

**T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**STRES ÜRİNER İNKONTİNANS OLUŞTURULAN
DIŞI RATLARDA TESTOSTERON TEDAVİSİNİN,
ÜRODİNAMİK BULGULARA VE PELVİK TABAN
KASLARININ HİSTOPATOMORFOLOJİSİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Rashad MAMMADOV

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ceyhun ÖZYURT

İZMİR - 2009

ÖNSÖZ

Üroloji ihtisasım boyunca mesleki bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Oktay Nazlı olmak üzere hocalarım Prof. Dr. Necmettin Çıkılı, Prof. Dr. İbrahim Cüreklibatır, Prof. Dr. Gürhan Günaydın, Prof. Dr. Bülent Semerci, Prof. Dr. Erdal Apaydın, Prof. Dr. Çağ Çal, Doç. Dr. Barış Altay'a çalışmamın her aşamasında bana yardımcı olan tez danışmanım Prof. Dr. Ceyhun Özyurt'a, çalışmada konu ile ilgili fikir ve deneyimlerini paylaşan Op. Dr. Adnan Şimşir'e, uzmanlık eğitimi boyunca bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen Op. Dr. Burak Turna'ya, tezimin histolojik değerlendirme kısmında önemli katkılarından dolayı Doç. Dr. İbrahim Tuğlu'ya, denekleri beraber gerçekleştirdiğim Dr. Ergün Gürer ve Dr. Vedat Evren'e, birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma ve her konuda desteği ve anlayışı için sevgili eşim Aynura Mammadova'ya teşekkür ederim.

Dr. Rashad MAMMADOV

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	II
RESİMLER DİZİNİ.....	V
GRAFİKLER DİZİNİ	VI
1. GİRİŞ – AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Kadında Pelvik taban anatomisi	3
2.1.1. Periton	3
2.1.2. Pelvik iç organlar ve endopelvik faysa.....	3
2.1.3. Levator ani kası	4
2.1.4. Perineal membran.....	6
2.1.5. Yüzeyel perineal kaslar	7
2.2. Mesane, mesane boynu, üretra anatomisi.....	7
2.2.1. Mesane anatomisi	7
2.2.2. Mesane boynu anatomisi.....	8
2.2.3. Üretra.....	8
2.3. Stres Üriner İnkontinans.....	9
2.3.1. Tanımlama.....	9
2.3.2. SUİ Fیزیopatolojisi.....	10
2.3.3. SUİ’da risk faktörleri.....	11
2.3.4. Değerlendirme	12
2.3.5. Tedavi	13
2.3.5.1 Konservatif tedavi	13
2.3.5.2 Cerrahi tedavi	13
2.4. Testosteronun iskelet kasına etkisi	14
2.5. Testosteron Undekanoat	16
2.6. Beklenen yararlar ve sonuçların uygulamaya aktarımı	18

3.GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1. Hayvanlar ve anestezi.....	19
3.2. Cerrahi işlem ve deneysel model.....	19
3.3. Ürodinamik inceleme	23
3.4. Biyokimyasal değerlendirme.....	25
3.5. Histolojik değerlendirme	26
3.6. IŞIK MİKROSKOBİSİ	26
3.6.1. Işık Mikroskobu ile Yapılan Analizlerde Kullanılan Gereçler	26
3.6.2. Işık Mikroskobik Takip Şeması	27
3.6.3. Hematoksilen-Eosin Boyasının Hazırlanması.....	28
3.6.4. Hematoksilen-Eosin Boyama Tekniği.....	28
3.7. Morfometrik değerlendirme	29
3.8. İstatistiksel değerlendirme.....	30
4. BULGULAR	31
4.1. Pelvik taban kaslarının (levator ani kası) histolojik incelenmesi ve myofiberlerin enine kesit alanı	31
4.2. Kaçırma anı basıncı (LPP-leak point pressure).....	34
4.3. Kanda serbest testosteron düzeyi	37
4.4. Siyatik sinir kaudal kısmının hasar derecesi	37
4.5. Deney öncesi ve sonrası ağırlık farkı	39
5.TARTIŞMA.....	40
6.SONUÇLAR	43
7.ÖZET	44
8. SUMMARY	47
9. KAYNAKLAR.....	50

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Pelvik diyafram (alttan görünüş)	5
Resim 2: Levator ani kası ve ürogenital hiatus.....	6
Resim 3: Mid üretradan sagittal kesit	9
Resim 4: Pluripotent kök hücre diferansasyonu ile testosteronun vücut kompozisyonunu etkilemesini gösteren birçok etki bölgesini öngören varsayımsal model.....	16
Resim 5: Tek dorsal insizyon	22
Resim 6: Siyatik sinir diseksiyonu	22
Resim 7: Siyatik sinirin proksimalden kesilmesi.....	23
Resim 8: Cildin kapatılması	23
Resim 9: Ürodinami ekipmanı	24
Resim 10: Suprapubik kesi	24
Resim 11: Karın ön duvarının açılması	24
Resim 12: Mesanenin kesiden doğurtulması	24
Resim 13: Mesanenin U şeklinde asılması	25
Resim 14: Kateterin ciltaltı tünelden geçirilmesi	25
Resim 15: Mesanenin kateterizasyonu	25
Resim 16: Kateterin tespitlenmesi	25
Resim 17: Prone pozisyon	25
Resim 18: Üretradan kaçak.....	25
Resim 19: Grup 1 levator ani myofiber enine kesit alanı	32
Resim 20: Grup 2 levator ani myofiber enine kesit alanı	33
Resim 21: Grup 3 levator ani myofiber enine kesit alanı	33
Resim 22: Grup 4 levator ani myofiber enine kesit alanı	34
Resim 23: Grup 1 ürodinami eğrisi ve LPP değerleri	35
Resim 24: Grup 2 ürodinami eğrisi ve LPP değerleri	36
Resim 25: Grup 3 ürodinami eğrisi ve LPP değerleri	36
Resim 26: Grup 4 ürodinami eğrisi ve LPP değerleri	36
Resim 27: Siyatik sinirlerin histolojik incelemesinde cerrahi kontrol olan Grup 1 (SUI-CK) için korunan siyatik sinir yapısının diğer gruplarda değişik düzeylerde bozulması	38

ŞEKİL VE GRAFİKLER DİZİNİ

Şekil 1:	DeneySEL akış şeması.....	20
Grafik 1:	Gruplar arasında levator ani kasında ortalama myofiber kesit alanının karşılaştırılması	32
Grafik 2:	Grupların LPP değerleri açısından karşılaştırılması	35
Grafik 3:	Grupların kanda serbest testosteron değerleri bakımından karşılaştırılması	37
Grafik 4:	Grupların deney öncesi ve sonrası ağırlık farkları açısından karşılaştırılması (kilo artışı)	39

1. GİRİŞ – AMAÇ

Stres üriner inkontinans (SUI) detrüsor kontraksiyonu olmaksızın intraabdominal basınç artışı ile intravezikal basıncın üretral direncin üstüne çıkması ve mesaneden üretraya istemsiz idrar kaçışıdır. Kadınlarda 15 – 64 yaşları arasında SUI prevalansı %10 – %30 arasında değişim göstermektedir (1). Bu hastalık psikososyal öneme sahip olduğundan son yıllarda patogenezi ve tedavisi üzerinde önemle durulmaktadır. SUI'nin klinik bulguları genelde ürodinamik bulgularla konfirme edilmektedir ki bu da: artan abdominal basınç ile üretradan kaçışın izlenmesidir.

Kadınlarda mesane boynu ve bunun uzantısı olan üretra idrar kaçışını engellemekle kontinansı sağlamaktadır. Kontinansa ilgili bilinmesi gerekenler aşağıdaki gibi sıralanabilir:

- Maksimum üretral basıncın intravezikal basıncın üzerinde olması ile kontinans oluşmaktadır.
- İntraabdominal basınçtaki artışlar mesane ve proksimal üretraya eşit olarak yansımakta, üretral kapanma basıncındaki değişiklik olmadığı için kontinans devam etmektedir.
- İntraabdominal basınçtaki ani artışlar olunca üretral ve periüretral çizgili kaslarda refleks kontraksiyon olmaktadır (2).

Üriner inkontinans ve pelvik taban disfonksiyonu kadınlar arasında oldukça sık olarak ortaya çıkabilmektedir. Bu rahatsızlık yaşla beraber artış göstermektedir. Pelvik taban kaslarındaki hasar veya zayıflık SUI ve pelvik organ prolapsusuna yol açabilmektedir. Ulmsten'in “integral” hipotezine göre (3) levator ani kası pelvik organların desteğinde rol alan en önemli anatomik yapıdır.

Son zamanlarda androjenlerin kadınlarda kullanımına dair ilgi artmaktadır (4). Androjenlerin kas dokusuna anabolik etki gösterdiği iyi bilinmektedir(5). Erkeklerde testosteron, yağsız kas kitlesinde, kas çapında ve maksimal kas kuvvetinde artışa neden

olmaktadır. Bununla beraber testosteron yağ depozitlerinin azalmasına da yol açmaktadır. Erkeklerde testosteronun anabolik etkisi geniş kapsamlı araştırılmış olsa da, kadınlarda testosteronun anabolik etkisine dair bilgiler kısıtlıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda androjenlerin pelvik taban ve alt üriner sistem rahatsızlıklarında potansiyel rol oynayabileceği gösterilmiştir. Bu anatomik yapılarda yer alan kasların, özellikle levator ani ve üretral sfinkterin androjenlere sensitif olduğu izlenmiştir (6).

Bu çalışmada deneysel stres üriner inkontinans oluşturulan ratlarda testosteronun ürodinamik bulgulara ve pelvik taban kaslarının histopatomorfolojisine etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kadında pelvik taban anatomisi

Pelvik taban, peritonla vulvar cilt arasında yer alan periton, pelvik iç organlar, endopelvik fasya, levator ani kasları, perineal membran ve süperfisyal perineal kaslar olmak üzere pek çok katmandan oluşmaktadır.

2.1.1. Periton

Pelvise örten periton, ön tarafta batın ön duvar peritonunun devamı olarak öncelikle mesane fundusunu örter. Buradan devam ederek uterus korpusunu sarar ve mesane ve uterus arasında bir kıvrım oluşturur ki bu da excavatio vesicouterina ismi ile anılır. Uterus korpusu ve serviks arka yüzünü örttükten sonra batın boşluğunun en derin noktası (Douglas çukuru, excavatio rektouterina) Cul-de-sac'ı örterek arkada rektum serozası olarak devam eder.

2.1.2. Pelvik iç organlar ve endopelvik fasya

Bu tabaka, pelvik organlar ve bu anatomik yapıları pelvis duvarına tutan endopelvik fasyadan (özel bağ dokusu) oluşan bir iç viserofasyal tabaka olarak değerlendirilir. Pelvis tabanının ortasında yer alan uterus ve vajeni pelvis yan duvarına bağlar. Bu yapı üstte a. uterina hizasından başlayarak m. levator ani'ye kadar uzanır.

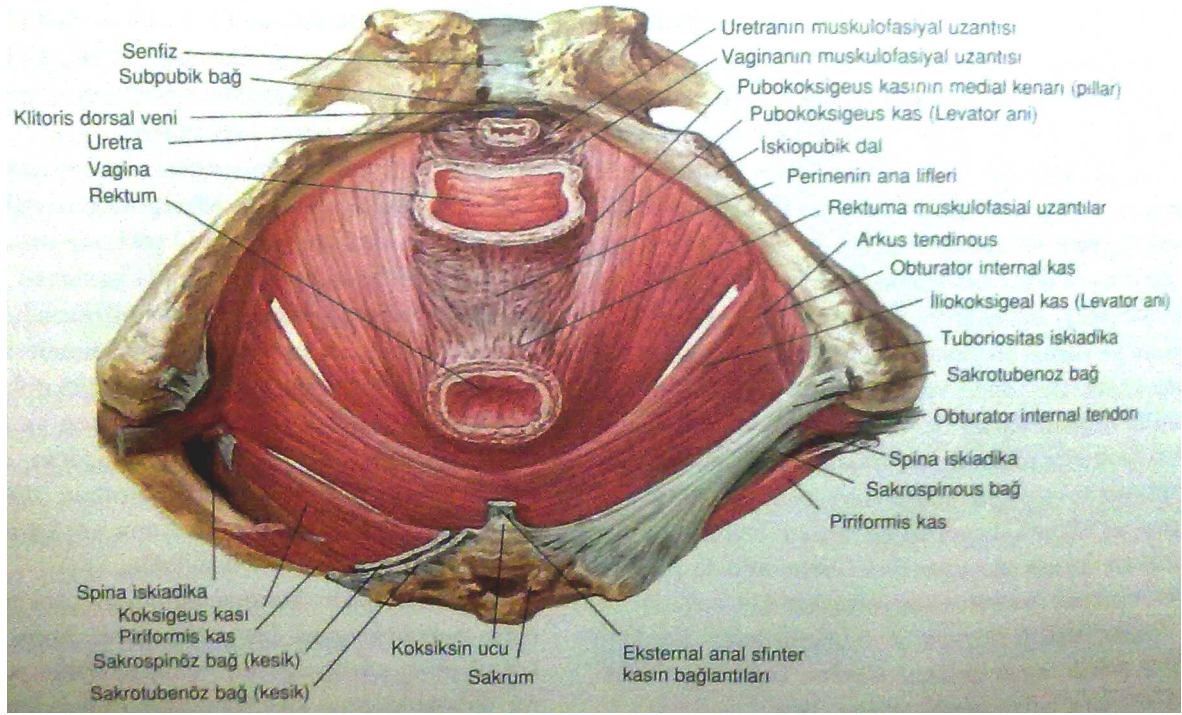
Endopelvik fasya vücudun başka yerlerindeki fasya ve ligamanlardan farklı olarak destek fonksiyonları yanında yer yer gevşek dokunuşu ile kan damarları ve sinirlerin de geçişine imkan veren nörovasküler kanallar olarak da fonksiyon görür. Endopelvik fasyanın uterusu bağlı yan kısmına parametrium, vajene bağlı kısmına paracolpos denmektedir.

2.1.3. Levator ani kası

Levator ani kası **pelvik desteğin ana yapısıdır.** Çünkü pelvik organlar ve intraabdominal basıncı karşılayan, ligamanlar ve fasyalar üzerine devamlı bir yükün gelmesi halinde oluşacak esneme ve kırılmaları önleyen yapı olarak çok önemli göreve sahiptir. Levator ani iki bölümden oluşmaktadır: **puboviseral ve ileokoksigeal kas.** Puboviseral kas , ortada U şeklinde trase çizerek simfiz pubisten başlayıp yine burada sonlanan ve rektum etrafında bir askı gibi uzanan kas kümesidir. Puboviseral kas da iki bölüme ayrılmaktadır: **pubokoksigeus ve puborektal kasları.** Daha lateralde pelvis yan duvarı fibröz dokusu ‘arcus tendineus levator ani’den (ATLA) başlayan ve horizontal yol çizerek pelvis açıklığını kapatan, organların üzerine yaslandığı bir tabaka oluşturan ileokoksigeal kas grubu yer alır.

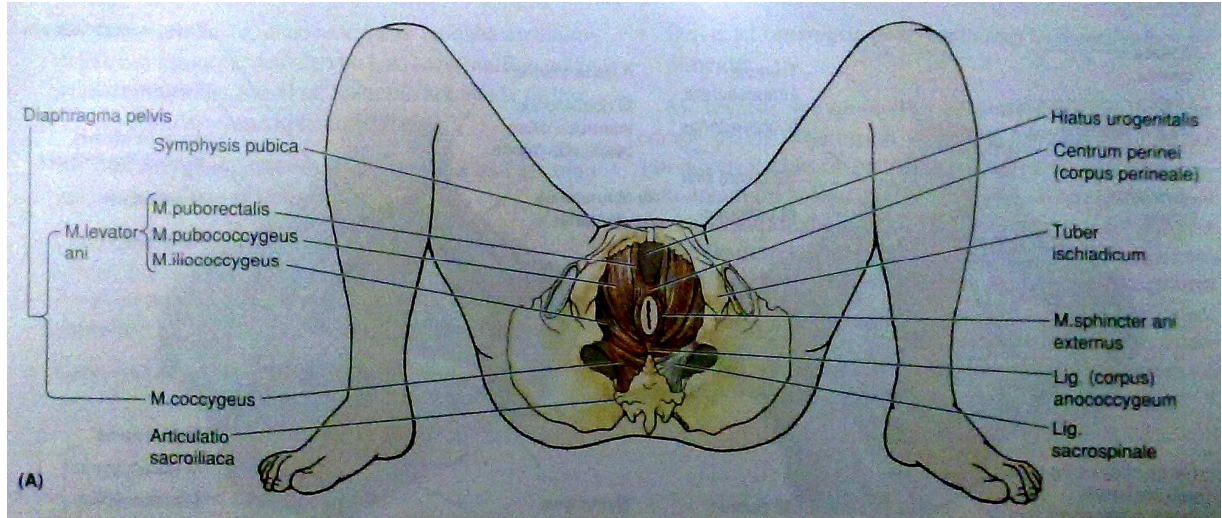
Puboviseral kas grubunun en proksimal kısmı pubokoksigeus kası olup pubis komşuluğunda koksiksin iç yüzüne uzanır. Klinikte bütün puboviseral kas pubokoksigeal kas olarak bilinir.

Puborektal kas vajen yan duvarına komşulukta seyrederek vajene tutunur. Kas daha geride devam ederek, bir kısmı rektumun internal ve eksternal sfinkteri arasına, diğer kısmı ise anorektal bileşkeye uzanırlar. Vajen ve pubik kemik arasında uzanım gösteren kaslara pubovajinal kaslar denir. Bu kaslar pelvis kas kontraksiyonları sırasında doğrudan üretraya bağlı olmamalarına rağmen üretranın elevasyonuna neden olurlar (**Resim 1**)



Resim 1: Pelvik diyafram (alttan görünüş). (Frank N Netter. Normal Anatomy of the Female Genital Tract and Its Functional Relationships in The Netter Collection of Medical Illustrations. Ed. Ernst Oppenheimer. Novartis – USA, s93, 1997).

Organ prolapasuslarının olduğu açıklığa “Hiatus Urogenitalis” denir. Rektum da bu açıklıktan geçmesine rağmen m. levator ani, anüse bağlı olduğu için rektumun adı geçmez. Özet olarak, hiatusun sınırlarını önde simfiz pubisle yanda m.levtor ani ve arkada anüs ve perineal cisim çizer. Normalde bu oluşum m. levator ani’nin statik aktivitesiyle kapalı durur. Kontraksiyon sırasında vajen, üretra ve rektum kapanarak pubis kemiğe doğru sıkışarak, pelvik taban ve organlar öne ve yukarıya doğru yükselirler (**Resim 2**)



Resim 2: Levator ani kası ve ürogenital hiatus (Keith L. Moore, Arthur F. Dalley, Kliniğe Yönelik Anatomi. Ed. Kayıhan Şahinoğlu. Nobel Tıp Kitabevi- İzmir,Türk s344, 2007.)

Diğer postürel kaslar gibi m.levator ani de sabit statik bir aktiviteye sahiptir. Anal sfinkterin anüsü kapatması gibi vajen lümenini kapatır ve statik durumda pelvis organlarının üzerine yaslanacağı bir horizontal yapı oluşturur.

2.1.4. Perineal membran

Dörtgen şeklindeki alt pelvis açıklığı ön üçgen bölümü perineal membranla kapatılır. Bu yapı derin transvers kas ve altında uzanım gösteren fasyadan oluşmaktadır. Himen halkası hizasında yer alarak bu yapı, üretra, vajen ve perineal cismi iskiopubik kollara bağlar. Perineal membranın hemen üzerinde kompresör üretra ve üetrovajinal sfinkter çizgili kasları yer alır. Bu anatomik oluşumlar mid ve distal üretranın kompresyonunda rol oynar.Eşkenar dörtgen şeklindeki açıklığın ön yarısı perineal membranla örtüldüğü halde, arka yarıda orta hatta anal sfinkter ve iki yanda iskiorektal fossalar yer alır.

2.1.5. Yüzeyel perineal kaslar

Önden arkaya doğru uzanan, vajen iki yanında bulbokaveröz kaslar ortada perineal cisimde birleşirler. Bununla beraber burada yüzeyel ve derin perineal transvers kaslar, perineal membran, anal sfinkter, posterior vajinal kas, puborektal ve pubokoksigeal kaslar birleşme noktası oluştururlar.

2.2. Mesane, mesane boynu, üretra anatomisi

2.2.1. Mesane anatomisi

Alt üriner sistemde idrarın depolandığı ve boşaltıldığı organdır. Mesanenin üst bölümü ve 1-2 cm'lik arka duvarı periton tarafından örtülmektedir. Mesane ön duvarı retropubik alana komşuluk gösterir ve retroperitonealdır. Altta mesane vajen ön duvarına ve servikse yaslanmaktadır. Mesane anatomik olarak 3 bölümden oluşmaktadır: boyun, fundus ve trigon. Mesane iç boşluğunu örten epitel özel bir epitel olup “üroepitelyum” adını alır. Transizyonel epitelden oluşan bu tabakanın altında gevşek bağ dokusundan yapılmış lamina propria bulunur. Epitel ve lamina propriadan oluşan mukozanın altında kas tabakası yer alır. Mesane boynunda kas 3 farklı tabakadan oluşmaktadır: iç-longitudinal, orta-sirküler, dış-longitudinal. İç-longitudinal kas tabakası üretraya da uzanım göstermektedir. Orta sirküler tabaka derin trigon kası ile birleşirken, mesane boynunda bir kas halkası oluşturmaktadır. Dış longitudinal tabaka mesane boynu seviyesinde bir örtü oluşturan kas tabakası görünümündedir. Ön tarafta bu tabaka simfiz pubis arka yüzeyindeki dokulara birleşmekte ve puboviseral kas olarak adlanmaktadır. Miksiyon sırasında puboviseral kaslar mesane boynunun açılmasına yardımcı olurlar. Arka bölümde dış longitudinal kas lifleri mesane tabanındaki kas kümelerine katılırlar. Bu kısım muhtemelen mesane boynunun kapanmasında rol oynamaktadır.

Trigon mesane tabanındaki üçgen şeklindeki alandır. Düzgün bir mukoza tabakası ile örtülü yassı görünümü vardır. Üst köşeler üreterlerin açıldığı köşeler yer alırken, alt köşede üretranın internal orifisi (iç) orifisi bulunur.

Trigonda iki kas tabakası yer alır: yüzeysel ve derin kas tabakası.

2.2.2. Mesane boynu anatomisi

Mesane boynu üroloji pratiğinde fonksiyonel anlam da taşımaktadır. Anatomik olarak mesane tabanının kalın tabakası içine üretra lümeninin girdiği bölgedir. Mesane boynu mesane ve üretradan farklı algılanır, çünkü farklı fonksiyonel özelliklere sahiptir. Fonksiyonel anlamda mesane boynu, bir veziköüretal birim olarak algılanır ve temel iki fonksiyonu üstlenir:

1. Çizgili ürogenital sfinkterin kontraksiyonu ile üretral lümenin daraltılması
2. M.levator ani kontraksiyonu ile mesane boynunun elevasyonu.

Bu mekanizma “Ektrensek Sfinkterik Mekanizma” olarak adlanır.

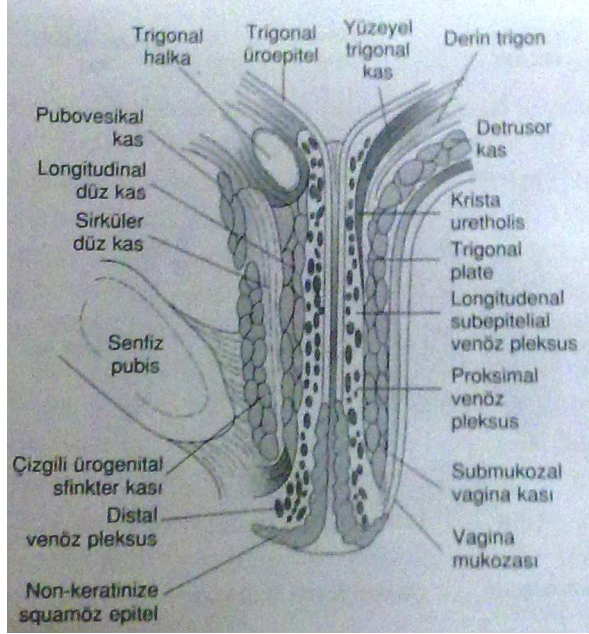
“İntrensek Sfinkterik Mekanizma”sında ise mesane boynu yapısına giren, ancak istemli kontraksiyonlardan etkilenmeyen anatomik yapılar yer alır.

2.2.3. Üretra

Üretra idrarın depolanmasında ve istemli olarak boşaltılmasında önemli görevleri olan, dolayısıyla üriner kontinansın kilit oluşumlarından biri sayılır. Ortalama 4 cm uzunluğunda, 6 mm genişliğindedir. Retropubik alandan perineal membranı geçerek vajenin adventisya tabakasına gömülü olarak seyrederek vajinal açıklığın en üst seviyesinde vestibüle eksternal meatus aracılığı ile açılmaktadır. Mukoza tabakası üstte transizyonel epitel ile devam ederken altta vestibülün nonkeratinize skuamöz epitel ile benzerlik gösterir. İki farklı epitelin sınırı değişik seviyelerde olmaktadır. Submukozada vasküler yapılar ve kas lifleri arasında kollajen

ve elastin taşıyan bağ dokusu bulunmaktadır(7) . Üretrada bulunan damar ağı hormonlara duyarlıdır (8) .

Üretranın kas tabakası düz ve çizgili kaslardan oluşur. Düz kaslar içte longitudinal tabakayı, dışta ise daha ince sirküler kas tabakasını içermektedirler. Üretranın en dış tabakası çizgili ürogenital sfinkterden oluşur. Üst 2/3 seviyede sfinkter lifleri öncelikle sirküler düzende bulunurken, distal 1/3’de ise sadece üretrayı değil vagina duvarını da sararak “üretrovaginal sfinkter” olarak ve inferior pubik ramus altında uzanarak perineal membran üzerinde ‘kompresör üretra’yı oluştururlar (9). Distal üretrada bu çizgili kas üretrayı üstten komprese ederek proksimal kısımda lümeni kapatır. **(Resim 3)**



Resim 3: Mid üretradan sagittal kesit. (Strohbehn K, De-Lance JOL. The Anatomy of Stres Incontinence. Oper Tech Gynecol Surg. 2:5-16,1997.)

2.3. Stres Üriner İnkontinans

2.3.1. Tanımlama

SUI detrusör kontraksiyonu olmaksızın intraabdominal basınç artışı ile intravezikal basıncın üretral direncin üzerine çıkması ve mesaneden üretraya istemsiz idrar kaçışıdır.

2.3.2. SUİ Fizyopatolojisi

Eskiden beri SUİ fizyopatolojisinde üretra desteğinin önemi bilinmektedir. Örneğin, 1800'lü yıllarda sfinkterik alana teflon enjeksiyonunun yapılması bunu desteklemektedir. 1923'de Bonney üetrovezikal bileşkenin ve üretranın simfizis pubis altına doğru yer değiştirmesinin idrar kaçırmaya neden olduğunu savunmuştur. 1949'da Marshal, Marchetti ve Krantz stres tip idrar kaçırmada vezikoüretal süspansiyonu bir tedavi seçeneği olarak öne sürmüşler. Enhorning SUİ fizyopatolojisi için 1961'de klasik hipotezini önermiştir. Bu hipoteze göre ancak mesane, mesane boynu ve proksimal üretra kemik pelvis içinde olursa kontinans devam edebilir (10).

McGuire stres tip idrar kaçırmının iki tipte olabileceğini göstermiştir (11):

1. Anatomik tipte SUİ
2. İntrensek sfinkter yetmezliği (İSY).

Bu iki tipin ayırımı için valsalva ile abdominal idrar kaçırmaya basıncının (AİKB) ölçülmesi önerilmiştir. AİKB < 60 cm su ise durum İSY lehine. 60-90 cm su gri zon olarak kabul edilmekte, > 90 cm su ise anatomik tipte SUİ varlığına işaret eder. Fakat daha sonraki araştırmalar bu yöntemin çok da doğru olmadığını ortaya koymuştur.

Abdominal basıncın uygun yansıması ve üretal direncin devamı ile kontinansın sağlanmasında üç anatomik yapı önem taşımaktadır:

1. Puboüretal ligamanlar

Anterior vajen duvarı kaldırmakla üretraya kompresyon yapar.

2. Subüretal vaginal hamak

Anterior puboüretal kas ve arkus tendineusa yapışarak desteklenmektedir, arka ve aşağıya doğru çekilerek mesane boynu kapalı kalmaktadır.

3. Pubokoksigeal kas

“Hamağı” yukarıya çeken ve mesane boynunu kapayan anatomik yapıdır (2).

Yukarıda belirtilen bu 3 anatomik yapıdaki herhangi bir zayıflık stres tip idrar kaçırmanın ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

Anatomik tipte SUI tüm olguların %90-95'inde görülmektedir. İstirahatte üretral basıncın intravezikal basıncın üzerinde iken, intraabdominal basınç ani artış gösterdiğinde üretra kapanma basıncı negatif olarak idrar kaçağına neden olur.

İSY durumunda üretranın sfinkterik mekanizması kaybolduğundan, üretra duvarı kapanmaz ve üretral kapanma basıncı yok denecek kadar düşüktür. Bu hastalarda idrar kaçırma üretranın rijid olmasına bağlıdır. İSY, genelde geçirilmiş inkontinans cerrahi, radyoterapi ve travma öyküsü olanlarda görülmektedir (11).

2.3.3. SUI'da risk faktörleri

Hamilelik ve/veya doğum, kadınlarda özellikle genç yaşlarda SUI'yi predispoze etmektedir. Bir prospektif çalışmada ilk vajinal doğum yapan kadınların hamilelik sırasında %32 oranında, doğum sonrası ise %7 oranında SUI görüldüğü izlenmiştir .Aynı çalışmada bir sene sonraki değerlendirmede kadınların % 3'ü SUI tarif etmiştir. Bununla beraber, hamilelik sırasında ve vajinal doğum sonrası SUI tariflemeyen kadınların %19'da 5 sene sonra SUI gelişmiştir (12). Vajinal doğum yapanlarda elektif sezaryenle doğum yapanlara nazaran SUI riski %85 oranında artmaktadır (13). Vajinal doğum sonrası oluşan bazı değişiklikler oluşabilecek SUI'yi predispoze edebilmektedir. Doğum yapan kadınların %20'sinde levator ani kasında görülebilir defekt izlenmektedir (14). Çalışmaların çoğunda inkontinansın doğumla ilişkisi daha çok genç kadınlarda izlenmektedir. Altmış yaşlı kadınları kapsayan çalışmalarda SUI'ın ortaya çıkması doğuma bağlı risk faktörü olarak değerlendirilmemektedir(15). Bu kadınlarda yaşla beraber ortaya çıkan kaslarda, sinirlerde, bağ dokusunda değişiklikler SUI'a neden olabilmektedir. Bununla beraber yaşla beraber ortaya çıkan diğer medikal problemlere de eşlik edebilmektedir. Kronik abdominal basınç artışına

neden olabilecek kronik konstipasyon ve ağır kaldırma da SUİ için ciddi bir risk faktörü oluşturmaktadır. Fiziksel olarak daha ağır ev işi yapanlarda diğer kadınlara nazaran 3 kat daha fazla SUİ görülmektedir (16). Buna benzer şekilde kronik öksürük ve obstrüktif akciğer hastalıkları olanlarda da SUİ riski daha fazladır. Bir çok araştırmacı vücut kitle indeksinin $>25 \text{ kg/m}^2$ olması durumunda SUİ insidansının 2-3 kat fazla olduğu izlenmiştir (17). Kafein ve sigara kullanımının da bağımsız bir risk faktörü olabileceği gösterilmiştir (18).

2.3.4. Değerlendirme

Klinik öyküde idrar kaçırmanın şiddeti, geçirilmiş pelvik cerrahi, doğum sayısı, radyoterapi sorgulanmalıdır. Kaçak şiddetini değerlendirmek için Uluslararası Kontinans Derneğinin önerdiği ped testi uygulanabilir. Bu test belli zaman biriminde kaçırılan idrar miktarını belirlemek için yapılır.

Fizik muayenede uygulanan Q-Tip Testinde üretral aksın yukarıya doğru 30 derece üzerinde hareketi üretral hipermobilité durumunu desteklemektedir. Üretra mobilitesinin sınırlı olması İSY lehinedir. Anterior vajinal duvarı manüel olarak destekleyerek üretral hipermobilitenin düzeltilmesi (Bonney testi) ile yapılacak süspansiyon cerrahisinden hastanın fayda görüp görmeyeceği hakkında bir miktar tahminde bulunabilir. Eğer yapılan destekle idrar kaçağı önleniyor ise test pozitif kabul edilmeli. Kaçak devam ediyorsa İSY komponentinin varlığına işaret etmektedir (19).

Ürodinamik değerlendirmede aşağıdaki testler yapılabilir:

Statik Üretral Basınç Profileometrisi: SUİ olan kadınlarda maksimum üretral kapanma basıncı kontinan kadınlara göre daha düşüktür. Fakat çalışmalarda bu testin SUİ tanısında güvenilir olmadığı ortaya konmuştur.

Abdominal İdrar Kaçırma Basıncı (AİKB): Mesane 200-250 cc şişirilerek hastada valsalva manevrası ile üretrada sıvı kaçağının olup olmadığı tespit edilir. Kaçırma anındaki

basıncı kaydedilerek değerlendirilir. Mc Guire göre basıncın 60 cm su'nun altında olması %76 oranında İSY varlığına işaret etmektedir. 90 cm su'nun üstünde olan basınçlarda ise anatomik tip SUİ söz konusudur.

Üroflowmetri: Hastada idrar boşaltma sorunu olup olmamasını ortaya koymak için yapılan testtir.

Sistometri: AİKB ölçülürken yapılır. Kompliansın tayini ve şüphelenilen olgularda istemsiz detrüsör kasılmalarını ekarte etmek için önemlidir.

Videoürodinami: Ciddi nörolojik defisiti olanlarda yapılabilir.

Endoskopik değerlendirme İSY tanısında önemli olabilir. Fikse bir üretranın varlığı İSY tanısını düşündürür (20).

2.3.5. Tedavi

2.3.5.1. Konservatif tedavi

Konservatif tedavide en çok tercih edilen yöntem pelvik taban kas egzersizleridir. Kegel 1948'de ilk kez pelvik taban egzersizlerini tanımlamıştır (21). Bundan sonra birçok randomize çalışmada Kegel egzersizlerinin SUİ tedavisinde etkin olduğu gösterilmiştir (22).

Duloksetin , yeni serotonin ve noradrenalin geri alım inhibitörü olarak SUİ'nin konservatif tedavisinde yer alabilmektedir (23) .

2.3.5.2. Cerrahi tedavi

Üretral bulking ajanlar

Bu amaçla dekstranomer/hyaluronik asit, glutaraldehid çapraz bağlantılı bovin collagen, politetrafloretillen, otolog yağ ve silikon polimer kullanım görmektedir. Bulking ajanların erken dönemde başarı oranı %48-%95 oranında değişim gösterse de, uzun dönemde bu oranlar çok daha düşüktür (24). Bu yüzden bu tedavi seçeneği ilk aşama tedavi seçeneği

olarak kabul edilmemeli. Yalnız major cerrahi için yüksek risk taşıyan hastalarda endike olabilir.

Kolposüspansiyon

Burch kolposüspansiyonda mesane boynuna ve proksimal üretraya yakın vajinal dokular posterior pubis kemiklerine asılarak üretral mobilitiyi azaltmaktadır. Bu ameliyatın uzun dönemde etkinliği %68 oranında bildirilmektedir (25).

Subüretral sling prosedürleri.

Mc Guire tarafından 1970’de popülerize edilen bu teknikte anterior vajinal duvar kesisi yapılarak üretra altına sling yerleştirilir. Sling operasyonları, yerleştirilen materyale, slingin pozisyonuna, yerleştirme şekline ve gerilim derecesine göre klasifiye edilmektedirler. Genel görüşe göre otolog fasya kullanılarak yapılan pubovajinal slingler daha efektif ameliyat olarak kabul görmekteler ve bu ameliyatların uzun dönemde başarı oranı %80 civarındadır (26). SUİ’nin modern tedavisinde 1996’dan beri yer alan TVT (tension free vajinal tape) ve TOT (transobturator tape) ameliyatları yüksek etkinliklerinden ve uygulama kolaylığından dolayı diğer tedavi seçeneklerinin önüne geçmiştir. Bu tedavi modalitesinde prensip gerilimsiz sentetik sling materyali ile mid üretranın desteklenmesidir (27).

2.4. Testosteronun iskelet kasına etkisi.

Androjenlerin kullanımı ile ilgili son dönemde yayınların artmasıyla testosteronun iskelet kaslarına direkt anabolik etki gösterdiği kanıtlanmıştır. Androjen yetmezliği olan erkeklerde testosteronun verilmesi yağsız vücut kitlesinde artışa neden olmaktadır. Testosteronun kas dokusuna etkinliği, lineer olarak dolaşımda olan konsantrasyonu ile ilişkilidir. Bundan dolayı testosteronun suprafizyolojik dozlarda da verilmesi kas dokusunda anabolik etki yaratmakla beraber, yağ dokusunda azalmaya neden olmaktadır. Androjen reseptörleri kaslarda, yağ

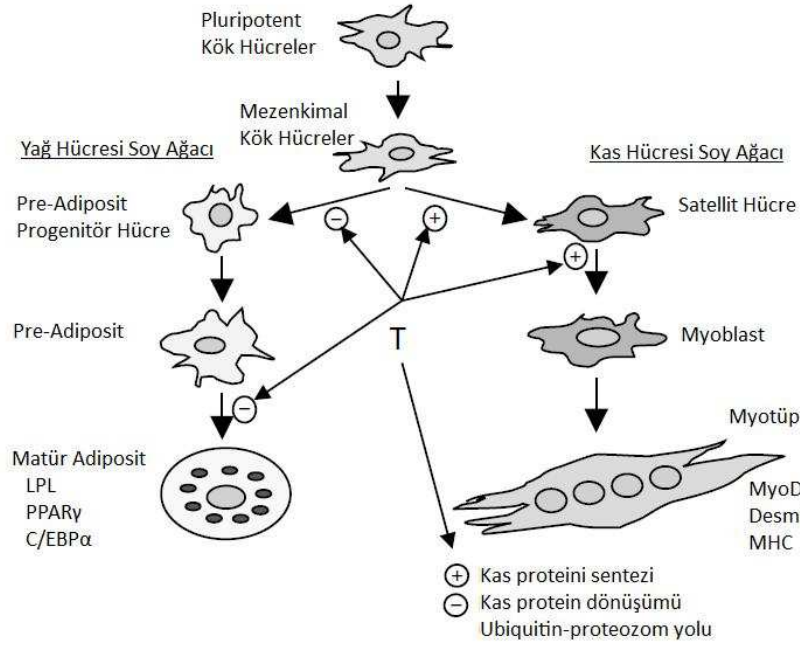
dokusunda, sinirlerde ve kas hipertofisine aracı olan, kaslarda bulunan mezankimal pluripotent hücrelerde görülmektedir (5).

Multinükleer hücrelerin sinsityumundan oluşan iskelet kasları kollagen matriksine gömülü durumda bulunmaktadır. Testosteronun anabolik etkisi iki temel mekanizma ile gerçekleşir:

Kas protein anabolizmini ve pluripotent kök hücrelerini uyarak

Adipogenik diferansasyonu inhibe ederek

Pluripotent kök hücre diferansasyon modeline göre, testosteron myojenik soy ağacına mezenkimal pluripotent hücre yönelmesini uyarmakta ve bu hücrelerin adipojen soya yönelmesini inhibe etmektedir. Ek olarak, testosteronun satellit hücre çoğalmasını uyardığı ve preadipositlerin adipositlere farklılaşmasını inhibe ettiği rapor edilmiştir. Testosteron takviyesi ayrıca kas protein sentezini uyarmakta ve kas protein degradasyonunu inhibe etmektedir; bu eylemler kas lifi ayrıca hipertrofisinde de rol oynayabilir (28). Sonuç olarak, bu kaskadda birçok bölgede testosteronla ilişkili eylemler myojenez ve adipojenez üzerindeki androjen etkilerini arttırmaktadır. İskelet kasındaki birçok hücre tipinde androjen reseptör protein ekspresyonu ile, bu birçok etki bölgesini öngören varsayımsal model, uyumludur **(Resim 4)**. C/EBPa (CCAAT/enhancer binding protein a, sitidin-sitidin-adenozin-adenozin-timidin genişletilmiş bağlama proteini ; LPL, lipoprotein lipaz; MHC, myozin heavy chain II, myozin ağır zinciri II; PPARg, peroksizomal proliferatör aktivasyonlu reseptör g.



Resim 4: Pluripotent kök hücre diferansasyonu ile testosteronun vücut kompozisyonunu etkilemesini gösteren birçok etki bölgesini öngören varsayımsal model.

2.5. Testosteron Undekanoat

Formülü

Her ampul; 4 ml enjeksiyon solüsyonunda 1000 mg testosteron undekanoat (250 mg testosteron undekanoat/ml), yardımcı madde olarak 2000.0 mg benzil benzoat ve 1180.0 mg enjeksiyonluk kastor yağı içerir.

Farmakolojik özellikleri

Farmakodinamik özellikleri

Testosteron undekanoat doğal olarak bulunan androjen olan testosteron'un bir esteridir. Aktif form olan testosteron, yan zincirin ayrılması ile oluşur. Testosteron erkekte en önemli androjendir, başlıca testislerde ve az miktarda adrenal kortekste sentezlenir.

Testosteron, fötal, erken çocukluk ve ergenlikteki gelişimde erkeksi özelliklerin belirmesinden ve ondan sonra erkeksi fenotip ve androjene bağlı fonksiyonların (örn. spermatogenez, yardımcı seksüel bezler) sürdürülmesinden sorumludur. Ayrıca örn. deri, kas,

iskelet, böbrek, karaciğer, kemik iliği, ve santral sinir sisteminde de fonksiyonların yürütülmesinde ilişkilidir. Testosteron'un yetersiz sekresyonu, düşük serum testosteron konsantrasyonları ile karakterize olan erkek hipogonadizmine neden olur. Erkek hipogonadizmi, diğer bazı semptomların yanısıra impotans ve seksüel istek azalması, yorgunluk, depresif ruh hali ve gelişimin tamamlanamaması veya ikincil seksüel karakteristiklerde gerileme ve osteoporoz risk artışı da kapsar. Eksojen androjenler, yetersiz endojen testosteron düzeylerini ve ilişkili semptomları düzeltmek için verilir. Hedef organa bağlı olarak testosteron'un aktivite spektrumu başlıca androjenik (örn. prostat, seminal vezikül, epididimis) veya protein anaboliktir (kas, kemik, hematopoesis, böbrek ve karaciğer). Testosteron'un etkileri bazı organlarda testosteron'un estradiol'e periferik konversiyonundan sonra hedef hücre nükleuslarında (örn. hipofiz bezi, yağ, beyin ve testiküler Leydig hücreleri) estrogen reseptörlerine bağlanarak meydana gelir. Hipogonadal erkeklerde androjenler vücut yağ kütlelerini azaltır, vücut yağsız kısımlarını, kas gücünü artırır ve kemik kaybını önler. Androjenler seksüel fonksiyonu düzeltebilir ve ruh durumunu da düzelterek pozitif psikotropik etki de sağlayabilirler.

Farmakokinetik özellikleri

Nebido, testosteron undekanoat'ın intramusküler olarak uygulanan depo preparatıdır ve bu nedenle ilk geçiş etkisine uğramaz. Yağlı bir çözelti olarak testosteron undekanoat'ın intramusküler enjeksiyonunu takiben, bileşik yavaşça depodan serbestlenir ve neredeyse tamamen serum esterazlar tarafından testosteron ve undekanoik aside ayrışır. Testosteron serum düzeylerinde bazal değerlerin üzerinde bir artış hemen uygulamadan bir gün sonra ölçülebilir. İki ayrı çalışmada, hipogonadal erkeklere 1000 mg testosteron undekanoat'ın tek i.m uygulamasından sonra post-maksimum testosteron düzeyleri yaklaşık 53 gün olan yarılanma ömrü ile azalır. Erkeklerin serumunda sirküle olan testosteron'un yaklaşık %98'i

SHBG ve albumine bağlanır. Testosteron'un sadece serbest fraksiyonu biyolojik olarak aktiftir. Testosteron undekanoat'tan ester ayrılması ile meydana gelen testosteron, endojen testosteron ile aynı yolla metabolize olur ve atılır. Undekanoik asit diğer alifatik karboksilik asitlerin olduğu gibi β -oksidasyon ile metabolize olur. Testosteron hepatik ve ekstrahepatik metabolizmaya uğrar. Radyoaktif işaretli testosteron uygulamasından sonra radyoaktivitenin yaklaşık % 90'ı glukuronik ve sülfürik asit konjugatları olarak idrarda ve % 6'sı ise enterohepatik sirkülasyona uğradıktan sonra feçeste görülmüştür. Üriner metabolitler androsteron ve etiokolanolon'dur.

2.6. Beklenen yararlar ve sonuçların uygulamaya aktarımı

SUI'n konservatif tedavisinde iki temel tedavi modalitesi vardır: pelvik taban egzersizleri ve duloksetin tedavisi. Bu tedavi stratejisi major cerrahiyi kaldıramayacak hastalarda uygulanabilir. Çalışmamızda deneysel SUI modelinde testosteron tedavisinin etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Böylece daha ileri klinik prospektif randomize çalışmalarla kanıtlandığı takdirde SUI'da testosteron tedavisi yeni bir konservatif tedavi modalitesi olarak gündeme gelebilir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvanlar ve anestezi

Lokal Hayvan Etik Komitesinin onayı ile toplam 28 adet Sprague Dawley cinsi, ağırlık ortalaması 200-250 g olan, erişkin dişi ratlar çalışmaya alındı. Ameliyat öncesi ve sonrası hayvanlar standart laboratuvar yemi ve su ile beslendi. Biyolojik ritme uygun uygun olarak 12 saat karanlık-12 saat aydınlıkta 3'erli kafeslerde barındırıldılar. Cerrahi için gerekli koşullar oluşturulduktan sonra ameliyat öncesi tüm ratlara profilaktik amaçla 30mg/kg Sefazolin Na (Cefazol®) intraperitoneal olarak uygulandı. İntraperitoneal olarak verilecek 35mg/kg Ketamin HCl (Alfamine®), 5mg/kg Ksilazin HCl (Alfazyne®) ve acepromazine maleate (1 mg/kg) kombinasyonu ile anestezi sağlandı. Çalışma sonunda denekler intraperitoneal tiopental sodyum (150 mg/kg) verilerek sakrifiye edildi .

3.2. Cerrahi işlem ve deneysel model

Ratlar temel olarak 4 farklı gruba randomize edildi. Tüm hayvanların siyatik sinir kesisi ve ürodinamik inceleme öncesi kiloları tartılarak , kilo farkı kaydedildi.

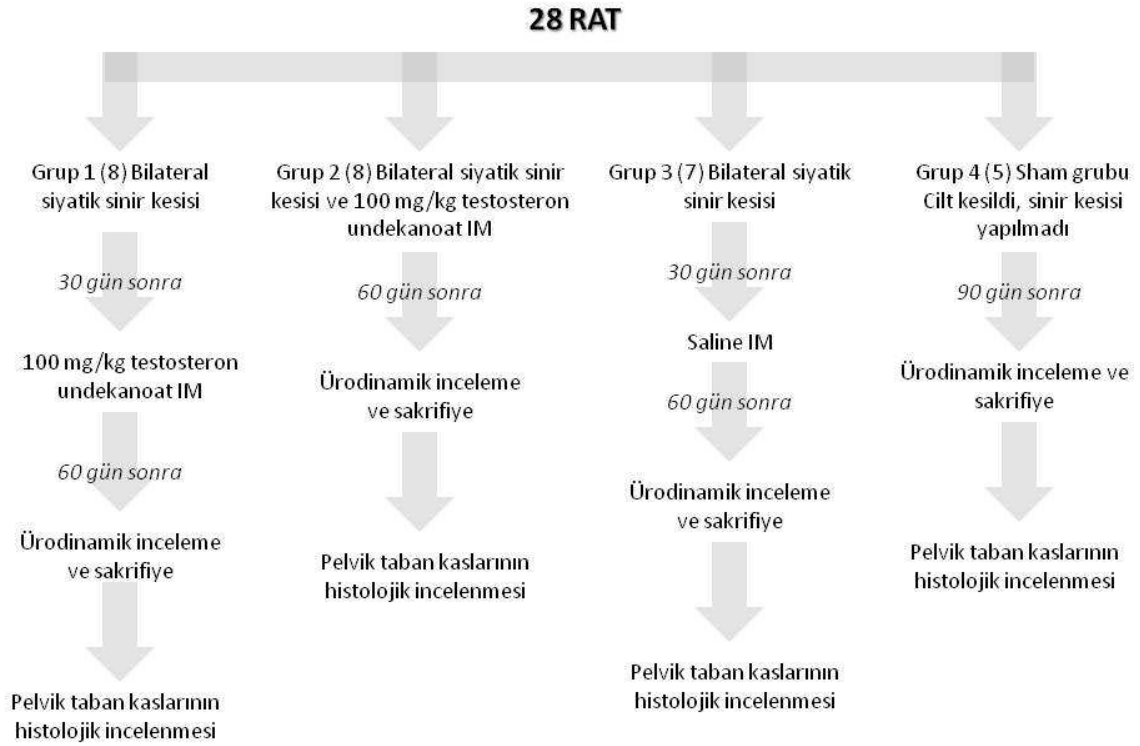
Grup I: SUİ oluşturulup 30 gün sonra İM testosteron undekanoat uygulanan grup (Sayı=8)

Grup II: SUİ oluşturulup aynı seansta İM testosteron undekanoat uygulanan grup (Sayı=8)

Grup III: İlaç-kontrol – SUİ oluşturulup 30 gün sonra İM salin enjekte edilen grup (Sayı=7)

Grup IV: Cerrahi-kontrol - Sham grubu (uygulanan cerrahi işlemin testler üzerinde etkisi olup olmadığını gösteren kontrol grubu)(Sayı=5)

Şekil 1: Deneysel akış şeması



Grup I:

Bu grupta 8 adet rat kullanıldı. Hayvanlara bilateral siyatik sinir kesisi uygulanarak SUI modeli oluşturuldu ve yara kapatıldı. Otuz gün sonra (sinir kesisine bağlı olarak kas atrofisinin olduğu ideal süre) 100 mg/kg testosteron undekanoat İM enjekte edildi. Bu işlemten 60 gün sonra ürodinamik inceleme tekrarlandı ve hayvanlar sakrifiye edilerek pelvik taban kasları (levator ani kası) histolojik olarak incelendi.

Grup II:

Bu grupta 8 adet rat kullanıldı. Hayvanlara bilateral siyatik sinir kesisi uygulanarak SUI modeli oluşturuldu ve testosteronun preventif etkisini (kas hasarını önleyici etkisini) ortaya koymak amacıyla aynı seansta 100 mg/kg İM testosteron undekanoat uygulandı. Bu

işlemden 60 gün sonra ürokinamik inceleme tekrarlandı ve hayvanlar sakrifiye edilerek pelvik taban kasları histolojik olarak incelendi.

Grup III:

Bu grupta 7 adet rat kullanıldı. Hayvanlara bilateral siyatik sinir kesisi uygulanarak SUİ modeli oluşturuldu ve yara kapatıldı. Otuz gün sonra salin (%0.9 NaCl) uygulandı. Bu işlemden de 60 gün sonra (testosteron undekanoat'ın yarılanma ömrü 53 gün) ürokinamik inceleme tekrarlandı ve hayvanlar sakrifiye edilerek, pelvik taban kasları histolojik olarak incelendi. Bu grup - ilaç kontrol grubu olarak değerlendirildi.

Grup IV:

Bu grupta 5 adet rat kullanıldı. Hayvanlara bilateral dorsal kesi yapılarak siyatik sinirler ortaya kondu, fakat siyatik sinir kesisi uygulanmadı. Doksan gün sonra ürokinamik inceleme yapıldı ve hayvanlar sakrifiye edilerek pelvik taban kasları histolojik olarak incelendi. Bu grupta sinir kesisi veya herhangi bir ilaç yapılmadığı için, uygulanan cerrahinin ve rat üzerinde oluşacak cerrahi stresin ürokinamik testler üzerinde etkisi olup olmadığını gösteren sham grubu olarak kabul edildi. Dolayısıyla bu grupta elde edilecek bulgular normal olarak değerlendirilip diğer grupların sonuçları bu grup baz alınarak kıyaslandı.

Anestezi: Ameliyat öncesi tüm ratlara profilaktik amaçla 30mg/kg Sefazolin Na (Cefazol®) intraperitoneal olarak uygulanacaktır. İntraperitoneal olarak verilecek 35mg/kg Ketamin HCl (Alfamine®), 5mg/kg Ksilazin HCl (Alfazyne®) ve acepromazine maleate (1 mg/kg) kombinasyonu ile anestezi sağlandı.

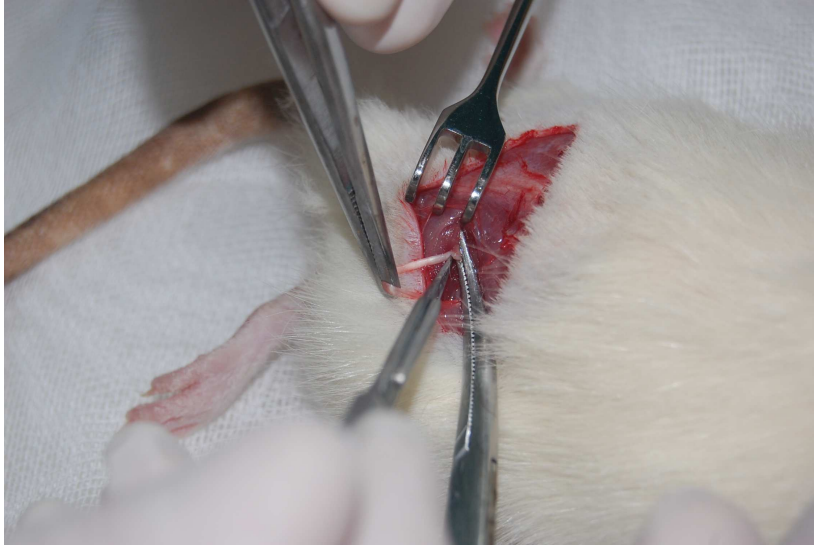
Cerrahi işlem: L4, L5, L6 ve S1'den gelen spinal sinirlerin oluşturduğu lumbo-sakral trunkustan çıkan siyatik sinir, rat'taki en kalın periferik sinirdir. Varyasyon gösterebilmekle birlikte, L5, L6 ve S1'den kaynaklanan liflerin birleşmesiyle oluşur. Tüm hayvanlara genel anestezi sonrası sırt bölgesi traş edilerek polyvidon iyot (Batticon, Adeka, Samsun) ile lokal antisepsi uygulandı. Prone pozisyonunda işiorektal fossanın üstünden bilateral veya tek dorsal insizyonla girilerek siyatik sinirin boylu boyunca ortaya konabilmesi için biceps femoris kası femur ve diz eklemi arkasını izleyecek şekilde açıldı ve kenarlar ekarte edilerek sinir ortaya kondu. Sinir kraniale doğru diseke edilerek bilateral siyatik sinir kesisi proksimalden yaklaşık S1 hizasında uygulandı ve SUİ modeli oluşturuldu (Grup IV'deki ratlarda ise sadece dorsal insizyon açılarak, sinir kesisi uygulanmadı). Kesi yeri 3/0 ipek ile kapatıldı (**Resim 5, 6, 7, 8**).



Resim 5: Tek dorsal insizyon



Resim 6: Siyatik sinir diseksiyonu



Resim 7: Siyatik sinirin proksimalden kesilmesi



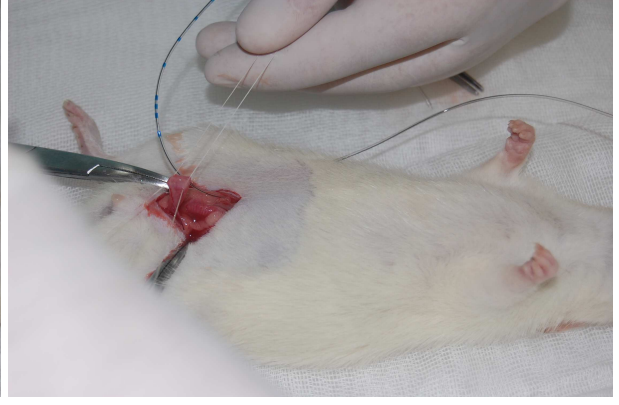
Resim 8: Cildin kapatılması

3.3. Ürodinamik inceleme: Bunun için orta hat insizyonu yapılarak mesane bulunarak 4/0 veya 5/0 vicryl rapide ile kubbesi “U” şeklinde askıya alınıp ince transvezikal kateter ile boşaltılarak kateterize edildi ve mesaneye sabitlendi .Bu amaçla mesaneye zarar vermeyecek anestezi pratiğinde kullanılan epidural kateter (Braun, Almanya) kullanıldı. Daha sonra bu kateter ciltaltı tünel oluşturularak karın yan duvarından çıkarılarak polietilen tüp ile ürodinamik ekipmana bağlandı. Ürodinami çalışmasında Biopac MP30(BIOPAC SYSTEMS, Inc.,USA) ünitesi ve basınç transducer’i kullanılmıştır. MP30 ünitesi çeşitli aksesuar cihaz (alıcılar) aracılığı ile çok farklı türde analog veriyi dijital veriye çevirebilir ve bu verileri bilgisayara aktararak BSL Pro (Biopac Student Lab) yazılımı aracılığı ile analizini gerçekleştirebilir. Basınç transducer’i bir kablo aracılığı ile Biopac MP 30 ünitesine bağlıdır ve eklendiği sistemdeki gaz ya da sıvı basınç değişimlerine yüksek düzeyde duyarlıdır. Sistem program aracılığı ile bilgisayardan kontrol edilmektedir ve basınç kalibrasyonu ile hata olasılığı çok düşürülür.

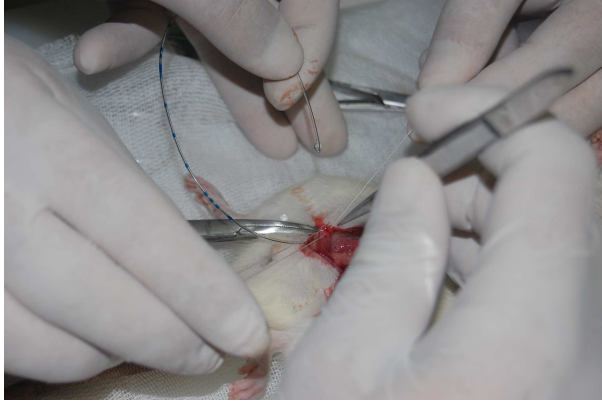
Ardından rat, genital bölgede oluşacak su damlalarının serbest bir şekilde inspeksiyonuna izin verecek kendi dizaynımız olan kutu üzerine prone pozisyonunda yerleştirildi. Daha sonra perfüзор (Perfusor Compact, Braun, Almanya) aracılığı ile 0.1 ml/dk



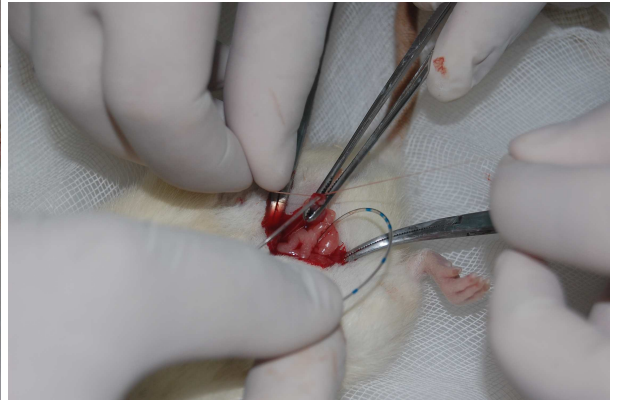
Resim 13: Mesanenin U şeklinde asılması



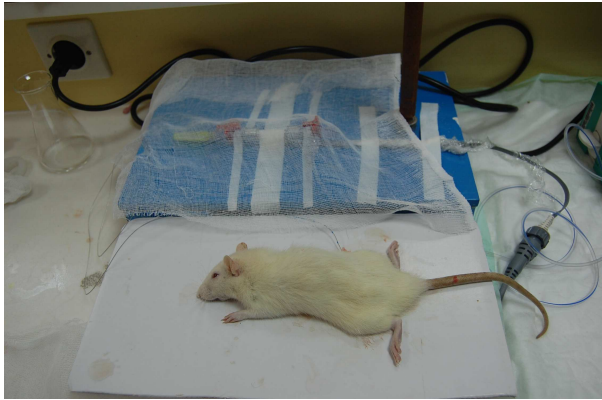
Resim 14: Kateterin ciltaltı tünelden geçirilmesi



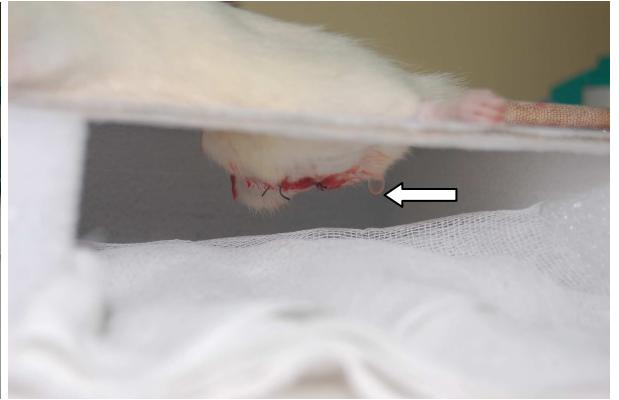
Resim 15: Mesanenin kateterizasyonu



Resim 16: Kateterin tespitlenmesi



Resim 17: Prone pozisyon



Resim 18: Üretradan kaçak

3.4 Biyokimyasal değerlendirme

Ürokinamik incelemeyi takiben serbest testosteron ölçümü için ratlardan kan alındı. Alınan kan örnekleri -80°C dolabında saklanılarak tek seferde DSL 4900 (Diagnostic system

lab, USA) Free testosterone kiti kullanılarak Radioimmunoassay (RIA) yöntemle analiz edildi. .

3.5. Histolojik değerlendirme

Hayvanlar intraperitoneal tiopental sodyum (150 mg/kg) verilerek sakrifiye edildi. Daha sonra kardiyak perfüzyon uygulanarak, önce +4 °C deki fosfat tamponlu tuz (PBS, pH 7,4) verildi ve sonra % 10 formaldehid ile fikse edildi. Dekapite edilip, pelvik taban kasları (levator ani kası) ve daha önce kesilmiş siyatik sinirin kaudal kısmı (sinir kesisinin ispatı için) çıkarılarak, % 10'luk nötral formalin fiksatifinde 48–78 saat süreyle tespit edildikten sonra 1 gece akarsu altında bırakılarak fiksatifleri uzaklaştırıldı. Doku örnekleri dehidratasyon ve şeffaflaştırma işlemlerinden sonra parafin bloklara gömüldü. Bu bloklardan elde edilen 4–5 mikron kalınlığında seri kesitler lam üzerine alındı. Kesitler hematoksilin-eosin ile boyanıp entellan ile kapatıldı. Dokular ışık mikroskobu (Olympus BX40, Japonya) ile incelenerek, görüntüler dijital video kamera (Olympus OIPM-CD35X) aracılığı ile bilgisayar ortamına alındı. Mikroskop x400, dijital kamera x2.5, toplam x1000 kat büyütme altında çalışıldı.

3.6. IŞIK MİKROSKOBİSİ

3.6.1. Işık Mikroskobu ile Yapılan Analizlerde Kullanılan Gereçler

1. Distile su
2. %70 etanol
3. %80 etanol
4. %95 etanol
5. %100 etanol
6. Xylol
7. Parafin
8. Hemotoksilen

9. Merkurik oksit
10. HCl
11. Amonyak
12. Eosin
13. Toluidine mavisi
14. Borax
15. NaOH
16. Na-periodate
17. Tuzlu fosfat tamponu

3.6.2. Işık Mikroskopik Takip Şeması

1. Parçalar 24-48 saat fiksatiflerde bekletilir
2. 24-48 saat akan suda yıkanır
3. 2 saat % 80 etanolde
4. 3 saat % 95 etanol 1'de
5. 15 saat % 95 etanol 2'de
6. 2 saat % 100 etanol 1'de
7. 2 saat % 100 etanol 2'de
8. 2 saat % 100 etanol 3'de bekletilir
9. Daha sonra parçalar açık havada, oda ısısında kurutulur
10. 10-30 dakika xylol 1'de
11. 10-30 dakika xylol 2'de
12. 10-30 dakika xylol 3'de bekletilir
13. 37⁰ C'lik etüvde erimiş parafin içerisine alınıp 1 gece bekletilir. Sonraki gün etüvden çıkarılan parçalar gömülerek bloklanır

3.6.3. Hematoksilen-Eosin Boyasının Hazırlanması

Hematoksilen Solusyonu:

Hematoksilen, kristal	5 gr
%95 alkol	50 cc
Amonyum	100 gr
Distile su	1000 cc
Merkurik asit	2.5 gr

Asit Alkol:

% 70 Alkol	1000 cc
HCl	10 cc

Amonyaklı Su:

Distile su	1000 cc
Amonyak	1-2 cc

Eosin Solusyonu:

Eosin Y(% 3 sudaki)	100 cc
%95 alkol	125 cc
Distile su	375 cc

3.6.4. Hematoksilen-Eosin Boyama Tekniği

1. xylol 1 10 dakika
2. xylol 2 10 dakika
3. xylol 3 10 dakika
4. Preparatlar kurutulduktan sonra alkolden geçirilir
5. % 100 Alkol 12 dakika
6. % 100 Alkol 2 2 dakika

7. % 95 Alkol	2 dakika
8. % 80 Alkol	2 dakika
9. Distile su	5 dakika
10. Hematoksilen	2.5 dakika
11. Akar su	5 dakika
12. Asit alkol	pembe renk olana kadar
13. Akar su	yüzeyel kısa süreli
14. Amonyaklı su	mor renk olana kadar
15. Akar su	yüzeyel, kısa süreli
16. Distile su	5 dakika
17. Eosin	2.5 dakika
18. % 95 Alkol	2.5 dakika
19. % 100 Alkol 1	2.5 dakika
20. % 100 Alkol 2	22 dakika
21. Dışarıda kurutma	
22. xylol 1	10 dakika
23. xylol 2	10 dakika
24. xylol 3	10 dakika

3.7. Morfometrik değerlendirme: Parafin kesitlerde hematoksilen-eosin boyaması ile yapılan incelemelerde alınan mikroskopik görüntüler bilgisayar ortamına aktarılarak aynı büyütmede, karşılaştırılması mümkün belirli bölgelerde, kör yöntemle, boyanmış nükleuslar üzerinden yapılan hücre sayımı ile gerçekleştirildi. Siyatik sinir ve pelvik taban kasları (levator ani kası) için histomorfometrik incelemeler, ilgili parametreler üzerinden yapıldı. Parametreler boyamayla gösterilebilen fibrillerin ölçüsü, nekrozu, fagositozu, rejenerasyonu,

vakuolleri, inklüzyonları, sentral nükleolizasyonları, fibrozisi, vasküler anomalileri ve inflamasyonu olarak belirlenebilir. Levator ani kası nükleus sayımı ve kas lifi çapı ölçümü önceki çalışmalarda inceyapı kesitlerinde tanımlanan yöntemin ışık mikroskopik modifikasyonu ile rastgele alınan görüntülerinin ölçümleri bilgisayar ortamında Office Excel 2003 (Microsoft, ABD) programı üzerinde gerçekleştirildi. Hasarın belirlenmesinde en az (+1) ile en çok (+5) üzerinden körleme yöntemle yapılan değerlendirmeler istatistiksel olarak değerlendirildi. Kas enine ölçümlerinde alan, kas lifinin orta noktasından geçen birbirine dik iki uzunluğun çarpımı olarak kabul edildi. Körleme olarak her preperatta yapılan 3 ölçümle 7 preperatın ortalaması alınarak istatistiksel olarak incelendi (6).

Deney sonu aşağıdaki parametreler gruplar arasında karşılaştırıldı:

- Pelvik taban kaslarının miyofiber enine kesit alanı
- LPP değeri
- Kanda serbest testosteron düzeyi
- Siyatik sinir kaudal kısmının hasar derecesi
- Deney öncesi ve sonrası ağırlık farkı

3.8. İstatistiksel değerlendirme:

İstatistiksel analiz için ANOVA tek yönlü varyans testi kullanıldı. P değerinin <0.05 olması istatistiksel anlamlı olarak kabul edildi.

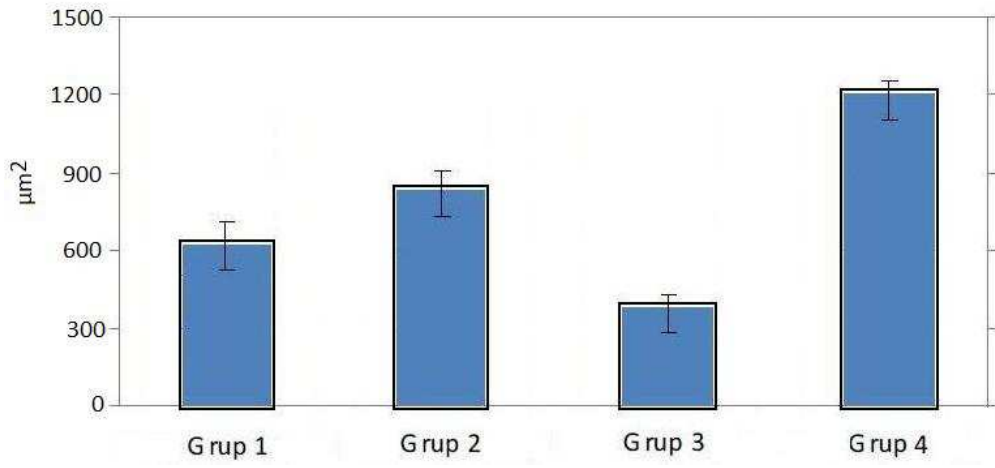
4. BULGULAR

Deneyisel çalışma süresince hiçbir hayvan kaybedilmemiştir, denek sayılarında azalma olmamıştır.

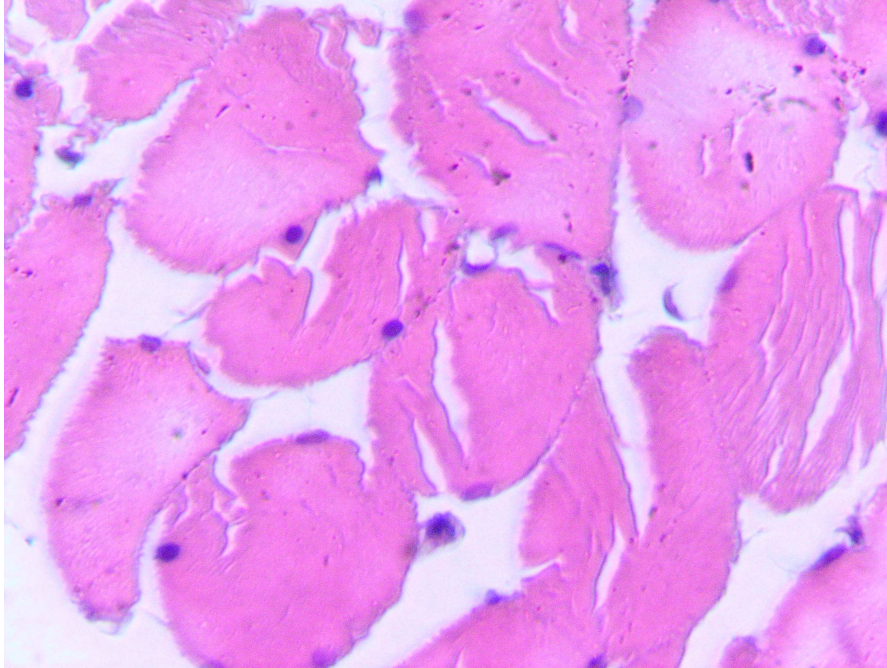
4.1. Pelvik taban kaslarının (levator ani kası) histolojik incelenmesi ve myofiberlerin enine kesit alanı

Levator ani kaslarının mikroskopik incelemesinde Grup 4 için normal yapı olarak kabul edilen fibrillerin normal ölçüsü, nekrozun, fagositozun, rejenerasyonun, vakuollerin, inklüzyonların, sentral nükleolizasyonların, fibrozisin, damarsal anomalilerin ve inflamasyonun minimum olduğu görüldü. Levator ani kas dokusunun Grup 1 , Grup 2 ve Grup 3 için tüm parametrelerin değişik düzeylerde artan bir şekilde bozulduğu saptandı. Morfometrik incelemede myofiber enine kesit alanlarının ortalama değeri Grup 1 için 719 ± 75 ve Grup 2 için 867 ± 115 , Grup 3 için 376 ± 58 , Grup 4 için $1201 \pm 122 \mu\text{m}^2$ olarak bulundu (**Grafik 1**). Grup 4 myofiber kesit alanı bakımından Grup 1 , Grup 2 ve Grup 3 ile karşılaştırıldığında bu gruplarda myofiber kesit alanında oldukça azalma izlendi ve istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.001$) fark saptandı (**Resim 19, 20, 21, 22**). Grup 1 ve Grup 2, myofiber kesit alanı bakımından Grup 3 ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı artış ($p<0.001$) saptandı. Grup 2 myofiber kesit alanı değerleri, Grup 1 ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı yüksek ($p<0.05$) bulundu. Intramüsküler testosteron undekanoat'ın hem tedavi hem de preventif uygulamalarının pelvik taban (levator ani) kas hipoplazisine pozitif etkisi olduğu ve preventif uygulamanın anlamlı bir şekilde daha etkin olduğu görülmüştür.

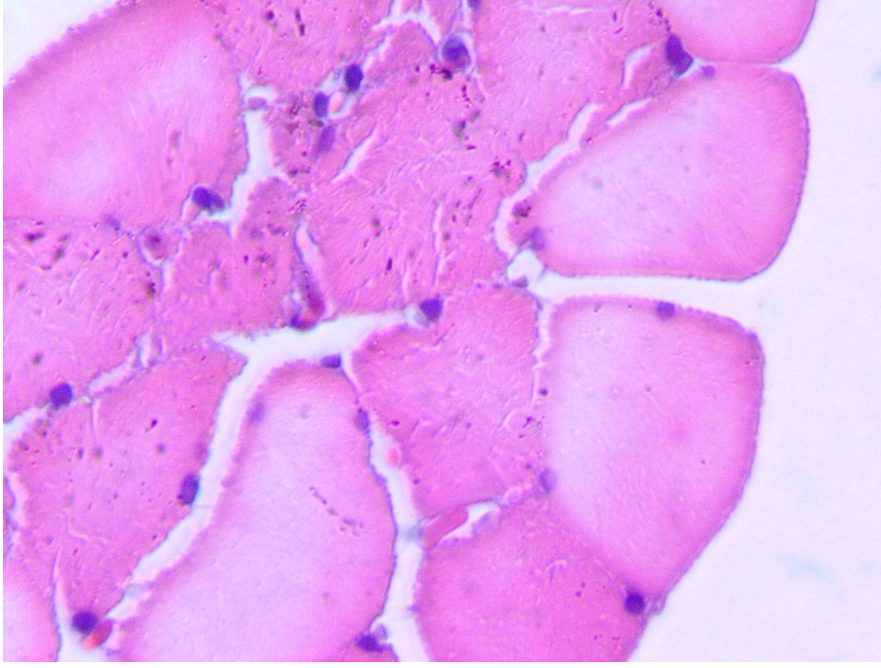
LA hasarının morfometresi



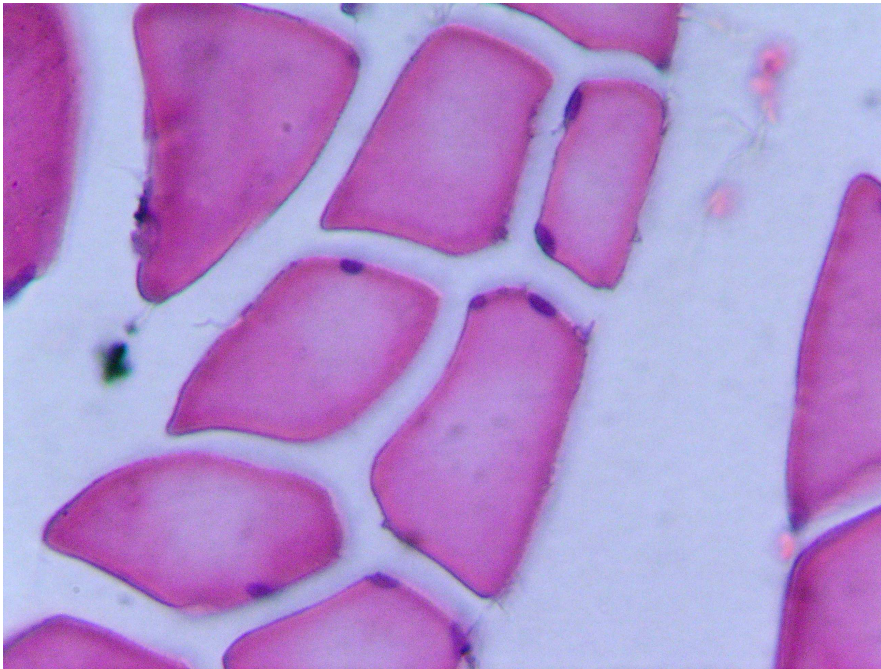
Grafik 1: Gruplar arasında levator ani kasında ortalama myofiber kesit alanının karşılaştırılması



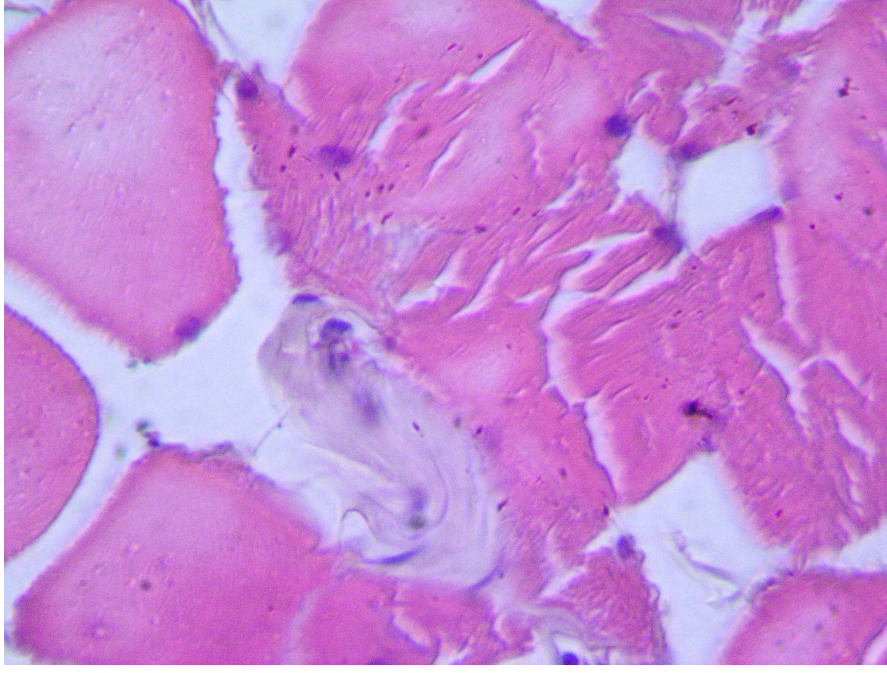
Resim 19: Grup 1 levator ani myofiber enine kesit alanı



Resim 20: Grup 2 levator ani myofiber enine kesit alanı



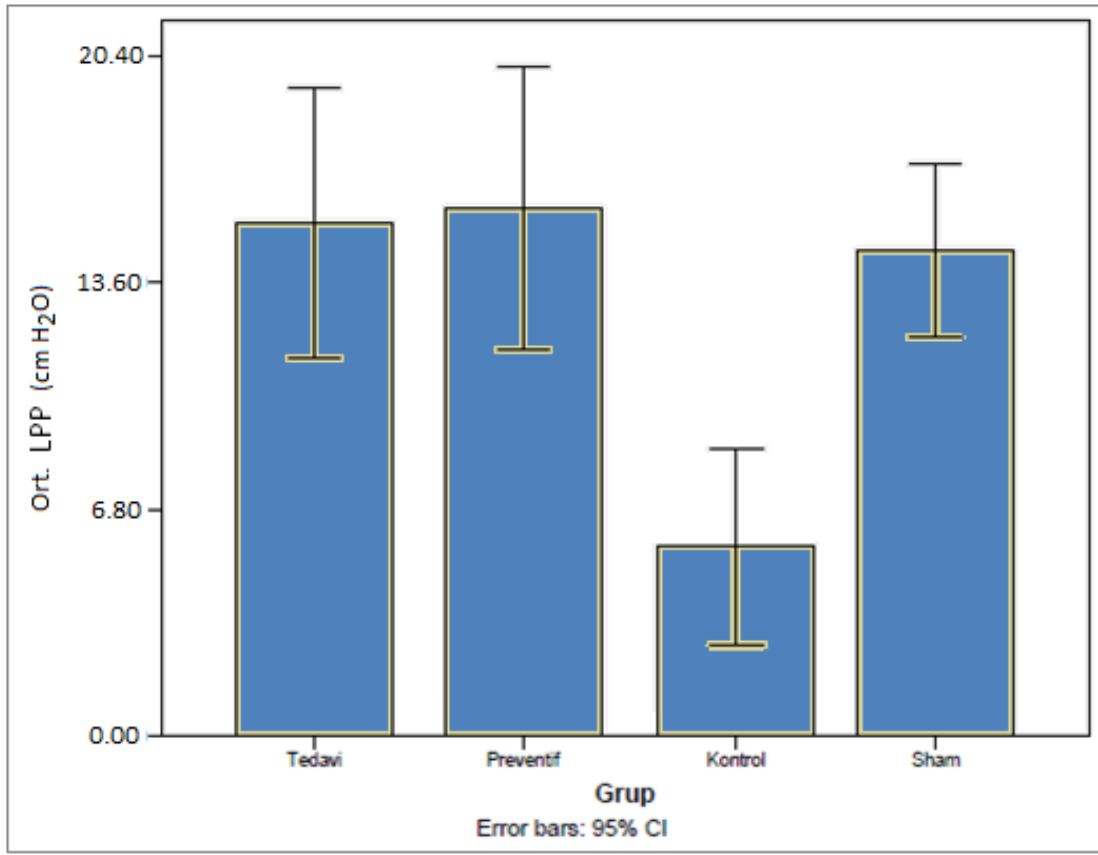
Resim 21: Grup 3 levator ani myofiber enine kesit alanı



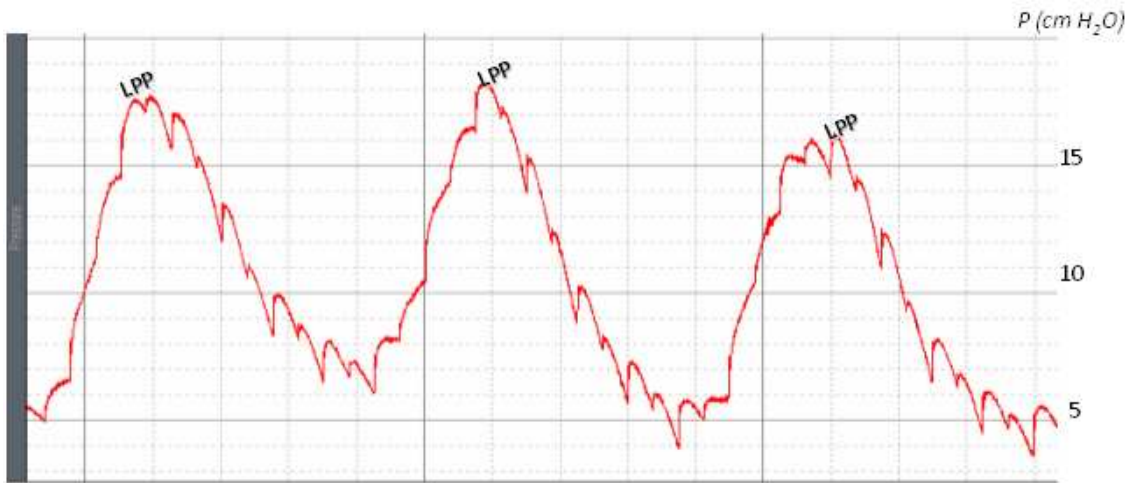
Resim 22: Grup 4 levator ani myofiber enine kesit alanı

4.2. Kaçırma anı basıncı (LPP-leak point pressure)

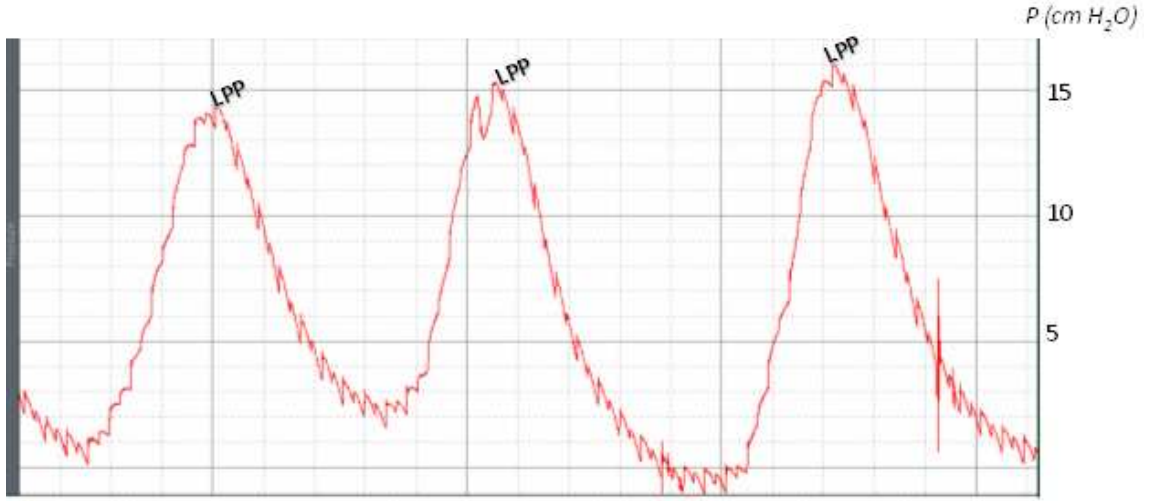
LPP'ın ortalama değerlerine bakıldığında Grup 1'de bu değer 15.4 ± 4.9 cm su, Grup 2'de 15.8 ± 5.1 cm su, Grup 3'de 5.7 ± 3.2 cm su, Grup 4'te bu değer 14.5 ± 2.1 cm su olarak bulundu (**Grafik 2**). LPP'ın ortalama değeri Grup 1, Grup 2, Grup 4'de Grup 3'e nazaran istatistiksel olarak daha yüksek saptandı ($p < 0.001$). Grup 1, Grup 2 ve Grup 4 arasında LPP değeri açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı (**Resim 23, 24, 25, 26**). Deneysel SUİ'da testosteron undekanoat'ın hem tedavi, hem preventif uygulama gruplarında (Grup 1, Grup 2) LPP değerinin kontrol grubuna (Grup 3) göre yüksek ve sham grubuna (Grup 4) benzer olması bu ajanın idrar kaçırmanın tedavisinde ve önlenmesinde pozitif etkiye sahip olduğunu göstermiştir.



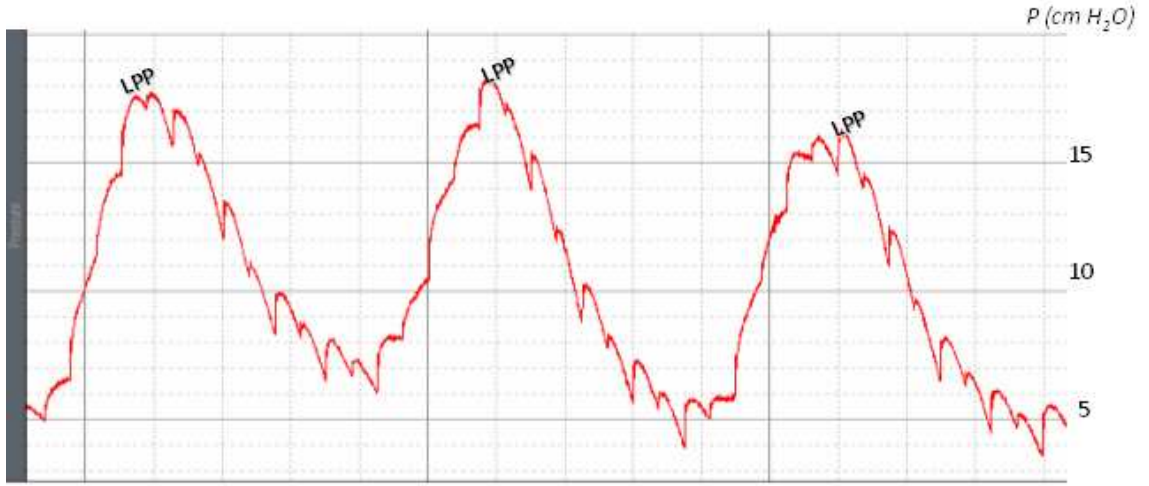
Grafik 2: Grupların LPP değerleri açısından karşılaştırılması



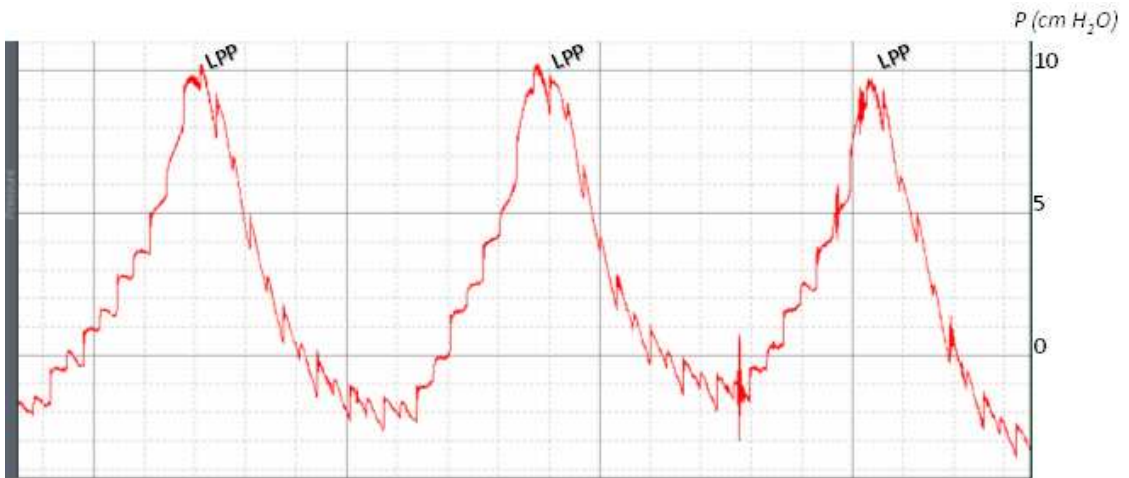
Resim 23: Grup 1 ürodinami eğrisi ve LPP değerleri



Resim 24: Grup 2 ürodinami eğrisi ve LPP değerleri



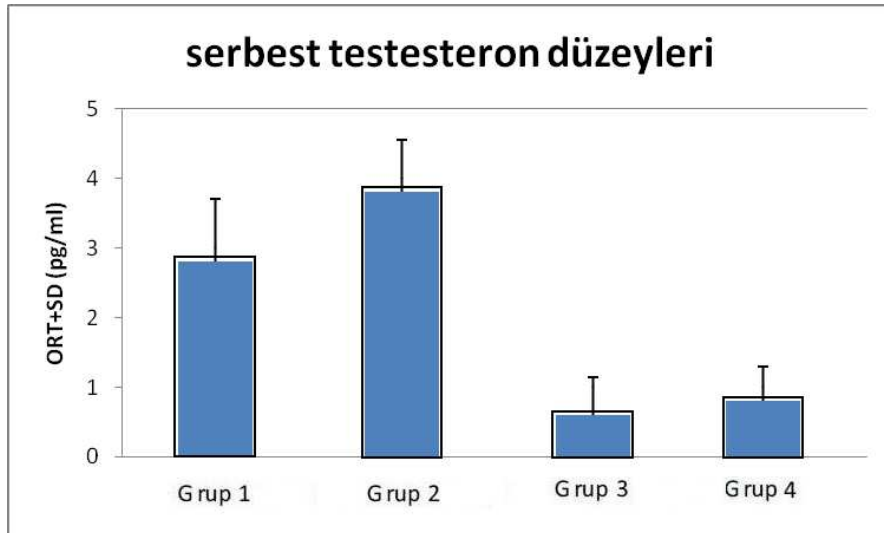
Resim 25: Grup 3 ürodinami eğrisi ve LPP değerleri



Resim 26: Grup 4 ürodinami eğrisi ve LPP değerleri

4.3.Kanda serbest testosteron düzeyi

Deney sonu biyokimyasal serbest testesteron ölçümleri, Grup 1 için $2,20 \pm 0,60$ pg/ml, Grup 2 için $3,80 \pm 1,80$ pg/ml ve Grup 3 için $0,60 \pm 0,20$ pg/ml, Grup 4 için $0,80 \pm 0,20$ pg/ml olarak bulundu (**Grafik 3**). Serbest testosteron düzeyleri bakımından Grup 4 ile karşılaştırıldığında Grup 3'te istatistiksel anlamlı fark izlenmedi ($p>0.05$). Grup 1 ve Grup 2'de, Grup 3 ve Grup 4'e göre serbest testosteron değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı yükselme saptandı ($p<0.001$). Serbest testosteron değerlerinde yükselme açısından bakıldığında intramüsküler uygulamanın hem preventif hem de tedavi uygulamalarında anlamlı bir şekilde başarılı olduğu anlaşılmıştır.

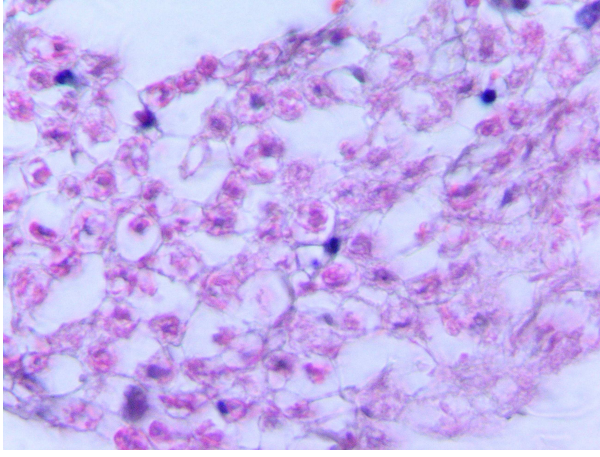


Grafik 3: Grupların kanda serbest testosteron değerleri bakımından karşılaştırılması

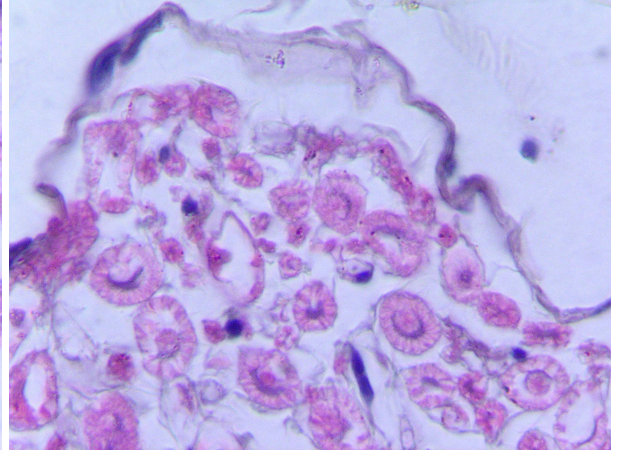
4.4. Siyatik sinir kaudal kısmının hasar derecesi

Histolojik incelemede siyatik sinir kaudal kısmının mikroskobik incelemesinde Grup 4 için epinöryum ve perinöryum normal, miyelinli liflerde endonöryum ve perinöral aralık normal görünümde saptandı. Siyatik sinir dokusunun Grup 1, Grup 2, Grup 3 için değişik derecelerde olmak üzere oldukça bozulduğu, transvers miyelinli liflerde bozulma, konfigürasyonlar şeklinde yapısal hatalar ve protrüzyonlar şeklinde anormal çıkıntılar olduğu gözlemlendi. Endonöryum ve perinöryumda ödem, aksoplazmada ayrışmalar izlendi.

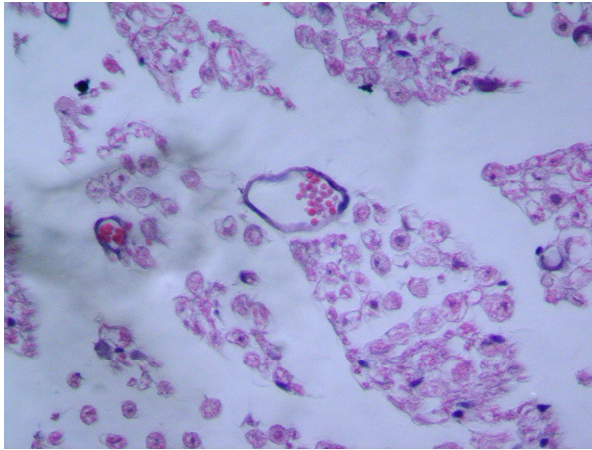
Morfometrik incelemede hasar derecesinin ortalama değeri Grup 1 için $2,86 \pm 0,90$ ve Grup 2 için $2,71 \pm 0,76$, Grup 3 için $3,43 \pm 0,53$, Grup 4 için $1,29 \pm 0,49$ olarak bulundu. Grup 4 ile karşılaştırıldığında Grup 3 ($p<0.001$), Grup 1 ve Grup 2 için istatistiksel olarak anlamlı hasarlanma ($p<0.01$) görülürken, Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 arasında hasarlanma bakımından istatistiksel anlamlı farkın olmadığı ($p>0.05$) saptandı (**Resim 27**). İntramusküler verilen testosteron undekanoat siyatik sinirde oluşan hasara olumlu etkisinin olmadığı görülmekle beraber sham grubu (Grup 4) dışında diğer gruplarda ciddi hasarın görülmesi sinir kesisinin yapıldığına dair kanıt olarak kabul edilebilir.



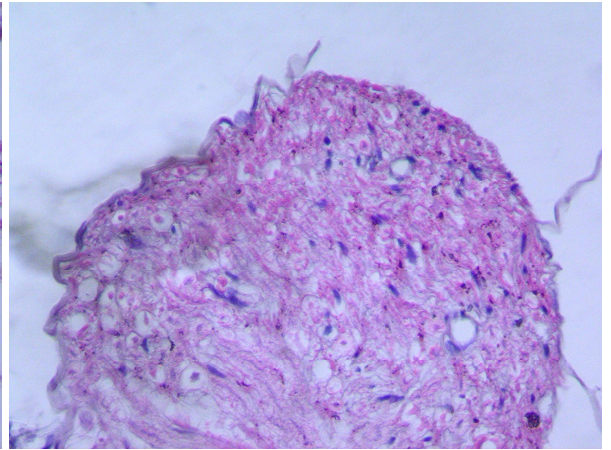
Grup 1



Grup 2



Grup 3

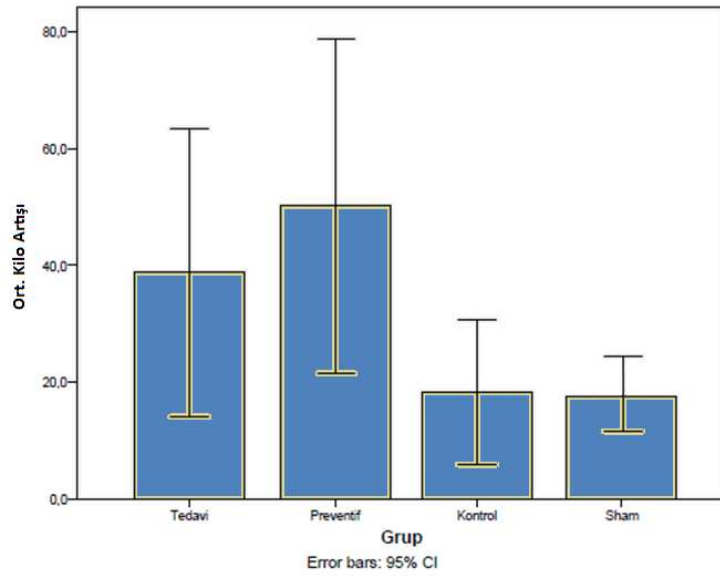


Grup 4

Resim 27: Siyatik sinirlerin histolojik incelemesinde cerrahi kontrol olan Grup 1 (SUI-CK) için korunan siyatik sinir yapısının diğer gruplarda değişik düzeylerde bozulduğu saptandı.

4.5. Deney öncesi ve sonrası ağırlık farkı

Tüm hayvanların deney öncesi ve sonrası ağırlığı ölçüldü. Deney sonrası ve öncesi kilo farkı hayvanlardaki kilo artışı olarak kabul edildi. Grup 1’de ortalama kilo artışı 38.7 ± 39.4 gr, Grup 2’de 50.2 ± 34.2 , Grup 3’de 18.2 ± 13.4 , Grup 4’de 17.6 ± 5.0 olarak hesaplandı. Grup 1 ve 2’de Grup 3 ve 4’e nazaran kilo artışı daha yüksek olmasına rağmen, bu parametre açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi.



Grafik 4: Grupların deney öncesi ve sonrası ağırlık farkları açısından karşılaştırılması (kilo artışı)

5. TARTIŞMA

Testosteronun erkeklerde iskelet kasına anabolik etkisi iyi bilinmektedir (29,30). Son dönemde testosteronun kadınlarda pelvik taban disfonksiyonlarında potansiyel rol oynayabileceğine dair çalışmalar yayınlanmıştır. Otörler bu durumu pelvik tabanda yer alan kasların, özellikle levator ani kasını androjenlere sensitif olmasıyla açıklamışlar (6). Bizim çalışmada deneysel SUİ modelinde testosteronun tedavi edici ve preventif etkisini pelvik taban histomorfolojisiye ve SUİ tanısında önemli yere sahip olan ürokinamik bulgular ile ortaya koymak amaçlanmıştır. Bu amaçla Lee ve ark önerdiği bilateral siyatik sinir kesisi ile deneysel SUİ modeli oluşturulmuştur (31). Zhao ve ark siyatik sinir kesisi sonrası kaslarda ciddi atrofinin olduğu sürenin 31 gün olduğunu göstermişler (32). Bizim çalışmamızda bilateral sinir kesisi sonrası SUİ'nin tam oluşması için hayvanlar 30 gün bekletildi (Grup 2'de testosteron sinir kesisi ile aynı seansta verildi). Yapılan deneysel çalışmalarda SUİ'da tedavi modalitesinin etkinliğini değerlendirmek amacıyla temel olarak iki parametre (pelvik taban veya sfinkter histomorfolojisi ve ürokinamik inceleme) bakılmıştır (31). Bizim çalışmamızda testosteronun deneysel SUİ modelinde testosteronun tedavi edici ve preventif rolünü objektif olarak ortaya koymak için levator ani kası histopatolojik değerlendirilmesi ve ürokinamik inceleme gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda uzun etkili testosteron preparatı – testosteron undekanoat – kullanılmıştır. Testosteron undekanoatın yarılanma ömrü ortalama 53 gün kabul edildiği için biz de çalışmamızda değerlendirmeler testosteron verildikten 60 gün sonra yapılmıştır.

SUİ fizyopatolojisinde levator ani kası pelvik tabanın ana destek yapısı olarak kabul görmektedir (33). SUİ olan kadınlarda levator ani kasının morfolojisine dair literatürde bilgiler oldukça kısıtlıdır. Hanzal ve ark. yaptığı çalışmada SUİ olan kadınlarda levator ani kasından alınan biyopsi örneklerinin %37'de bozulmamış çizgili kasa rastlamışlar. Bozulma saptanan olguların %53'de ileride idrar kaçırma nüks etmiştir (34). Zhu ve ark. yaptıkları

diğer bir çalışmada SUİ nedeniyle opere edilen kadınların pubokoksigeus kasından alınan biyopsi örneklerinin % 26'da bozulmamış çizgili kasa rastlanmıştır, kontrol grubunda ise bu oran %100 olarak bulunmuştur (35). Bu çalışmalardan da görüldüğü gibi SUİ'da levator ani kasının morfolojik yapısı çok büyük öneme sahiptir.

Nnodim ve ark tarafından gerçekleştirilen çalışmada levator ani kasının denervasyon sonrasını durumunu değerlendirmek amacıyla levator ani kasının enine kesit alanı hesaplanmıştır. Bizim çalışmada da bu yöntem kullanılarak her grupta levator ani kasının enine kesit alanı morfometrik olarak değerlendirilmiştir. Bundan başka siyatik sinir kesisini göstermek amacıyla körleme olarak hasarlanma derecesine de bakılmıştır. Nnodim ve ark. kastre olmayan ratlarda kastre olanlara nazaran levator ani kasında myofiber enine kesit alanı daha yüksek saptanmıştır (6). Bizim çalışmada da sham grubunda (Grup 4-bilateral sinir kesisi yapılmayan grup) myofiber enine kesit alanı diğer grupların hepsinden istatistiksel olarak yüksek saptanmıştır ($p<0.001$). Bununla beraber, Grup 1'de (testosteronun tedavi edici etkisini gösteren grup) ve Grup 2'de (testosteronun preventif etkisini gösteren grup) kontrol grubuna nazaran bu değer istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Grup 1 ve Grup 2 'nin karşılaştırılması sonucunda ise ikincide myofiber kesit alanı istatistiksel olarak daha yüksek saptanmıştır($p<0.05$). Dolayısıyla morfometrik incelemede sham grubundan sonra en iyi sonuç testosteronun bilateral siyatik kesisi ile aynı seansta verildiği grupta izlendi. Bu sonuca göre, testosteronun SUİ 'da önleyici role sahip olabileceği gözükmemektedir. Aynı zamanda bilateral sinir kesisi yapıldıktan bir ay sonra testosteron verilen grupta salin verilen grupla kıyasla myofiber enine kesit alanı açısından daha yüksek değer izlenmiştir ($p<0.001$). Böylece SUİ oluştuktan sonra da testosteronun levator ani kasına pozitif etkisinin bariz olduğu gözükmemektedir.

Karşılaştırma yapılan diğer parametre ürodinami yapılarak LPP değerinin ölçülmesi idi. Lee ve ark. yaptıkları çalışmada SUİ modelinde tedavi etkinliğinin değerlendirilmesi

amacıyla dolum fazında intravezikal kaçırma anı basıncı bakılmıştır(LPP)(31). Bizim çalışmada da bu değere bakıldığında Grup 1, 2 ve 4'te LPP istatistiksel olarak Grup 3'ten daha yüksek saptandı. Dolayısıyla, sinir kesisi yapılmayan(sham) ve testosteron verilen ratlarda(preventiv ve tedavi amaçlı) LPP değerinin yüksek olması pelvik tabandaki direncin ve idrar kaçışına engelin de yüksek olduğuna işaret etmektedir. Grup 1, 2, 4'ün karşılaştırmasında ise istatistiksel anlamlı farkın saptanmaması testosteronun verilmesi hiç siyatik sinir kesilmeyen grupla benzer şekilde kontinansı sağladığını göstermektedir.

Yukarıda belirtilen temel iki parametre dışında gruplara arasında deney öncesi ve sonu ağırlık farkı, serbest testosteron düzeyi ve siyatik sinirin kaudal kısmının hasar derecesi karşılaştırılan diğer parametreler idi. Deney öncesi ve sonu ağırlık farkı kilo artışı olarak nitelendirildi. Testosteron verilen gruplarda diğer gruplara nazaran kilo artışı daha yüksek olsa da bu farkın istatistiksel anlamlı olmadığı görülmüştür. Grup 1 ve 2'de kilo artışının daha yüksek olması yine de testosteronun anabolik etki yaparak genel kas kitlesinde artışa neden olması ile izah edilebileceği kanısındayız.

Deney sonu kanda bakılan serbest testosteron düzeyinin Grup 1 ve 2'de testosteron verilmeyen gruplara göre istatistiksel olarak yüksek olması testosteronun verildiğine dair bir kanıt olarak çalışmamıza dahil edilmiştir.

Siyatik sinirin kaudal kısmının kesi uygulanan gruplarda ciddi hasarlanması ve hasar derecesinin sham grupuna göre istatistiksel olarak yüksek bulunması komplet sinir kesisinin gerçekleştirildiğine işaret etmektedir ve bu parametre de çalışmamıza bir kanıt olarak dahil edilmiştir.

Çalışmamızda SUİ patogenezinde levator ani kasının önemi vurgulanmakla beraber testosteronun deneysel SUİ modelinde hem preventif hem de tedavi edici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

6. SONUÇLAR

- İntramuskuler verilen testosteron undekanoat deneysel SUI modelinde hasarlanmış levator ani kasına anabolik etki göstererek tedavisinde pozitif etkiye sahiptir.
- Testosteron undekanoat aynı zamanda SUI modelinde bilateral siyatik sinir kesisi sonrası oluşabilecek levator ani kas hasarını ve inkontinansı kısmen önleyebilmektedir, yani preventif etkiye sahiptir.
- Testosteron'un stres üriner inkontinans tedavisinde kullanılabilmesi için genişletilmiş deneysel çalışma gruplarına ve klinik çalışma sonuçlarına ihtiyaç vardır.

7.ÖZET

Stres üriner inkontinans (SUI) detrüsor kontraksiyonu olmaksızın intraabdominal basınç artışı ile intravezikal basıncın üretral direncin üstüne çıkması ve mesaneden üretraya istemsiz idrar kaçışıdır. Kadınlarda 15 – 64 yaşları arasında SUI prevelansı %10 – %30 arasında değişim göstermektedir.

Pelvik taban kaslarındaki hasar veya zayıflık SUI ve pelvik organ prolapsusuna yol açabilmektedir. Levator ani kası pelvik desteğin ana yapısıdır. Çünkü pelvik organlar ve intraabdominal basıncı karşılayan, ligamanlar ve fasyalar üzerine devamlı bir yükün gelmesi halinde oluşacak esneme ve kırımları önleyen yapı olarak çok önemli göreve sahiptir.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda androjenlerin pelvik taban ve alt üriner sistem rahatsızlıklarında potansiyel rol oynayabileceği gösterilmiştir. Bu anatomik yapılarda yer alan kasların, özellikle levator ani ve üretral sfinkterin androjenlere sensitif olduğu izlenmiştir.

Bu çalışmada deneysel stres üriner inkontinans oluşturulan ratlarda testosteronun ürodinamik bulgulara ve pelvik taban kaslarının histopatomorfolojisine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla toplam 28 adet Sprague Dawley cinsi, ağırlık ortalaması 200-250 g olan, erişkin dişi ratlar çalışmaya alındı.

Ratlar temel olarak 4 farklı gruba randomize edildi. Tüm hayvanların siyatik sinir kesisi ve ürodinamik inceleme öncesi kiloları tartılarak , kilo farkı kaydedildi.

Grup I: SUI oluşturulup 30 gün sonra İM testosteron undekanoat uygulanan grup (Sayı=8)

Grup II: SUI oluşturulup aynı seansta İM testosteron undekanoat uygulanan grup (Sayı=8)

Grup III: İlaç-kontrol – SUI oluşturulup 30 gün sonra İM salin enjekte edilen grup (Sayı=7)

Grup IV: Cerrahi-kontrol - Sham grubu (uygulanan cerrahi işlemin testler üzerinde etkisi olup olmadığını gösteren kontrol grubu)(Sayı=5).

Çalışmada deneysel SUI modelinde testosteronun tedavi edici ve preventif rolünü objektif olarak ortaya koymak için levator ani kası histopatomorfolojik değerlendirilmesi ve ürodinamik inceleme gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda uzun etkili testosteron preparatı – testosteron undekanoat – kullanılmıştır. Testosteron undekanoatın yarılanma ömrü ortalama 53 gün kabul edildiği için biz de çalışmamızda değerlendirmeler testosteron verildikten 60 gün sonra yapılmıştır.

Her grupta levator ani kasının enine kesit alanı morfometrik olarak değerlendirilmiştir. Bundan başka siyatik sinir kesisini göstermek amacıyla körleme olarak hasarlanma derecesine de bakılmıştır. Çalışmada sham grubunda (Grup 4-bilateral sinir kesisi yapılmayan grup) myofiber enine kesit alanı diğer grupların hepsinden istatistiksel olarak yüksek saptanmıştır ($p<0.001$). Bununla beraber, Grup 1’de (testosteronun tedavi edici etkisini gösteren grup) ve Grup 2’de (testosteronun preventif etkisini gösteren grup) kontrol grubuna nazaran bu değer istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). Grup 1 ve Grup 2 ‘nin karşılaştırılması sonucunda ise ikincide myofiber kesit alanı istatistiksel olarak daha yüksek saptanmıştır($p<0.05$).

Karşılaştırma yapılan diğer parametre ürodinami yapılarak LPP değerinin ölçülmesi idi. Bu değere bakıldığında Grup 1, 2 ve 4’te LPP istatistiksel olarak Grup 3’ten daha yüksek saptandı. Dolayısıyla, sinir kesisi yapılmayan (sham) ve testosteron verilen ratlarda (preventif ve tedavi amaçlı) LPP değerinin yüksek olması pelvik tabandaki direncin ve idrar kaçışına engelin de yüksek olduğuna işaret etmektedir. Grup 1, 2, 4’ün karşılaştırmasında ise istatistiksel anlamlı farkın saptanmaması testosteronun verilmesi hiç siyatik sinir kesilmeyen grupla benzer şekilde kontinansı sağladığını göstermektedir.

Yukarıda belirtilen temel iki parametre dışında gruplara arasında deney öncesi ve sonu ağırlık farkı, serbest testosteron düzeyi ve siyatik sinirin kaudal kısmının hasar derecesi karşılaştırılan diğer parametreler idi. Kilo artışı testosteron verilen gruplarda yüksek saptansa

da bu fark istatistiksel olarak doğrulanmadı. Yine de bu farkın olması testosteronun anabolik etkisinden kaynaklandığını düşündürmüştür. Grup 1 ve 2 'de kanda serbest testosteron düzeyinin yüksek saptanması da testosteronun verildiğine dair bir kanıt olarak kabul edilmiştir. Diğer parametreye gelindiğinde ise siyatik sinirin kaudal kısmının hasarlanması , ve bu hasarın sinir kesisi uygulanan grupta istatistiksel olarak belirgin yüksek olması sinir kesisinin gerçekleştirildiğine dair bir kanıt olarak nitelendirilmiştir.

Çalışmamızda SUİ patogenezinde levator ani kasının önemi vurgulanmakla beraber testosteronun deneysel SUİ modelinde hem preventif hem de tedavi edici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

8. SUMMARY

Stress urinary incontinence (SUI) is a situation that the intraabdominal pressure levels go above urethral resistance without detrussor muscle contractions, and the leak of urine from bladder to the urethra. Between ages of 15-64, the prevalence of SUI ranges between 10%-30%.

Damage or weakness of the pelvic floor muscles may cause SUI and pelvic organ prolapsus. Levator ani muscle (LA) holds the pelvic structure while intraabdominal pressure is rising, and prevents any stretching and laceration of the ligaments and fascia. This makes LA the main structure of pelvic support.

Studies performed on last years showed us that androgens may have a potential in pelvic floor or lower urinary tract disorders. Muscles in this anatomic structure, especially the LA and urethral sphincter show sensitivity to androgens.

Our aim in this study was to investigate the effect of testosterone to urodynamical findings and pelvic floor muscle histopathomorphology in experimental SUI rat model.

For this aim, we obtained 28 female rats of Sprague Dawley species, which have mean weight of 200-250 grams.

The rats were randomized into 4 groups. All rats were weighed before and after the experiments. The differences in weight were noted.

Group I: SUI developed, and IM testosterone undecanoate is administered after 30 days. (8 subjects).

Group II: SUI developed, and IM testosterone undecanoate is administered at the same time (8 subjects).

Group III: Drug control – SUI developed and IM saline administered after 30 days. (7 subjects)

Group IV: Surgical control- Sham group (5 subjects).

LA histo pathomorphological evaluation and urodynamical investigations performed to show the curative and preventive role of the testosterone in experimental SUI rat model. Long acting testosterone preparation –testosterone undecanoate- was used in our study. Our assessment began 60 days after testosterone administration because the half life of testosterone undecanoate is 53 days.

LA muscle cross sectional area was evaluated morphometrically in all groups. Also injury of the sciatic nerve was evaluated by blind scoring, to show the sciatic nerve transection. Sham group (Group IV: the group without bilateral sciatic nerve transection). The mean myofiber cross sectional area was significantly higher than the other groups statistically ($p<0.001$). Also, Group 1 (testosterone curative effect) and Group 2 (testosterone preventive effect) showed significantly higher areas than the Group 3 (drug control) statistically ($p<0.001$). When Group 1 and 2 were compared, the latter had greater cross sectional area which was statistically significant.

The other parameter compared was the LPP value, which was investigated urodynamically. Comparison of this parameter showed significantly higher values in Group 1,2 and 4 than Group 3 statistically. Therefore, the LPP values of the group without nerve transection (sham) and testosterone administrated rats (curative and preventive management) showed higher pelvic floor resistance and prevention of urine leak. The comparison of Groups 1,2,4 showed no statistically significant data. This finding shows that administration of testosterone caused similar continence rates to the intact nerve group.

Other than the main 2 parameters that mentioned above, pre-and postexperimental weight difference between the 2 groups, free testosterone levels and sciatic nerve caudal part injury scoring was also compared between the groups. Weight gain in testosterone administrated groups showed no statistical significance, however the anabolic effect of the testosterone may be the cause of this difference. Group 1 and 2 free blood testosterone levels

was higher than the other groups, and this may be an evidence of the testosterone administration. Sciatic nerve caudal part injury scoring was higher in groups that sciatic nerve transection were performed showing the evidence of the nerve cut.

Our study highlights the role of the LA in SUI pathogenesis, and also shows testosterone has not only curative, but also preventive effect in the experimental SUI rat model.

9. KAYNAKLAR

1. Fantl JA, Bump RC, Robinson D et al. Efficacy of estrogen supplementation in the treatment of urinary incontinence. The Continence Program for Women Research Group. *Obstet Gynecol.*88(5):745-49,1996.
2. De Lancey J. Anatomy. İn: Cardozo L, Staskin D, eds. Textbook of female urology and urogynaecology . Martin Dunitz ltd. London, UK , p 111-124, 2002.
3. Ulmsten U. Some reflections and hypotheses on the pathophysiology of female urinary incontinence. *Acta ObstetGynecol Scand Suppl* 166:3–8, 1997.
4. Padero MCM, Bhasin S, Friedman TC. Androgen supplementation in older women: too much hype, not enough data. *J Amer Geriatr Soc* .50:1131–1140, 2002.
5. Herbst KL, Bhasin S. Testosterone action on skeletal muscle. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 7:271–277.2004.
6. Nnodim JO. Quantitative study of the effects of denervation and castration on the levator ani muscle of the rat. *Anat Rec*. 255:324–333, 1999.
7. Yalçın Ö. Temel Ürojinekoloji . Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul,Türkiye, s 7-17, 2009.
8. Huisman A.B. Aspects on the anatomy of the female urethra with special relation to urinary incontinence . *Contrib Gynecol Obstet*. 10: 1-34, 1983.
9. Gosling JA, Dixon JS, Critchley HOD et al. A comparative study of the human external sphincter and periurethral levator ani muscles. *Br J Urol*. 53: 35-41, 1981.
10. Daneshgari F. History of surgical procedures for stress urinary incontinence. İCS Workshop, 2005.
11. Mc Guire EJ, O’Connell HE. Leak point pressures in stress urinary incontinence .Atlas of Urodynamics. Ed: Jerry G. Blaivas and Michael Chansellor. Williams and Wilkins, Baltimore, USA, p 208-213, 1996.
12. Viktrup L, Lose G, Rolff M, Barfoed K. The symptom of stress incontinence caused by pregnancy or delivery in primiparas. *Obstet Gynecol* .79:945–9, 1992
13. Lucacs ES, Lawrence JM, Contreras R, Nager CW, Lubner KM. Parity, mode of delivery and pelvic floor disorders. *Obstet Gynecol*. 107: 1253-60, 2006

14. DeLancey JO, Kearney R, Chou Q, Speights S, Binno S. The appearance of levator ani muscle abnormalities in magnetic resonance images after vaginal delivery. *Obstet Gynecol.* 101:46–53, 2003.
15. Chiarelli P, Brown W, McElduff P. Leaking urine: prevalence and associated factors in Australian women. *Neurourol Urodyn.* 18:567–71, 1999.
16. Chiaffarino R, Chatenoud L, Dindelli M et al. Reproductive factors, family history, occupation and risk of urogenital prolapse. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 82: 63-7, 1999
17. Hannestad YS, Rortveit G, Daltveit AK, Hunskaar S. Are smoking and other lifestyle factors associated with female urinary incontinence? The Norwegian EPICONT Study. *BJOG.* 110:247–54, 2003
18. Wilson PD, Bo K, Hay-Smith J, Nygaard I, Staskin D, Wyman J. Conservative treatment in women. In: Abrams P, Cardozo L, Khoury S, Wein A, editors. *Incontinence*. Plymouth, (UK): Plymbridge Distributors Ltd; p. 571–624. 2002.
19. Hosker G. Assessment of women with stress urinary incontinence . 35 th . ICS Annual Meeting Course handout, 2005.
20. Mc Guire EJ Practical urodynamics. AUA postgraduate course handout, 1999.
21. Kegel AH. Progressive resistance exercise in the functional restoration of the perineal muscles. *Am J Obstet Gynecol .*(56):238-49, 1948.
22. Hay-Smith EJC, Dumoulin C. Pelvic floor muscle training versus no treatment, or inactive control treatments, for urinary incontinence in women. Cochrane review. The Cochrane Library 2006.
23. Ghoniem GM, Van Leeuwen JS, Elser DM et al A randomized controlled trial of duloxetine alone, pelvic floor muscle training alone, combined treatment and no active treatment in women with stress urinary incontinence. *J Urol.* 173(5):1647-53, 2005.
24. Su TH, Hsu CY, Chen JC. Injection therapy for stress incontinence in women. *Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct .*10(3):200-06, 1999.
25. Alcalay M, Monga A, Stanton SL. Burch colposuspension: a 10-20 year follow up. *Br J Obstet Gynaecol .*102(9):740-45, 1995.

26. Leach GE, Dmochowski RR, Appell RA, et al Female Stress Urinary Incontinence Clinical Guidelines Panel summary report on surgical management of female stress urinary incontinence. The American Urological Association. J Urol .158(3 Pt 1):875-80, 1997.
27. Costa P, Grise P, Droupy S et al Surgical treatment of female stress urinary incontinence with a trans-obturator-tape (T.O.T.) Uratape: short term results of a prospective multicentric study. Eur Urol. 46(1):102-6; discussion 106-07, 2004.
28. Ferrando AA, Sheffield-Moore M, Paddon-Jones D, et al. Differential anabolic effects of testosterone and amino acid feeding in older men. J Clin EndocrinolMetab. 88:358–362,2003.
29. Bolanowski M, Nilsson BE. Assessment of human body composition using dual-energy x-ray absorptiometry and bioelectrical impedance analysis. Me Sci Monit . 7:1029–1033, 2001.
30. Bhasin S, Taylor WE, Singh R, et al. The mechanisms of androgen effects on body composition: mesenchymal pluripotent cell as the target of androgen action. J Gerontol A Biol Sci Med Sci . 58:M1103–M1110, 2003.
31. Lee JY, Cannon TW, Pruchnic R, Fraser MO, Huard J, Chancellor MB. The effects of periurethral muscle-derived stem cell injectionon leak point pressure in a rat model of stress urinary incontinence.Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct. 14:31–37, 2003.
32. Zhao J, Zhang Y,1 Zhao W et al. Effects of nandrolon on denervation atrophy depend upon time after nerve transection. Muscle Nerve 37: 42–49, 2008.
33. DeLancey JO. Structural support of the urethra as it relates to stress urinary incontinence: the hammock hypothesis. Am J Obstet Gynecol 170:1713–30, 1994.
34. Hanzal E, Berger E, Koelbl H . Levator ani muscle morphology and recurrent genuine stress incontinence. Obstet Gynecol 81:426–429,1993
35. Zhu L, Lang J, Chen J, Chen Jie. Morphologic study on levator ani muscle in patients with pelvic organ prolapse and stress urinary incontinence. Int Urogynecol J. 16: 401–404, 2005.