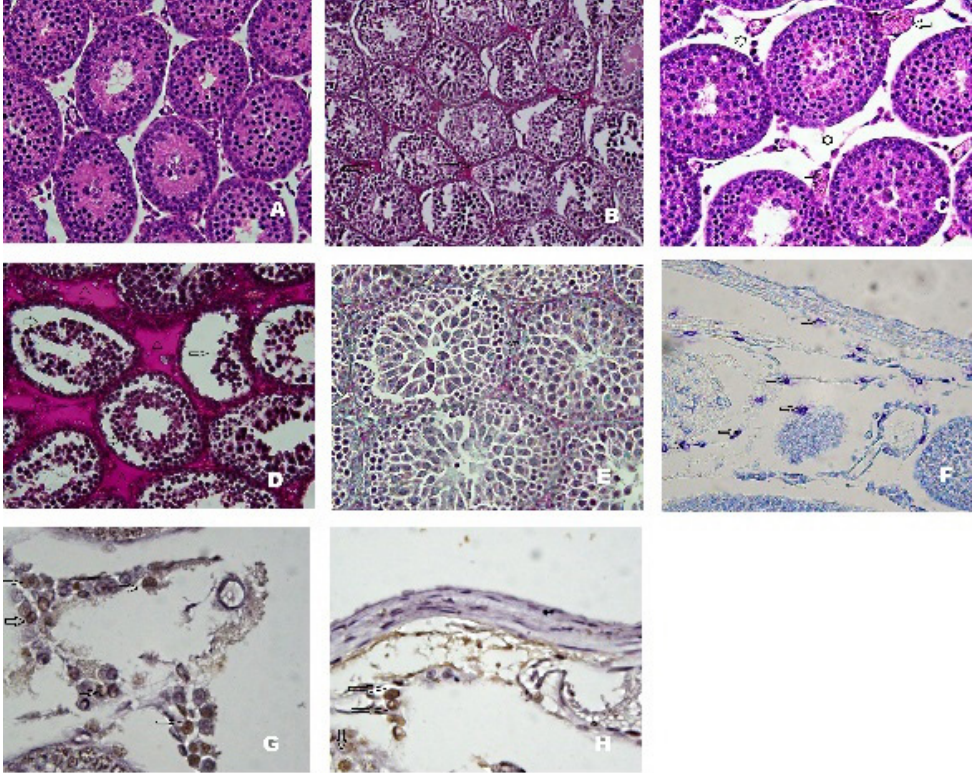
**Resim 1D-** Kriptorşidizm grubu sol kriptorşid testis dokusunda bazal membrandan ayrılma ve ödem alanları (TRI, X200)

**Resim 1E-** Kriptorşidizm grubu sol kriptorşid testis dokusunda peritübüler fibrozis (TRI, X400)

**Resim 1F-** Kriptorşidizm grubu sol kriptorşid testis dokusunda mast hücreleri (Toluidin mavisi, X200)

**Resim 1G-** Kriptorşidizm grubu sol kriptorşid testis interstisyel alanda mast hücre (Anti mast cell tryptase antibody, X400)

**Resim 1H-** Kriptorşidizm grubu sol kriptorşid testis tunika albuginea altında mast hücre (Anti mast cell tryptase antibody, X400)



azalma ve tübül epitelinde düzensiz geniş boşluklar izlendi. Sertoli-Sertoli hücreleri ve Sertoli-spermatojenik hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar bozulmuş ve spermatojenik hücrelerin kendi aralarındaki sitoplazmik köprüler de bütünlüğünü yitirmişti. Sertoli hücreleri sitoplazmasında yoğun düz endoplazmik retikulum (SER) vakuolizasyonu ve anormal kristaya sahip mitokondriyonlar bulunmaktaydı. Bazal lamina üzerinde sferikal ve merkezi çekirdekli spermatogonyumlar büzüşmüş ve çevrelerinde düzensiz boşluklar oluşmuştu. Sinaptonemal kompleks varlığıyla karakterize çekirdeğe sahip spermatozoidlerin çekirdek membranında ayrışma ve çözünmeler ile sitoplazmalarında vakuolizasyon ve dejenerasyon mitokondriyonların varlığı dikkat çekti. Normal

elektron dansiteye sahip Leydig hücrelerinde, düzensiz sınırlı çekirdek periferik kromatin sergilemekteydi. İnterstisyumda merkezi yerleşimli çekirdeğe sahip mast hücrelerinin sitoplazmalarında ise, çok sayıda elektron dens granüller bulunmaktaydı. Mast hücreleri, makrofajlar başta olmak üzere diğer bağ doku hücreleri ile yakın konumda yerleşmişti.

Aynı sıçandaki sağ skrotal testisin seminifer tübül bazal laminası ve membrana propriasının kalınlığında yer yer artış izlendi. Bazı alanlarda bazal laminada düzensizlikler hakimdi. Normal elektron dansiteye sahip miyoid hücrelerin ise; çekirdekleri yassı olup, periferik kromatin içermekteydi. Sitoplazmalarında da az sayıda mitokondriyon ve mikropinositotik veziküller bulunmaktaydı. Spermatogonyumlar bazal lamina

**Resim 2A-** Kriptorşid grubu Sol kriptorşid testis dokusu; membrana propria (MP) total kalınlığında artış ve tübül epitel hücreleri arasında dev boşluklar (\*) ile çekirdek zarlarında çözünmeler (ok) izlenmektedir. Spermatozit (Spt) sitoplazmalarında organel harabiyeti ve otolitik değişiklikler ile çekirdek (Ç) membranlarında düzensizlikler görülmektedir. Elektron dens Sertoli hücre sitoplazmasında(S) yoğun agranüler endoplazmik retikulum (SER) vakuolizasyonu, anormal kristaya sahip mitokondriyonlar (M) izlenmektedir. Çekirdekçik (Çck) Miyoid hücre (My). Bar: 1µm

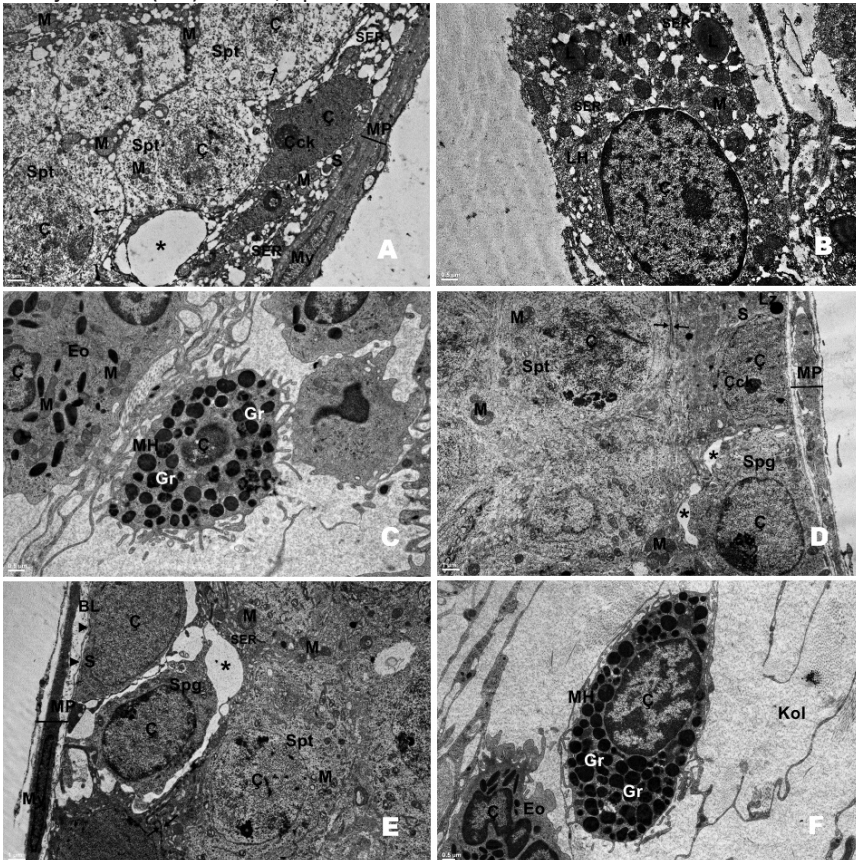
**Resim 2B-** Kriptorşid grubu Sol kriptorşid testis dokusu; İnterstisyumda yer alan Leydig hücrelerinin (LH) sitoplazmasında agranüler endoplazmik retikulum (SER) vakuolizasyonu ve lipid damlacığı (L) sayısında belirgin bir azalma görülmektedir. Çekirdek (Ç) ve Mitokondriyon (M). Bar: 0,5 µm.

**Resim 2C-** Sol testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü. İnterstisyumda yer alan mast hücrelerinin (MH) sitoplazmalarında çok sayıda elektron dens granüller (Gr) izlenmektedir. Çekirdek (Ç), Eozinofil (Eo) ve Mitokondriyon (M). Bar: 0,5 µm.

**Resim 2D-** Sağ testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü. Membrana propria (MP) total kalınlığında hafif artış ve spermatogonyumlarda (Spg) büzüşmeye bağlı hücreler arası boşluklar (\*) izlenmektedir. Sertoli hücreleri (S) ve spermatozitler (Spt) normal yapıda görülmektedir. Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar (ok) intaktır. Çekirdek (Ç), Çekirdekçik (Çck), Mitokondriyon (M) ve Lizozom (Lz). Bar: 1 µm.

**Resim 2E-** Sağ testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü. Membrana propria (MP) total kalınlığında hafif artış ile bazal lamina'da (BL) yer yer düzensizlikler (ok başı) ve spermatogonyumlarda (Spg) büzüşmeye bağlı hücreler arası boşluklar (\*) görülmektedir. Sertoli hücreleri (S) ve spermatozitler (Spt) normal görünümündedir. Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar (ok) normal yapıdadır. Çekirdek (Ç), Miyoid hücre (My), Mitokondriyon (M) ve Agranüler endoplazmik retikulum (SER). Bar: 1 µm.

**Resim 2F-** Sağ testis doku örneklerinin elektron mikroskopik görünümü. İnterstisyumda yer alan mast hücrelerinin (MH) sitoplazmalarında çok sayıda elektron dens granüller (Gr) izlenmektedir. Çekirdek (Ç), Eozinofil (Eo) ve Kollajen lifler (Kol). Bar: 0,5 µm



üzerindeydi ancak sitoplazmaları büzüşmüştü ve organel yönünden fakirdi. Seminiferöz tübül epitel hücreleri arasındaki spermatoisitler birbirlerine sitoplazmik köprülerle bağlı olup ancak normal elektron dansitedeki çekirdek zarlarında düzensizlikler hakimdi. Sitoplazmaları ise normal yapıda olup gruplaşmış mitokondriyonlar, mikrotübüller, endoplazmik retikulum sisternaları sergilemekteydi. Spermatojenik hücreler arasındaki sitoplazmik köprüler bütünlüklerini korumaktaydı. Sertoli hücrelerinin, bazalden lümene kadar uzanan sitoplazmalarında iyi gelişmiş SER, belirgin golgi kompleksi ve az gelişmiş granüler endoplazmik retikulum (GER) ve lizozomlar gözlemlendi. Lipid damlacıkları yönünden zengin bu hücreler, ayrıca tübüler tip mitokondriyonlara da sahipti. Komşu Sertoli hücreleri arasında sıkı bağlantı komplekslerinin de bütünlüklerini koruduğu belirlendi. İnterstisyumda fibroblastlar, makrofajlar, mast hücreleri, kan ve lenf damarlarının yanı sıra Leydig hücreleri de bulunmaktaydı. Leydig hücreleri düzensiz sınırlı çekirdeğe sahipti ve sitoplazmalarında normal yapıda tübüler kristal mitokondriyonlarla, lipid damlacığı sayısında azalma dikkat çekiciydi. İnterstisyumdaki mast hücreleri özellikle kan damarlarına yakın yerleşim göstermekteydi. Mast hücrenin çekirdeği merkezi yerleşimli olup, sitoplazmalarında çok sayıda elektron dens granüller sergilemekteydi (Resim 2A-2F).

## TARTIŞMA

Kriptorşidizm erkek genital sisteminin en sık görülen konjenital anomalilerden biridir. Kriptorşidizm; azalmış fertilitateye, testiküler maligniteye, testiküler torsiyon ve travmalara yine bununla ilişkili inguinal hernilere veya psikolojik sorunlara yol açabildiğinden uzun yıllar boyunca klinik bir sorun olmuştur (8,9).

Bizim çalışmamızda kriptorşid grubu ile kontrol grubundaki hayvanların ağırlıklarında bir fark bulunmadı. Bu bulgu kriptorşidizmin vücut gelişimini etkilemediğini düşündürdü. Ancak inmemiş (sol) testislerin, kontrol grubunun sol testislerinden daha hafif olması testisin skrotuma inmeyip inguinal kanalda kalmasının büyümesini olumsuz etkilediğini izah edebilir. Kriptorşid grubunda seminifer tübül çaplarının azalmış olması testislerdeki ağırlık kaybının seminifer tübüllerdeki değişikliklerle ilgili olabileceğini göstermektedir. Kriptorşid grubunda sağ skrotal

testislerin seminifer tübülleri de daha az olmakla beraber etkilenmişti. Suskind ve arkadaşları 86 hastadan alınan testis biyopsi inceleme sonuçlarına göre; bir yaşından küçük çocuklarda seminifer tübül çapını 55 µm tesbit ederken, bir yaşından büyük çocuklarda ise 46 µm olarak ölçmüşlerdir (10). Aynı zamanda bir yaşından büyük çocuklarda germ hücre sayısında da azalma gözlemlenmiştir. Fibrozis derecesinin bir yaşından büyük çocuklarda önemli derecede arttığını ve artmış fibrozis derecesinin seminifer tübül çapının küçülmesi ile ilişkili olduğunu tesbit etmişlerdir (10).

Çalışmamızda; kontrol grubunda sağ ve sol testis seminifer tübül ve lamina propriası normal kalınlık ve yapıda izlenirken, kriptorşid grubunda özellikle sol kriptorşid testiste seminifer tübül çapında anlamlı bir azalma, germinal epitelde dejeneratif değişiklikler, ödem, konjesyon, bazal membrandan ayrılmalar ve vakuolizasyon izlendi. Elektron mikroskopik incelemelerde ise; kriptorşid sol testiste daha yoğun olmak üzere seminifer tübül ve interstisyumda dejenerasyon, membrana propria kalınlığında artış, sertoli hücrelerinde SER vakuolizasyonu, anormal kristal mitokondriyonlar ve Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantı komplekslerinde düzensizlikler ve leydig hücrelerinde lipid damlacıklarının birikimi gözlemlendi. Kerr ve ark. yaptığı bir çalışmada, ince yapı düzeyinde oluşan bu değişikliklerin; kriptorşid testisteki antijen bağlayan proteinlerin (ABP) salgılanmasındaki azalmaya bağlı gelişen fizyolojik değişiklikler olabileceği ileri sürülmüştür (11). Ayrıca kriptorşid testislerdeki bu lipid damlacıklarının artışı abdominal testis leydig hücrelerinin sentetik aktivitesinin azalması ve sonuçta steroid öncüllerinin birikimi şeklinde açıklanabilir (12). Yine kriptorşid grubun her iki testisinde de interstisyel ve peritübüler alanda fibrozis artışı gözlemlendi. Mast hücrelerin çoğunluğunun interstisyel alanda ve tunika albuginea altındaki küçük damarların çevresinde ve leydig hücrelerinin arasına lokalize oldukları izlendi. Fibrozis kriptorşid testislerde özellikle 1 yaşından sonra gelişmektedir. Fonksiyonel parankim dokusu fibrozis ile yer değiştirirken germ hücre sayısında da yaşa bağımlı olarak bir azalma görülmektedir (13). Muhtemelen bu olay, inflammatuar sürecin sonunda gelişen bir durumdur. Bu da inmemiş testisteki bozukluğun peritübüler inflammatuar süreci başlattığını desteklemektedir. Fibrozisin artması bazal membran kalınlaşmasına ve

germ hücre sayısında azalmaya neden olmaktadır (10). Mast hücreleri fibroblastları aktive etmekte ve kollajen sentezini artırmaktadır. Ayrıca mast hücrelerinin fibrozisi düzenlemesindeki diğer bir mekanizma ise matriks metallo proteinazlarının aktivasyonudur (6). Triptaz mast hücreleri tarafından salgılanan, fibroblast proliferasyonunu ve kollajen sentezini artıran en önemli molekülüdür. Mast hücre triptazının fibroblastlarda mitojen etki göstermesine ek olarak aynı zamanda ekstraselüler matriks proteinlerinin de artışına neden olabileceği ortaya konulmuştur (14). Yine triptaz, tip 1 kollajen sentezini indüklemekte ve fibroblastları kollajen sentezi için harekete geçirmektedir (15). Bu olay ise, fibrozis etiolojisinde kritik rol oynamaktadır (16). İnfertilitede, seminifer tübül duvarının kalınlaşmasındaki fibrotik süreci de triptaz indüklemektedir. Mast hücreleri böylece indirekt olarak inflamasyonda rol oynayıp hem germ hücre hasarına hem de seminifer tübül duvarında fibrozise neden olabilmektedir.

Çalışmamızda mast hücre sayısı ile peritübüler ve interstisyel alandaki fibrozis arasında pozitif yönlü bir korrelasyon bulundu. Ayrıca mast hücre sayısının tunika albuginea altındaki damarların çevresinde daha fazla olduğu tesbit edildi. Literatürde mast hücre sayısı ve fibrozis arasındaki ilişki farklı organlarda ve çeşitli patolojik durumlarda da gösterilmiştir. Örneğin Kondo ve ark. 70 glomerulonefritli hastadan alınan böbrek biyopsilerinde renal interstisyel fibrozisin, triptaz pozitif mast hücre sayısı ile korele olduğunu göstermişlerdir. Renal fibroblast kültürlerinde de triptazın, fibronektini ve tip 1 kollajeni artırdığı bildirilmiştir (14). Jezek ve arkadaşları idiyopatik infertilitesi ve azospermisi olan hastalardan alınan bilateral testiküler biyopsilerde mast hücre sayısının kontrol grubuna göre arttığını ve özellikle fibrozisin daha yoğun gözlemlendiği, interstisyel alanlarda mast hücre sayısının da daha fazla olduğunu rapor etmişlerdir (17). Ayrıca literatürde infertil erkeklerde spermatogenezis defekti olan testislerde mast hücrelerin sayılarının belirgin olarak arttığını rapor eden çalışmalar vardır (16,18,19). Literatür taramasında deneysel kriptorşidizm modeli üzerinde hormonal, terapotik, cerrahi ya da histopatolojik olarak birçok çalışma varken; mast hücre ile fibrozis arasındaki ilişkiyi araştıran çok az sayıda çalışmaya rastlanılmıştır. Biz de bu çalışmada

tek taraflı kriptorşidizm modeli oluşturarak testiste meydana gelebilecek histopatolojik ve ultrastrüktürel değişikliklerle, testiküler fibrozis ve mast hücreler arasındaki olası ilişkiyi araştırdık.

## SONUÇ

Çalışmamızda, inmemiş testislerde büyüme geriliği gözlemlendi. Kriptorşid grubunda ve özellikle inmemiş testislerde mast hücre sayısının tunika albuginea altındaki damarların çevresinde ve interstisyel alanda arttığı tespit edildi. Bu testislerde fibrozisin de artmış olması, bize mast hücre artışının fibrozis ile ilişkili olduğunu düşündürdü. Artmış fibrozisin seminifer tübül çaplarında azalmaya, bazal membranda kalınlaşmaya ve spermatojenik aktivitede bozulmaya neden olduğunu düşündürdü. Bu da artmış mast hücre sayısının infertilite ile yakından ilişkili olabileceğine dikkatimizi çekti. Kriptorşidizmin, skrotal testisleri de etkileyerek, dejeneratif değişikliklere nasıl yol açtığının anlaşılabilmesi için fibrotik sürecin sistemik yollarını araştıran daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

## Tasdik ve Teşekkür

Bu çalışma Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (BAPYB) tarafından (BAP No: TF. YLT.18.12) desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Braga LH, Lorenzo AJ. Cryptorchidism: A practical review for all community healthcare providers. *Can Urol Assoc.* 2017; 11(1-2Suppl1):26-32. doi: 10.5489/auaj.4343.
2. Bakre AG, Aderibigbe AO, Ademowo OG. Studies on neuropharmacological profile of ethanol extract of *Moringa oleifera* leaves in mice. *J. Ethnopharmacol.* 2013;149(3):783-9.
3. Connell CJ. A freeze-fracture and lanthanum tracer study of the complex junction between Sertoli cells of the canine testis. *J Cell Biol.* 1978;76(1):57-75.
4. Halis F, Yıldız T. Çocuklarda İnmemiş Testis. *Sakarya Tıp Dergisi.* 2016, 6(2):42-7
5. Loebenstein M, Thorup J, Cortes D, Clasen-Linde E, Hutson JM, Li R. Cryptorchidism, gonocyte development, and the risks of germ cell malignancy and infertility: A systematic review. *J. Pediatr. Surg.* 2019;55(7):1201-10.
6. Mechlin C, Kogan B. Mast cells, estrogens, and cryptorchidism: A histological based review. *J. Pediatr. Urol.* 2012;1(2):97-102
7. Krystel-Whittemore M, Dileepan KN, Wood JG. Mast cell: a multi-

- functional master cell. *Front Immunol.* 2016; 6;6:620. doi: 10.3389/fimmu.2015.00620.
8. Kimata M, Ishizaki M, Tanaka H, Nagai H, Inagaki N. Production of Matrix Metalloproteinases in Human Cultured Mast Cells: Involvement of Protein Kinase C—Mitogen Activated Protein Kinase Kinase—Extracellular Signal-regulated Kinase Pathway. *Allergol Int.* 2006;55(1):67-76.
9. Dündar M, Koçak I, Çulhaci N. A new experimental model for cryptorchidism: inguinoscrotal approach. *Urol. Res.* 2001;29(3):178-81.
10. Toppari J, Virtanen HE, Main KM, Skakkebaek NE. Cryptorchidism and hypospadias as a sign of testicular dysgenesis syndrome (TDS): environmental connection. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2010;88(10):910-9.
11. Grasso C, Zugna D, Fiano V, Robles Rodriguez N, Maule M, Gillio-Tos A, et al. Subfertility and risk of testicular cancer in the EPSAM case-control study. *PLoS one.* 2016;11(12):e0169174.
12. Suskind A, Hayner-Buchan A, Feustel PJ, Kogan BA. Fibrosis correlates with detailed histological analysis of human undescended testes. *BJU Int.* 2008;101(11):1441-5.
13. Kerr JB, Rich KA, de Kretser DM. Effects of experimental cryptorchidism on the ultrastructure and function of the Sertoli cell and peritubular tissue of the rat testis. *Biol Reprod.* 1979;21(4):823-38.
14. Ezeasor D. Light and electron microscopical observations on the Leydig cells of the scrotal and abdominal testes of naturally unilateral cryptorchid West African dwarf goats. *J. Anat.* 1985;141:27-40.
15. Mechlin CW, Levesque J, Feustel P, Kogan BA. Mast cell numbers negatively correlate with fibrosis in cryptorchid testes. *J. Pediatr. Urol.* 2014;10(3):527-31.
16. Kondo S, Kagami S, Kido H, Strutz F, Müller GA, Kuroda Y. Role of mast cell tryptase in renal interstitial fibrosis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2001;12(8):1668-76.
17. Cairns JA, Walls AF. Mast cell tryptase stimulates the synthesis of type I collagen in human lung fibroblasts. *J Clin Invest.* 1997;99(6):1313-21.
18. Gruber BL, Kew RR, Jelaska A, Marchese MJ, Garlick J, Ren S, et al. Human mast cells activate fibroblasts: tryptase is a fibrogenic factor stimulating collagen messenger ribonucleic acid synthesis and fibroblast chemotaxis. *J. Immunol.* 1997;158(5):2310-7.
19. Ježek D, Banek L, Pezerović-Panijan R, Goluža T, Schulze W. Mast cells in testicular biopsies of infertile men with "mixed atrophy" of seminiferous tubules. *Andrologia.* 1999;31(4):203-10. doi: 10.1046/j.1439-0272.1999.00287.x.
20. Maseki Y, Miyake K, Mitsuya H, Kitamura H, Yamada K. Mastocytosis occurring in the testes from patients with idiopathic male infertility. *Fertil Steril.* 1981;36(6):814-7.
21. Nagai T, Takaba H, Miyake K, Hirabayashi Y, Yamada K. Testicular mast cell heterogeneity in idiopathic male infertility. *Fertil Steril.* 1992;57(6):1331-6.