

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA,
PREPUBERTAL DÖNEMDE OLUŞTURULAN
EPİDİDİMAL OBSTRÜKSİYONUN;
TESTİSTE, ANDROJEN RESEPTÖR
DAĞILIMI VE SEMİNİFER TUBUL
GELİŞİMİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

**Fatih Mehmet GÜR
ELAZIĞ - 2009**

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Emine ÜNSALDI

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans/Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Aydın GİRĞİN

Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Sema TİMURKAAN

Danışman

Yüksek Lisans/Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Mecit YÖRÜK

Prof. Dr. Aydın GİRĞİN

Prof. Dr. Yesari ERÖKSÜZ

Doç. Dr. Sema TİMURKAAN

Doç. Dr. Mine YAMAN

TEŞEKKÜR

Öncelikle tez çalışmalarım esnasında benden yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Sema TİMURKAAN'a, örnek kişiliği ile bana rehber olan Anabilim Dalı Başkanımız saygıdeğer hocam sayın Prof. Dr. Aydın GİRĞİN'e ve Anabilim Dalımızın diğer üyeleri sayın Doç. Dr. Mine YAMAN'a ve Arş. Gör. Dr. Ali BAYRAKDAR'a şükranlarımı sunarım.

Ayrıca deneysel operasyonlar ve laboratuvar çalışmalarım esnasında gerekli desteği sağlayan Prof. Dr. Ali RIŞVANLI'ya, Doç. Dr. Necati TİMURKAAN'a, Dr. Tuncay KULOĞLU'na doktora öğrencileri Murat TANRISEVER ile Tuba PARLAK'a, ve de doktora eğitimim boyunca manevi varlıklarıyla her zaman yanımda olan değerli ağabeyim Sayın Veteriner Hekim Mehmet YÜKSEKAĞAÇ'a ve şuan çalıştığım kurum müdürüm Sayın Osman ÖZGÜL'e teşekkür ederim. Bu cümleden olmak üzere; bu süreç içerisinde tüm sıkıntılarımı benimle paylaşan sevgili eşim, hayat arkadaşım Hatice Hanım'a, beni bugünlere getiren saygıdeğer annem Ayşe Hanım'a ve babam Mehmet Bahattin Bey'e gönül dolusu sevgi ve saygılarımı sunarım.

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (FÜBAP) tarafından 1630-A numaralı proje olarak desteklenmiştir. Çalışmaya sağladıkları maddi destekten dolayı FÜBAP kurumuna teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI.....	i
ONAY SAYFASI.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	x
1.ÖZET.....	1
2. ABSTRACT.....	3
3. GİRİŞ.....	5
3.1. Testisin Embriyonik Gelişimi.....	5
3.2. Testis ve Histolojik Yapısı.....	7
3.2.1. Seminifer Tubul (Tubulus Seminiferus Kontortus).....	11
3.2.1.1. Sertoli Hücreleri (Epitheliocytus Sustendans).....	11
3.2.1.2. Spermatogenik Hücreler.....	15
3.2.1.2.1. Spermatogonium (Spermatogonium).....	16
3.2.1.2.2. Primer Spermatosit (Spermatocytus Primarius).....	17
3.2.1.2.3. Sekunder Spermatosit (Spermatocytus Secundarius).....	18
3.2.1.2.4. Spermatid (Spermatidum).....	19
3.2.1.2.5. Spermatozoon (Spermiyum).....	21
3.2.2. İntersitisyel Doku.....	21

3.3. Seminifer Epitel Siklusu (Spermatogenik Döngü) ve Seminifer Epitel Dalgası (Spermatogenik Dalga).....	23
3.4. Erkek Genital Kanalının Endokrin Kontrolü.....	25
3.5. Epididimal Obstrüksiyonun, Testis Gelişimine Etkisi ve Önemi.....	26
3.6. Androjen Reseptörü'nün (AR) Tanımı, Testisteki Dağılımı ve Önemi...	28
3.7. Amaç.....	31
4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	32
4.1. İmmunohistokimya.....	33
5. BULGULAR.....	36
5.1. Epididimal Obstrüksiyonun Seminifer Tubul Gelişimine Etkisi;.....	36
5.1.1. 21. Gün.....	36
5.1.2. 35. Gün.....	38
5.1.3. 56. Gün.....	40
5.1.4. 90. ve 120. Günler.....	44
5.2. Testiste, Postnatal AR Dağılımı ve Prepubertal Epididimal Obstrüksiyonun AR Dağılımına Etkisi;.....	52
5.2.1. 21. Gün.....	52
5.2.2. 35. Gün.....	53
5.2.3. 56. Gün.....	55
5.2.4. 90. ve 120. Günler.....	57
6. TARTIŞMA.....	61
6.1. Epididimal Obstrüksiyonun Seminifer Tubul Gelişimine Etkisi.....	61
6.2. Testiste, Postnatal AR Dağılımı ve Prepubertal Epididimal Obstrüksiyonun AR Dağılımına Etkisi.....	68

7. KAYNAKLAR.....	72
8. ÖZGEÇMİŞ.....	78

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.	Günlere ve gruplara göre sıçan testislerine ait ortalama tubul çapı ve ortalama germinal epitel katman kalınlığına ilişkin veriler ile dejenerasyon gözlenen olgu sayıları.....	51
Tablo 2.	Günlere ve gruplara göre sıçan testislerindeki hücrelerde androjen reseptör (AR) dağılımı.....	60

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1. Testis ve epididimis.....	10
Şekil 2. İnsan seminifer epitelinin şematik gösterimi.....	13
Şekil 3. Spermiyogenezisin şematik gösterimi.....	20
Şekil 4. Spermatogenik döngü ve spermatogenik dalga.....	24
Şekil 5. 21. Gün kontrol grubu testis. Üçlü boyama.....	36
Şekil 6. 21. Gün ligatür grubu testis. Hematoksilen eozin.....	37
Şekil 7. 21. Gün kontrol grubu testis. P.A.S.....	37
Şekil 8. 35. Gün kontrol grubu testis. Üçlü boyama.....	39
Şekil 9. 35. Gün ligatür grubu testis. Üçlü boyama.....	39
Şekil 10. 35. Gün ligatür grubu testis. P.A.S.....	40
Şekil 11. 56. Gün kontrol grubu testis. Üçlü boyama.....	42
Şekil 12. 56. Gün ligatür grubu testis. Üçlü boyama.....	43
Şekil 13. 56. Gün ligatür grubu testis. Hematoksilen eozin.....	43
Şekil 14. 56. Gün kontrol grubu testis. P.A.S.....	44
Şekil 15. 90. Gün kontrol grubu testis. Üçlü boyama.....	47
Şekil 16. 120. Gün kontrol grubu testis. Hematoksilen eozin.....	47
Şekil 17. 90. Gün ligatür grubu testis. Hematoksilen eozin.....	48
Şekil 18. 90. Gün ligatür grubu testis. Üçlü boyama.....	48
Şekil 19. 90. Gün ligatür grubu testis. P.A.S.....	49
Şekil 20. 120. Gün kontrol grubu testis. Üçlü boyama.....	49
Şekil 21. 120. Gün ligatür grubu testis. Üçlü boyama.....	50
Şekil 22. 120. Gün ligatür grubu testis. Hematoksilen eozin.....	50

Şekil 23.	21. Gün kontrol grubu testis. İmmunohistokimya.....	52
Şekil 24.	21. Gün ligatür grubu testis. İmmunohistokimya.....	53
Şekil 25.	35. Gün kontrol grubu testis. İmmunohistokimya.....	54
Şekil 26.	35. Gün ligatür grubu testis. İmmunohistokimya.....	54
Şekil 27.	56. Gün kontrol grubu testis. İmmunohistokimya.....	55
Şekil 28.	56. Gün ligatür grubu testis. İmmunohistokimya.....	56
Şekil 29.	56. Gün ligatür grubu testis. İmmunohistokimya.....	56
Şekil 30.	90. Gün kontrol grubu testis. İmmunohistokimya.....	57
Şekil 31.	90. Gün ligatür grubu testis. İmmunohistokimya.....	58
Şekil 32.	120. Gün kontrol grubu testis. İmmunohistokimya.....	58
Şekil 33.	120. Gün ligatür grubu testis. İmmunohistokimya.....	59
Şekil 34.	90. Gün kontrol grubu testis (negatif kontrol).....	59

KISALTMALAR

ABP: Androjen bağlayıcı protein

AEC: 3-amino-9-ethylcarbozole

AR: Androjen reseptör

DHEA: Dehidroepiandrosteron

DHT: Dihidrotestosteron

FSH: Follikül sitümüle edici hormon

GnRH: Gonadotropin serbestleştirici hormon, gonadotropin-releasing hormone

H₂O₂: hidrojen peroksit

hCG: Human chorionic gonadotropin

LH: Lüteinleştirici hormon

MIH: Anti-Müllerian hormon, Müllerian inhibiting hormone

P.A.S.: Periodik asit Schiff

PAP: Peroksidaz anti peroksidaz

PBS: Phosphate buffer saline

SRY: Sex-determining region of the Y chrosome

TDF: Testis determining factor

1. ÖZET

Bu çalışma; postnatal gelişim döneminde sıçan testisindeki androjen reseptör (AR) dağılımının tespit edilmesi ve prepubertal dönemde oluşturulan epididimal obstrüksiyonun; testise ve testisteki AR dağılımına etkisinin incelenmesi amacıyla yapılmıştır.

15 günlük yaştaki, yavru sıçanlar rastgele bir şekilde ligatür ve kontrol grubu olarak ikiye ayrıldı. Laparotomi yapılan kontrol grubu sıçanlar ile çift taraflı olarak korpus epididimisleri bağlanan ligatür grubu sıçanların testisleri 21, 35, 56, 90, 120 günlük yaşlarda alınarak Bouin solüsyonunda tespit edildi ve parafine gömüldü. 5 µm kalınlığında kesilen dokular; hematoxilen-eozin, P.A.S. (periodik asit Schiff), üçlü boyama ve mikrodalga ışınlı antijen retrieval protokolü kullanılarak immunohistokimyasal yöntemlerle boyandı.

Seminifer tubul çapında ve bazal membran kalınlığında artış, germinal epitel kalınlığında azalma, spermatidlerin azlığı ve çok çekirdekli spermatidlerin varlığıyla karakterize ilk histolojik değişiklikler 56 günlük ligatür grubunda şekillendi. 90 ve 120 günlük ligatür gruplarında; spermatogenik hücrelerin hemen hemen tamamı yok olmuştu. Seminifer epitel büyük ölçüde Sertoli hücrelerinden oluşuyordu. AR immunboyanma kontrol grubu sıçanların tümünde; peritubuler miyoid hücreler, perisitler, Sertoli hücreleri ve Leydig hücrelerinin çekirdeklerinde gözlenirken, spermatogenik hücrelerde gözlenmedi. Ligatür grubu sıçanların immunboyanma özellikleri Sertoli hücreleri hariç kontrol grubuyla aynıydı.

Sonuç olarak prepubertal dönemde oluşturulan epididimal obstrüksiyonun; seminifer tubullerde ilerleyici dejeneratif değişikliklere yol açtığı ve spermatogenik hücre yokluğuyla karakterize ileri derecede dejenerasyonların görüldüğü seminifer tubullerdeki Sertoli hücre çekirdeklerinin, AR immunboyanma göstermediği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Androjen reseptör (AR), immunohistokimya, epididimal obstrüksiyon, testis, sıçan.

2. ABSTRACT

The aim of this study was to investigate; androgen receptor (AR) distribution in the rat testis in postnatal developing stages and the effects of epididymal obstruction in prepubertal rats on the testes and AR distribution in the testis

15 days of age, the young rats were divided at random in to groups for epididymal ligation or sham operation. In group ligation the corpus epididymides were ligated bilaterally, in group sham only laparotomy operation was performed. Both groups were sacrificed at 21, 35, 56, 91, 128 days. The testes were removed, fixed in Bouin's fixative and embedded in paraffin wax. The tissues were sectioned at 5 μ m and stained with haematoxylin-eosin, P.A.S. (periodic acid Schiff), triple stain, and usage of microwave stimulated antigen retrieval technique for immunohistochemistry.

The initial histological changes in the testes of ligated animals, observed at 56 days, included; an increased, diameter of the seminiferous tubule and thickness of the basal membrane, decreased thickness of the germinal epithelium, depletion of spermatids and presence of multinucleated spermatids. In 90 and 120 days ligation groups; germ cells greatly reduced in number and seminiferous epithelium was composed mainly of Sertoli cells. All of the sham groups rats AR immunostaining was detected in the nuclei of peritubular myoid cells, pericytes, Sertoli cells, and Leydig cells, but not in germ cells. Immunostaining properties of ligation group's rats were same with shame group except Sertoli cells.

Consequently; after prepubertal epididymal obstruction, progressive degenerative alterations occurred in the seminiferous tubules and seminiferous tubules that showed extensive degeneration of the seminiferous epithelium with loss of virtually all members of the germ cell population, the nuclei of Sertoli cells were not AR immunostaining.

Key words: Androgen receptor, immunohistochemistry, epididymal obstruction, testis, rat.

3. GİRİŞ

Testis; erkek üreme hücresini üreten (spermatogenesis), erkeklik hormonu olan testosteronu ve diğer androjenleri sentezleyen (steroidogenez), vücut boşluklarının dışında, skrotum denilen torba içinde funikulus spermaticus ile asılı duran bir çift oval şekilli organdır (3, 33, 34, 35, 48, 52, 65, 72). Hücre üreten yapılar oldukları için sitojenik bez (17) olarak da adlandırılan testisler; genetik çeşitliliği ve kromozom sayısını yarıya indirerek her tür için belli olan kromozom sayısının kuşaktan kuşağa aynı kalmasını sağlayan, mayoz bölünmenin gerçekleştiği yerlerdir (55). Testosteron; spermatogenez, embriyo ve fetüsün gelişimi sırasında cinsel farklılaşma, gonadotropin salgısının kontrolü, dış genital organlar ve sekonder cinsiyet karakterlerinin gelişiminden sorumlu steroid yapıda bir hormondur (3, 17, 33, 35, 48, 52, 65). Testisten testosteron dışında, daha az öneme sahip dehidroepiandrosteron (DHEA) ve androstenedion gibi androjenler de salgılanır (35).

3.1. Testisin Embriyonik Gelişimi

Üreme sistemi üriner sistemle yakın bir ilişki içinde gelişir. İlişki halinde olan bu iki sistem genellikle ürogenital sistem olarak adlandırılır. Ürogenital sistem ara mezodermden köken alır. Genetik cinsiyet; fertilizasyon esnasında, Y kromozomunun varlığı ya da yokluğuna göre şekillenir. Gonadal cinsiyet; Y kromozomunun kısa kolu üzerinde bulunan ve cinsiyet-belirleyen bölge olarak adlandırılan, Y kromozomunun cinsiyet belirleyici bölgesi (SRY=sex-determining region of the Y chromosome) geni tarafından belirlenir. Testis

belirleyici faktör (TDF=Testis Determining Factor) olarak adlandırılan protein, SRY geni tarafından kodlanır. TDF testisin gelişiminden ve farklılaşmasından direkt olarak sorumlu bulunmuştur (4, 5, 22, 35, 37, 48, 52, 66).

Gonadların gelişimi; karın boşluğunun arka duvarı üzerinde, mezonefroz'un medial yanında, mezodermal epitelden oluşan kalınlaşmış bir bölgenin şekillenmesiyle başlar. Bu bölgede epitelin ve altındaki mezenşimin proliferasyonu sonucunda bir kabartı oluşur. Bu kabartıya genital kabartı (crista genitalis) adı verilir. Mezodermal epitel proliferasyona uğrayarak genital kabartı içerisine parmak benzeri kordonlar şeklinde sokulur. Bu oluşumlara primer ya da medullar seks kordonları adı verilir. Genital kabartıya ayrıca; vitellus kesesi duvarının endoderminden köken alan ve ileride spermatogonia ya da ovogonia'yı oluşturacak olan primordiyal (ilkel) germ (cinsiyet) hücreleri göç eder. Genital kabartıya ulaşan primordiyal germ hücreleri primer seks kordonları ile birleşirler (5, 35, 37, 48, 52).

Buraya kadar bahsedilen gelişme aşamalarında erkek ve dişi embriyolar morfolojik olarak birbirinin aynısıdır. Yani her iki cinsiyette de, germ hücreleri ve seks kordonları, henüz farklılaşmamış gonadların, medullar ve kortikal bölgelerinde bulunurlar. Ayrıca mezonefroz ve paramezonefroz kanallar eksiksiz bir şekilde yan yana uzanırlar. İşte; seks kordonlarının, germ hücrelerinin, mezonefroz ve paramezonefroz kanalların birlikte görüldüğü yani erkek ve dişi gonadlarının birbirinin aynısı olduğu bu evreye farklılaşmanın olmadığı aşama (indifferent stage, bipotential stage) adı verilir (5, 37, 48, 52).

Sonraki aşamalarda erkek embriyolardaki seks kordonu hücreleri TDF üretmeye başlar. TDF'nin etkisiyle ilkel seks kordonlarının; medullar

bölgesindeki hücreler pre-Sertoli hücrelerine farklılaşırken, kortikal bölgesindeki hücreler dejenere olurlar. Farklılaşan pre-Sertoli hücreleri, seminifer kordonların oluşumunu organize eder (5, 35, 48, 52) Erkek cinsiyetinin saptanmasında ve testisin gelişiminde ilk morfolojik belirti olan seminifer kordonların oluşumu sıçanlarda embriyolojik dönemin 13. gününde meydana gelir (66). Testis kordonlarından daha sonra tubuli seminiferi kontorti, tubuli seminiferi rekti ve rete testis gelişir (4, 5, 52).

Pre-Sertoli hücreleri paramezonefroz kanalın gerilemesine neden olan anti-Müllerian Hormon (MIH=Müllerian inhibiting hormone) salgırlar. Bu hormon, muhtemelen genital kabartıdaki mezenşimal hücrelerin, androjenleri üreten Leydig hücrelerine farklılaşmasını da uyarmaktadır (5, 52). Leydig hücreleri sıçanlarda embriyolojik dönemin 15. gününde ortaya çıkmaktadır (44). Androjenler mezonefroz kanalın (Wolff kanalı) erkek genital boşaltım kanallarına farklılaşmasını uyarır. Ayrıca dış cinsiyet organlarının gelişmesi ve farklılaşması da testosteronun, 5 α -redüktaz enzimiyle etkileşimi sonucunda oluşan dihidrotestosteronun (DHT) etkisiyle gerçekleşir. DHT eksikliğinde gonadal ya da genetik cinsiyet ne olursa olsun dış genital organlar dişilerinki gibi gelişir (5, 35, 52). Pre-Sertoli hücreleri ayrıca germinal hücre gelişimini mayoz bölünmenin başlangıcına kadar inhibe ederler (5).

3.2. Testis ve Histolojik Yapısı

İnsanda her bir testis yaklaşık olarak gebeliğin 26. haftasında, karın boşluğunun arka duvarından aşağı doğru, oldukça kıvrımlı bir yol kat ederek skrotuma iner (33, 70). Desensus testis adı verilen bu olay sıçanlarda postnatal 30-

40. günlerde şekillenir (14). Desensus testiste gubernakulum önemli rol oynar. Bu, testisin alt kutbuyla skrotumu birleştiren, testisin inişini yönlendiren ve testosteron etkisiyle kısalabilen bir ligamenttir (27). Testisler skrotuma, karın boşluğuyla skrotum arasında bulunan dar bir kanaldan (kanalis inguinalis) geçerek inerler. Bu iniş bazen tamamlanamaz ve testislerden biri ya da her ikisi birden skrotuma inmez. Bu olaya kriptorşidizm ya da inmemiş testis adı verilir. Bu durumda testisler ya karın boşluğunda ya da inguinal kanalda kalır. Vücut boşluklarının dışında, skrotum içinde yer alan testisin ısısı normal vücut ısısından 2-3 °C daha düşüktür. Bu sıcaklık normal spermatogenezin devamı için gerekli iken androjenlerin sentezi için gerekli değildir. Yani androjen üretimi normal vücut ısısında da devam eder. Kriptorşidizm olgularında yüksek ısıya maruz kalan testislerde geri dönüşümsüz histolojik bozukluklar meydana gelir ve sperm üretilmez (35, 52).

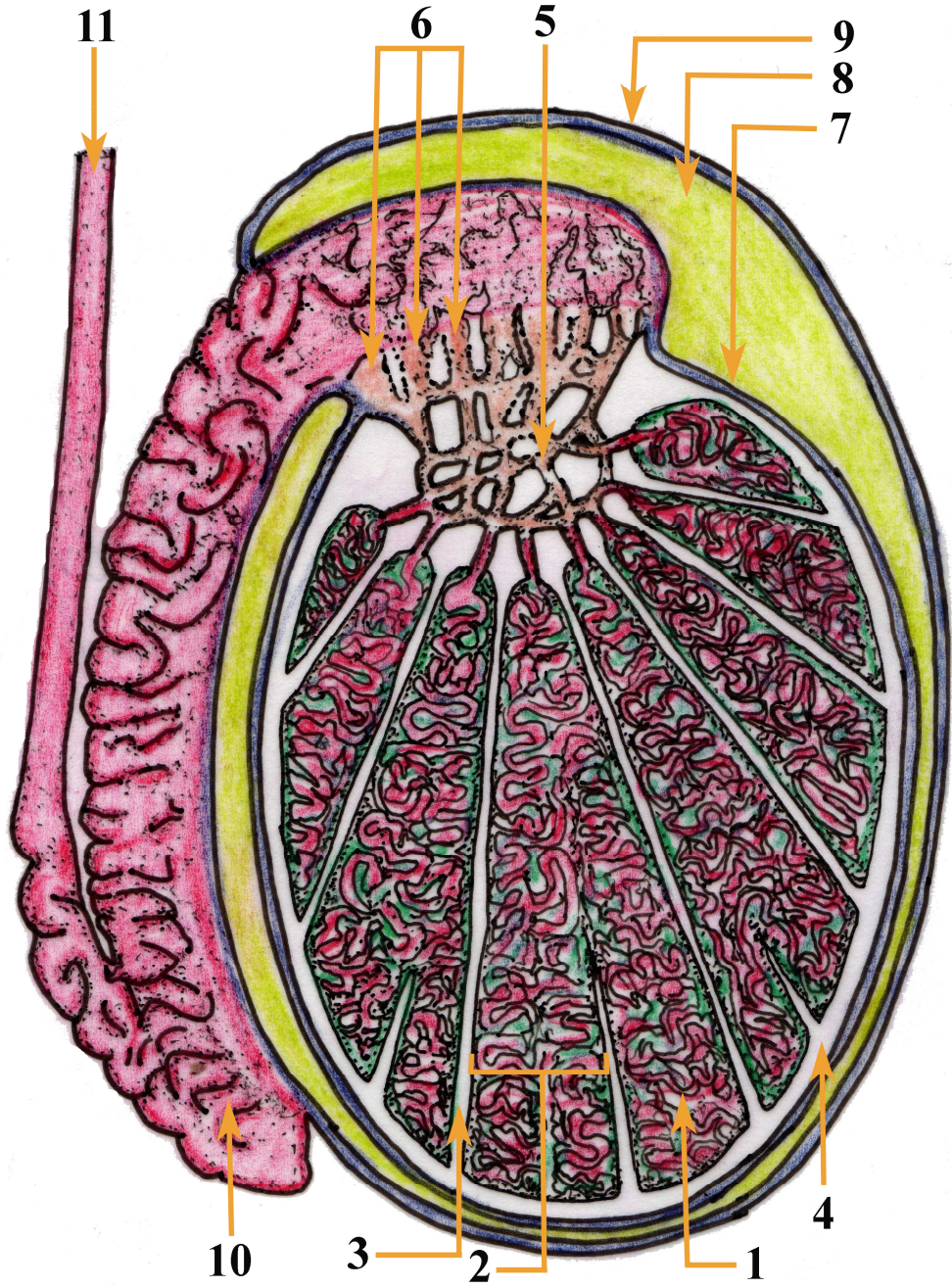
Testislerin yakınında oldukça kıvrımlı bir yapı gösteren arteriya testikularisin etrafı testislerdeki kirli kanı abdominal venlere taşıyan pleksüs pampiniformis tarafından sarılmıştır. Bu yapı testise giren arter kanı ile testisten çıkan ve soğumuş durumda olan kirli venöz kan arasında ısı alışverişini sağlayarak, testise giren arter kanını soğutur. Böylece spermatogenez için gerekli olan düşük ısı sağlanmaya çalışılır. Buna ilaveten kökenini ön karın duvarındaki m. obliquus internus abdoministen alan m.kremaster çevresel ısı değişikliklerine duyarlıdır. Testisteki ısı düştüğünde kasılarak testisi karın duvarına yaklaştırır ve böylece ısıyı artırmaya çalışır. Tersisi durumda ise gevşeyerek testisi karın duvarından uzaklaştırır. Yine düşük sıcaklık skrotumun süperfisyal fasiyasındaki ince düz kas tabakasının (tunica dartos) kasılmasına neden olarak skrotumun

kırışmasına dolayısıyla skrotum yoluyla ısı kaybının azalmasına neden olur (35, 52).

Testisler karın boşluğundan skrotuma inerken beraberinde kan damarları, lenf damarları, otonom sinirler ve tunika vaginalis adı verilen peritondan gelişmiş seröz bir kese taşır. Tunika vaginalis dışta pariyetal içte viseral olmak üzere iki yapraktan oluşur (33, 35, 52). Pariyetal ve viseral yapraklar arasını mezotel hücreleri tarafından salgılanan ince, kaygan bir sıvı tabakası doldurur. Bu sıvı tabakası testislerin skrotum içerisinde rahat bir şekilde hareket etmesini sağlar (70). Pariyetal yaprağı dışa doğru sırasıyla; iskelet kası özelliğindeki m. kremaster, gevşek bağdoku, tunika dartos ve skrotum adı verilen ince bir deri kılıf örter (33, 65, 70).

Tunika vaginalisin viseral yaprağının altında; makroskopik olarak, beyaz renkte görüldüğünden tunika albugineya adı verilen ve testisleri örten yoğun bir fibröz kapsül bulunur. Fibroblast ve miyofibroblast içeren bu kapsül testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testis adı verilen yapıyı oluşturur. Buradan bezin içine giren fibröz uzantılar, bezi testiküler lobüller adı verilen yaklaşık 250-350 adet piramidal bölmeye ayırırlar (33, 35, 65, 70).

Bu uzantılar tam değildir ve bölmeler çoğunlukla birbiriyle ilişkilidir. Her lobülde gevşek bağ dokusu ile sarılı 1–4 seminifer tubul (tubulus seminiferus kontortus) yer alır. Bu bağ dokusu bol miktarda kan ve lenf damarı, sinirler, makrofajlar ve intersitisyel hücreleri (Leydig hücreleri) içerir. Seminer tubuller erkek üreme hücreleri olan spermatozoonları üretirken, Leydig hücreleri de testiküler androjenleri salgılar (33, 35, 52, 65, 70) (Şekil 1).



Şekil 1. Testis ve epididimis (70)

1-tubulus seminifer convolutus, 2-lobulus testis'ler, 3-septulum testis, 4-tunica albuginea, 5-rete testis, 6-ductulus eferens testis'ler, 7-tunica vaginalis (lamina visceralis=viseral katman), 8-cavum vaginale, 9-tunica vaginalis (lamina parietalis=parietal katman), 10-epididymis, 11-ductus deferens

3.2.1. Seminifer Tubul (Tubulus Seminiferus Kontortus)

Tunika albuginea'dan itibaren kör uçlarla başlayarak, organın derinlerine doğru ilerleyen, her bir testiste yaklaşık 250–1000 adet bulunan, 150–250 µm çapında ve 30–80 cm uzunluğunda olan bu kanalcıklar, spermatozoonları üretir (3, 33, 65, 70). Oldukça kıvrımlı olan bu kanalcıklar histolojik kesitlerde yuvarlak oval ya da kıvrımlı olarak görülür (65, 70). Tubuller sonlanırken lümen daralır ve düz tubuller ya da tubuli seminiferi rekti olarak anılan kısa segmentler halinde devam eder. Bu düz tubuller; seminifer tubullerin, rete testis denilen, epitel ile döşeli kanalların oluşturduğu bir labirente bağlanmasını sağlar. Anastomoz yapan rete testis kanalları, yaklaşık 10–20 duktuli eferentes ile epididimisin baş kısmına bağlanmıştır (33).

Seminifer tubullerin dışı, tunika propria olarak da adlandırılan; kalın bir bazal membran ile kollagen iplikler, fibroblastlar ve insanda birkaç kat, kemirgenlerde ise tek kattan oluşan kasılabilir peritubuler miyoid hücre tabakalarından oluşur (52, 63). Miyoid hücreler hareketsiz spermleri ve Sertoli hücreleri tarafından salgılanan sıvıları rete testise ilerleten ritmik kasılma aktivitelerinden sorumludur (52). Tubullerin içi ise germinal (seminifer) epitelle kaplanmıştır. Seminifer epitel; Sertoli ve spermatogenik hücrelerden meydana gelir (21, 33, 34, 70).

3.2.1.1. Sertoli Hücreleri (Epitheliocytus Sustendans)

Sertoli hücreleri; destekleyici hücreler olarak da bilinen, sahip olduğu lateral ve apikal uzantıları vasıtasıyla kendisine bitişik olan spermatogenik hücreleri saran ve bu hücrelerin aralarını dolduran, yüksek prizmatik hücrelerdir. Sertoli hücre uzantıları spermatogenik hücreler arasına girdiğinden ışık

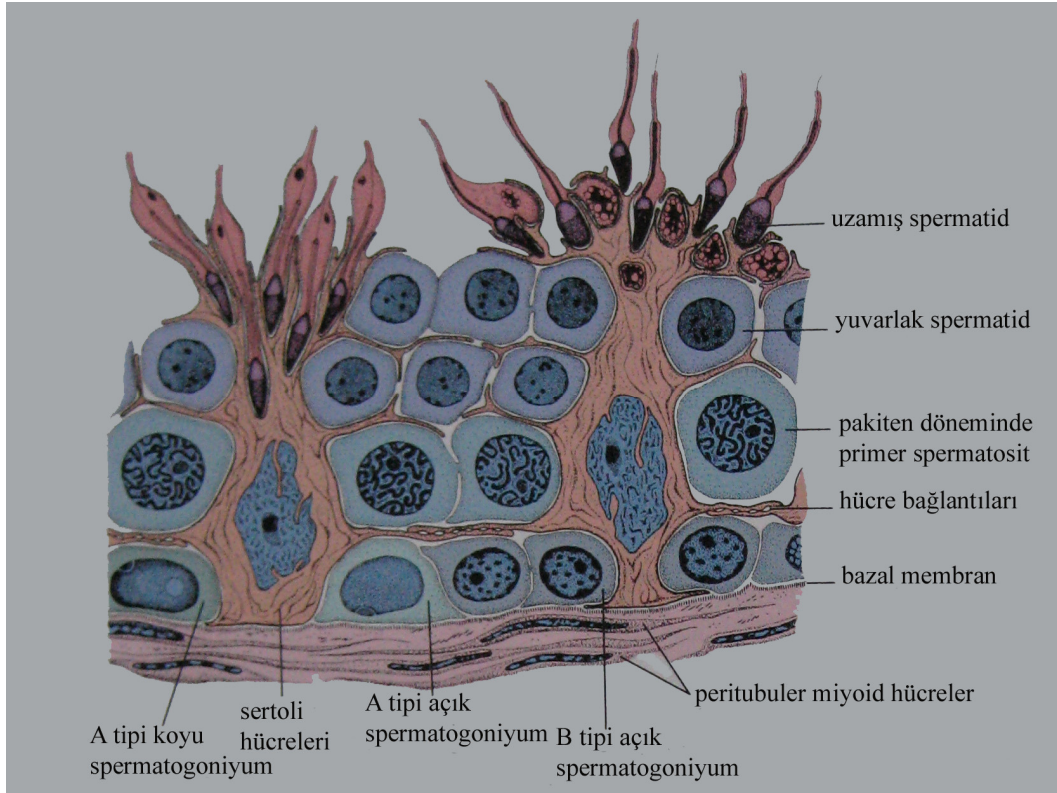
mikroskobunda bu hücrelerin sınırları tam olarak belirlenemez (3, 7, 33, 52). Pubertas'a kadar seminifer epitelin dominant hücre tipidir. Pubertas sonrasında ise seminifer epitel hücrelerinin yaklaşık %10'unu oluştururlar. Yaşlanmayla birlikte genellikle spermatogenik hücrelerinin sayısı azalır ve Sertoli hücreleri yeniden seminifer epitelde baskın hücre tipine dönüşür (35). Sertoli hücreleri spermatogenik hücrelerin duyarlı olduğu birçok faktöre karşı dayanıklıdır. Örneğin inmemiş testis vakalarında, vücut ısısına maruz kalan testislerde spermatogenik hücreler dejenere olurken Sertoli hücrelerinde dejenerasyon görülmez (35, 52) (şekil 2).

Sıçanlarda Sertoli hücrelerinin proliferasyonu fetal yaşamın 16. gününde başlar ve doğuma iki gün kala maksimuma ulaşır. Doğum sırasında sıçan testisinde yaklaşık bir milyon Sertoli hücresi vardır ve proliferasyon eskisine nazaran yavaşlarsa da devam eder. Postnatal 15. günde Sertoli hücresi sayısı maksimum sayıya (40 milyon) ulaşır. Daha sonra proliferasyon duraklar, farklılaşma başlar ve Sertoli hücre sayısı erişkin dönem boyunca sabit kalır. Sertoli hücrelerinin proliferasyonu, postproliferatif farklılaşması ve olgunlaşması erişkin sıçanlarda eksiksiz bir spermatogenez oluşumu için vazgeçilmezdir (44).

Bazal membrandan tubul lümenine doğru uzanan Sertoli hücreleri, ince granüler yapıda oldukça büyük bir sitoplazmaya sahiptir. Sitoplazmada çok sayıda yuvarlak ve çomak şekilli mitokondri, iyi gelişmiş Golgi aygıtı, lizozomlar, veziküller, lipid damlaları, glikojen granülleri ve filamanlar bulunur. Ayrıca iyi gelişmiş granüllü endoplazmik retikulum ve çok sayıda granülsüz endoplazmik retikulum mevcuttur. Ökromatik Sertoli hücre çekirdekleri, çok aktif bir hücre olduklarının göstergesidir. Genellikle derin bir yarık ve büyük bir çekirdekcik

içeren çekirdeğin, yeri ve şekli değişkendir. Yassı şekilde hücrenin bazal kısmına yakın ve paralel olarak görülebildiği gibi üçgen veya oval şekilde hücrenin bazaline yakın ya da biraz uzak olarakta görülebilir (3, 33, 35, 52, 65, 70). Bazı türlerde çekirdekte, koyu görülen kromatin tanecikleri de (karyazom) bulunur (52).

İnsanlarda sitoplazmanın bazalinde karakteristik inklüzyon cisimcikleri bulunur. Uzunluğu 10–25 μm , genişliği 1 μm olan ince, ağ şeklindeki bu kristaloidler rutin histolojik preparatlarda görülebilir. Transmisyon elektron mikroskopunda (TEM) 15 nm çapında yoğun, düz, paralel filamanlardan oluşan düzensiz yığınlar şeklinde görülen bu yapıların kimyasal yapısı ve fonksiyonları bilinmemektedir (52).



Şekil 2. İnsan seminifer epitelinin şematik gösterimi (52).

Yan yana bulunan Sertoli hücrelerinin bazolateral kısımları birbiriyle zonula okludens türü sıkı bağlantılar kurarak kan testis bariyerini oluştururlar. Böylece zonula okludenslerin altında ve üstünde iki bölme şekillenir. Bazal membranla zonula okludensler arasındaki alana bazal (ekstratubuler) kompartıman, zonula okludenslerden itibaren tubul lümeni tarafındaki alana ise adlüminal (intratubuler) kompartıman denir (65). Spermatogonyumlar ve preleptoten spermatositler bazal bölümde yer alırken preleptoten sonrası primer spermatositler, sekunder spermatositler ve spermatidler adlüminal bölümde yer alırlar (52, 70). B tipi spermatogonyumların mitotik bölünmeleriyle oluşan genç spermatositler bazal kompartımanda bulunur. Gelişme halinde olan bu hücreler zonula okludens adı verilen sıkı bağlantı noktalarını geçerek adlüminal kompartımana ulaşırlar. Bu olay şöyle gerçekleşir; öncelikle genç spermatositlerin altında Sertoli hücre uzantıları oluşmaya başlar. Oluşan bu uzantılar birbirleriyle zonula okludens türü bağlantılar yapar. Bu arada genç spermatositlerin üzerindeki eski bağlantılar çözülür. Böylece adlüminal kompartımana geçen spermatositler mayoz bölünme ve spermiyogenezi burada tamamlarlar (52). Zonula okludens türü bağlantılara ilaveten Sertoli hücreleri bazal membranla hemidesmozom, erken gelişme aşamasındaki spermatogenik hücrelerle de desmozom benzeri bağlantılar yaparlar. Yine birbirleriyle sıkı bağlantı adı verilen bağlantılar oluştururlar. Bu yolla hücreler arasında iyonik ve kimyasal madde alışverişi sağlanır (3, 33, 35, 52) (şekil 2).

Sertoli hücrelerinin; geliştirmekte olan spermatozoonların desteklenmesi, korunması ve beslenmesinin düzenlenmesi, fagositoz, sekresyon, olgun spermatidlerin aktin aracılı kasılmalarla seminifer tubul lumenine salınımını

kolaylaştırmak, kan testis bariyerini oluşturma gibi görevleri vardır (6, 33, 34, 35, 52, 65).

Testis kılcal damarları pencere tiptedir. Bu nedenle büyük moleküllerin damar dışına çıkmasına izin verirler. Kan testis bariyeri damar dışına çıkmış büyük moleküllerin, adlüminal kompartımana girmesine izin vermeyerek, burada bulunan spermatogenik hücreleri, bu maddelerin zararlı etkilerinden korur. Ayrıca spermatogenik hücrelerin farklılaşması; sperme özgü proteinlerin oluşmasını sağlar. Cinsel olgunluğa bağışıklık sisteminin gelişmesinden sonra erişildiği için, farklılaşan sperm hücreleri bağışıklık sistemi tarafından yabancı olarak algılanabilir ve bu durum germinal hücreleri yok edebilecek bir immün yanıtı yol açabilir. Kan testis bariyeri, gelişmekte olan sperm ile bağışıklık sistemi arasında şekillenebilecek herhangi bir etkileşimi önler. Dolayısıyla Sertoli hücrelerinin oluşturduğu bu bariyer seminifer epiteli otoimmün bir davranışa karşı korur (33, 35, 38, 52).

3.2.1.2. Spermatogenik Hücreler

Düzenli olarak bölünürler ve olgun sperme farklılaşırlar. Bu hücreler testisin erken gelişim sürecinde, vitellus kesesinin endoderminden köken alan ve krista genitalis'e göç eden primordiyal germ hücrelerinin farklılaşması sonucu oluşurlar. Spermatogenik hücreler ilkelden gelişmişe doğru spermatogonium, primer spermatosit (spermatocytus primarius), sekunder spermatosit (spermatocytus secundarius), spermatid (spermatidium) ve spermiyum (spermatozoon) şeklinde sıralanırlar (3, 33, 52, 70).

Spermatogoniyumlardan spermatozoon (spermiyum) oluşumuna kadar geçen sürece spermatogenez adı verilir. Bu sıçanlarda testisin her gramından günlük 10^7 olgun spermiyumun üretildiği oldukça organize bir süreçtir (45). Spermatogenez de kendi içinde spermatositogenez, mayoz ve spermiyogenez olmak üzere üç aşamaya ayrılır. Spermatogoniyumlardan primer spermatositlerin oluşumuna kadar geçen evreye spermatositogenez adı verilir. Bu evredeki hücrelerde mitoz bölünme gözlenir. Mayoz evresi primer spermatositin oluşmasıyla başlar ve spermatid oluşumuyla son bulur. Bu evrede primer spermatositler kromozom sayısını yarıya indiren birinci mayoz bölünmeyi geçirerek sekonder spermatositleri meydana getirirler. Oluşan sekonder spermatositler derhal II. mayoz bölünmeye girerek spermatidleri oluştururlar. Spermatidlerden spermiyum oluşumuna kadar geçen sürece spermiyogenez adı verilir. Bu süreçte hücre bölünmesi görülmez (33, 52, 70).

3.2.1.2.1. Spermatogonium (Spermatogonium)

Bazal kompartımanda bazal lamina ile direkt ilişkide olan diploid yapıda, spermatogenez sürecinin ilk hücreleridir. İnsanda yaklaşık 12 μm çapındadır. Kan testis bariyerinin dışında yer alırlar (3, 33, 52). Spermatogenez sürecinde görülen germ hücre kayıpları en yaygın olarak bu dönemde şekillenir (40). Spermatogonial kök hücrelerden köken alan spermatogoniyumlar, pubertas ile birlikte mitoz bölünmeyle çoğalmaya başlar ve yeni hücreler oluşur. Pubertas döneminde insan seminifer epitelinde rutin histolojik boyamalarda çekirdeklerinin görünümüne göre üç tip spermatogonium ayırt edilir (35, 52, 54);

A tipi koyu spermatogoniyum; Oval şekilli, güçlü bazofilik ve ince granüler kromatin içeren, çekirdeklere sahiptirler. Bu spermatogoniyumların kök hücreleri olduğu düşünülmektedir. Düzensiz aralıklarla mitoz bölünme geçirerek kök hücre olarak görev yapacak olan A tipi koyu spermatogoniyumlar ile daha ileriki hücrelere farklılaşacak olan A tipi açık spermatogoniyumları oluştururlar (35, 52).

A tipi açık spermatogoniyum; Oval şekilli, açık boyanan ve ince granüler kromatin içeren çekirdeklere sahiptirler. Birkaç başarılı mitoz bölünme geçirerek sayılarını artırırlar ve B tipi spermatogoniyum'a farklılaşırlar (35, 52).

B tipi spermatogoniyum; Dağınık kromatin içeren küresel şekilli çekirdeklerinde; merkezi bir çekirdekcik mevcutken vakuol bulunmaz (3, 70). B tipi hücreler ardı ardına devam eden mitoz bölünmeler geçirerek primer spermatositleri oluştururlar (3, 35, 52, 70).

3.2.1.2.2. Primer Spermatosit (Spermatocytus Primarius)

Bu hücreler birinci mayoz bölünmenin başlamasından önce adlüminal kompartımana göç ederler (70). Primer spermatositler spermatogenik serinin en büyük hücreleridir ve çekirdeklerinde kangal oluşturma sürecinin değişik evrelerinde kromozom bulunması ile tanınırlar. Bu hücreler oluşumlarından hemen sonra birinci mayoz bölünmenin profaz evresine girerler. Bu aşama yaklaşık 22 gün sürdüğünden kesitlerde görülen spermatositlerin çoğu bu dönemdeki hücrelerdir (33). Mayoz öncesinde DNA'sını kopyalayan bu hücrelerde kromozom sayısı (4n) ve DNA miktarı (2d) iki katına çıkar. Örneğin insanlar da birinci mayozun profaz evresi sonrasında her biri iki kromatide sahip

46 kromozomu belirlemek mümkündür. Birinci mayoz bölünmenin tamamlanmasından sonra sekonder spermatositler oluşur (3, 33, 52, 65, 70).

3.2.1.2.3. Sekunder Spermatosit (Spermatocytus Secundarius)

Primer spermatositten daha küçüktürler. Sekunder spermatositlerde, kromozom sayısı yarıya inmiştir (3, 33, 35, 48). Örneğin insanda bu hücrelerde iki kromatid'e sahip 23 adet (22+X veya 22+Y) kromozom bulunur. Sekunder spermatositler 2d (diploid) miktarda DNA ya sahiptirler. Yeni DNA sentezlemeksizin derhal ikinci mayoz bölünmeye girerek bu bölünmeyi tamamlarlar. Bu süreç çok kısa sürdüğünden histolojik kesitlerde nadiren görülebilirler. Bölünmenin tamamlanmasıyla spermatidler oluşur (33, 52).

3.2.1.2.4. Spermatid (Spermatidum)

Spermatidler haploid DNA içeriğine (1d) ve kromozom sayısına (insanda- 22+X veya 22+Y) sahip hücrelerdir. Artık bölünmenin görülmediği bu hücreler, farklılaşma sürecinden geçerek olgun spermiyumu meydana getirirler (52). Seminifer epitelde baskın olarak iki tip spermatid vardır. Birincisi Sertoli hücrelerinin sitoplazmik oyuklarına yerleşmiş olan yuvarlak ya da erken spermatidler, ikincisi ise Sertoli hücrelerinin apikal sitoplazmasındaki kriptlerde yerleşmiş olan uzamış ya da geç spermatidlerdir. Spermatidler seminifer tubullerde lumen yakınında yerleşmiştir. Spermatidler Golgi evresi, kep evresi, akrozom evresi ve maturasyon evresi olarak adlandırılan başkalaşma süreçlerinden geçerek seminifer tubul lümenine salınan olgun spermatozoon'a dönüşür (3, 11, 33, 52, 65, 70).

Golgi evresi; spermatidlerin Golgi kompleksinde P.A.S. pozitif granüllerin birikimiyle karakterizedir. Glikoproteinden zengin bu proakrozom granüller birleşerek mebranla çevrili akrozomal vezikülü oluştururlar. Akrozomal vezikül çekirdek membranına tutunur. Akrozomal vezikülün tutunduğu nokta gelişim halindeki spermiyumun ön kutbunu oluşturur. Sentriyoller akrozomal vezikülün çekirdek zarına yapıştığı noktanın aksi yönüne hareket ederler. Bu bölgede plazma membranıyla dik açı oluşturacak şekilde lokalize olan distal sentriol; dokuz çift periferel ve bir çift merkezi mikrotubulusa sahip olan spermiyum kuyruğunun aksonem kompleksini oluşturmaya başlar (11, 35, 52).

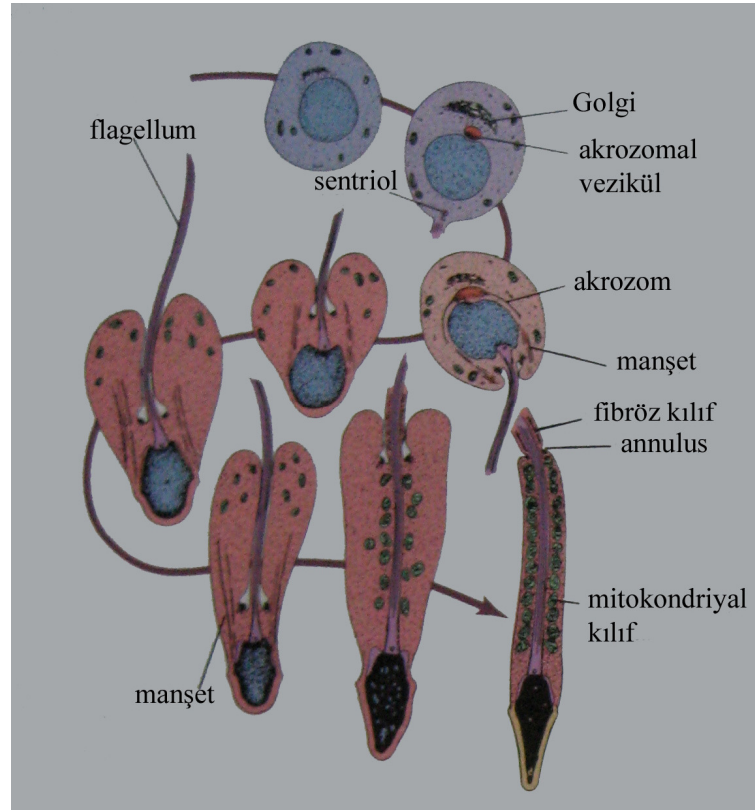
Kep evresinde; akrozomal vezikülün şekli değişerek çekirdeğin ön yarımını saran akrozomal başlığı oluşturur. Bu fazda akrozomal başlığın altındaki çekirdek membranı kalınlaşır ve çekirdek zarındaki porlar kaybolur. Ayrıca çekirdeğin içeriği yoğunlaşır (33, 35, 52).

Akrozomal evrede; spermatid, akrozomal başlığın bulunduğu ön kutup ya da spermiyumun baş kısmını oluşturacak taraf bazal laminaya bakacak şekilde yön değiştirerek daha derin bir şekilde Sertoli hücreleri içine gömülür. Böylece arka kutup tubul lumenine yöneldiğinden gelişim halinde olan flagellum lumene doğru uzamasını sürdürür. yoğunlaşan spermatid çekirdeği yassılaşır ve uzar. Çekirdek ve ön kısmında bulunan akrozom hücre membranına bitişik pozisyon alırken hücre sitoplazmasının çoğu arka kutba doğru yer değiştirir. Akrozomal başlığın arka kısmında perinükleer halka ve gelişmekte olan flagellum'a doğru uzanan mikrotubullerden oluşan, manşet adı verilen yapı şekillenir. Aksonemal gelişimin başlangıcından hemen sonra oluşan bu yapı spermatid çekirdeğinin yoğunlaşması ve uzaması sürecinin tamamlanmasına az bir süre kala ortadan

kaybolur. Daha önce spermatidin arka kutbuna göç etmiş olan proksimal sentriol ve perisentrional matriks baş ile kuyruğu birleştiren birleştirici parçayı (boyun bölgesi) oluşturur (11, 33, 35, 52).

Son faz olan maturasyon evresinde; spermatid atık cisim olarak da adlandırılan sitoplazma fazlalığından kurtulur. Atık cisim Sertoli hücrelerince fagosite edilir. Böylece olgunlaşmamış olan spermatozoon Sertoli hücrelerinden ayrılarak seminifer tubul lumenine salınır. Bu olaya spermiyasyon denir (35, 52) (Şekil 3).

Spermatogenez'in süresi yani A tipi koyu spermatogoniyumdan olgunlaşmamış spermatozoonun seminifer tubul lumenine salınımına kadar geçen süre insanda yaklaşık 74 gündür (52) (şekil 3).



Şekil 3. Spermiyogenezin şematik gösterimi (52)

3.2.1.2.5. Spermatozoon (Spermiyum)

Gelişimini tamamlamış eşey hücresidir. Bu hücre fizyolojik olgunluğunu epididimis içinde kazanır. İnsan spermiyumu yaklaşık 65 µm uzunluğunda ve aktif olarak hareket etme kabiliyetindedir. Spermiyum; baş, boyun ve kuyruk olmak üzere üç bölümden oluşur. Kuyruk da kendi içinde orta parça, ana parça ve son parça olmak üzere üç bölüme ayrılır (33, 34, 35, 52, 70).

Baş; türler arasında oldukça farklılık gösteren bir yapıdadır. Bunun uç kısmında golgi kompleksinden köken alan özel tip lizozomal yapı (akrozom) bulunur. Akrozom; hyaluronidaz, asit fosfotaz, akrozin, asit peptidaz ve noyraminidaz gibi çeşitli enzimler içerir. Spermiyum korona radyata ve zona pellusida gibi engelleri bu enzimler sayesinde aşarak döllemek üzere yumurta hücresine girer (3, 33, 65, 70).

Boyun; spermiyumun hareket merkezi olarak kabul edilir. Boyun bir bazal plak ile başlar; baş ile eklemlili bağlantısı vardır. Geriye doğru proksimal ve onunda gerisinde distal sentriyol bulunur. Distal sentriyolden, spermiyumun kuyruğunu şekillendiren flagellum gelişir (3, 33, 52, 65, 70).

Kuyruk; Orta parça, ana parça ve son parça olmak üzere üç bölümden oluşan kuyruk 40–50 µm uzunluğundadır (3, 33, 52, 65, 70).

3.2.2. İntersitisyel Doku

Seminifer tubullerin arasını dolduran; bağ dokusu, sinirler, mast hücreleri, makrofajlar, kan ve lenf damarları ile Leydig hücrelerinden oluşan dokudur. Leydig hücreleri 10 µm çapında (sıçan), yoğun asidofilik ve ince granüler sitoplazmalı, çoğunlukla hücrenin merkezi dışında lokalize olmuş büyük yuvarlak

çekirdekli hücrelerdir (3, 33, 65). Çekirdeklerinde bir ya da iki adet çekirdekcik mevcuttur. Çoğunlukla yuvarlak ya da poligonal şekilli olan bu hücrelerin küçük ve iğ şeklinde olgunlaşmamış form olarak düşünülen tipleride mevcuttur. Leydig hücreleri steroid sentezleyen diğer hücreler gibi lipid damlacıkları, karakteristik tübüler kristal mitokondriyonlar ve gelişmiş bir granülsüz endoplazmik retikulum içerir (3, 14, 33, 52, 70). Bu hücrelerin sitoplazmasında sadece insanlarda ve vahşi çalı sıçanlarında görülen Reinke kristaloidleri de görülmektedir. Pubertas ile birlikte görülmeye başlayan ve yaşlılıkta sayıları artan bu oluşumların fonksiyonları bilinmemektedir (35, 52, 70).

Leydig hücreleri kümeler halinde bulunurlar. Bu kümelerin büyüklükleri değişkendir ve çevresinde bol miktarda kılcal damar, lenf damarı ve sinirler mevcuttur (33, 35 52).

Sıçanlarda Leydig hücreleri ilk olarak embriyonik gelişimin 15. gününde ortaya çıkar ve androjen sentez ve sekresyonu yapmaya başlar. Doğumda var olan fetal Leydig hücreleri erişkin dönem Leydig hücrelerinin öncüsü değildir. Hatta bu hücreler erişkin testisinde az sayıda varlığını sürdürür. Leydig hücreleri prepubertal dönemde, mezenşimal prekürsör hücrelerden farklılaşmaktadır. Bu farklılaşma sonucunda postnatal 28. günde morfolojik olarak belirlenebilen ilk Leydig hücreleri oluşmaktadır. Oluşan bu hücrelerin bölünmesiyle erişkin Leydig hücre popülasyonu şekillenmektedir (44).

Testisin endokrin kısmını meydana getiren bu hücrelerin en önemli görevi androjenlerin özellikle de testosteronun sentezi ve salgılanmasıdır. Leydig hücrelerince üretilen testosteron, embriyonal dönemde; gonadların normal bir şekilde gelişiminden, pubertal dönemde; sperm üretimi ve aksesuar cinsel

bezlerinin sekresyonunun başlaması ile sekunder cinsiyet karakterlerinin gelişmesinden ve erişkinlerde; spermatogenezin, sekunder cinsiyet karakterlerinin ve cinsel salgı bezlerinin fonksiyonlarının devam ettirilmesinden sorumludur (35, 52). Testosteron, pubertal dönem boyunca spermatogenezin devam ettirilmesinde önemli rolleri bulunan Sertoli hücrelerini parakrin olarak etkiler. İntersitisyel hücrelerden salgılanan androjenlerin, prepubertal sıçanlarda Leydig hücre fonksiyonlarını ve farklılaşmasını düzenleyici otokrin etkileri de vardır (59). Leydig hücrelerinden testosteron dışında, daha az öneme sahip DHEA ve androstenedion gibi androjenler de salgılanır (35). İntersitisyel hücrelerden testosteron sentezi ve salgılanması; hipofiz ön lobundan salgılanan LH (lüteinleştirici hormon, erkekte intersititial cell stimulating hormone = ICSH) tarafından uyarılır (35, 51, 52).

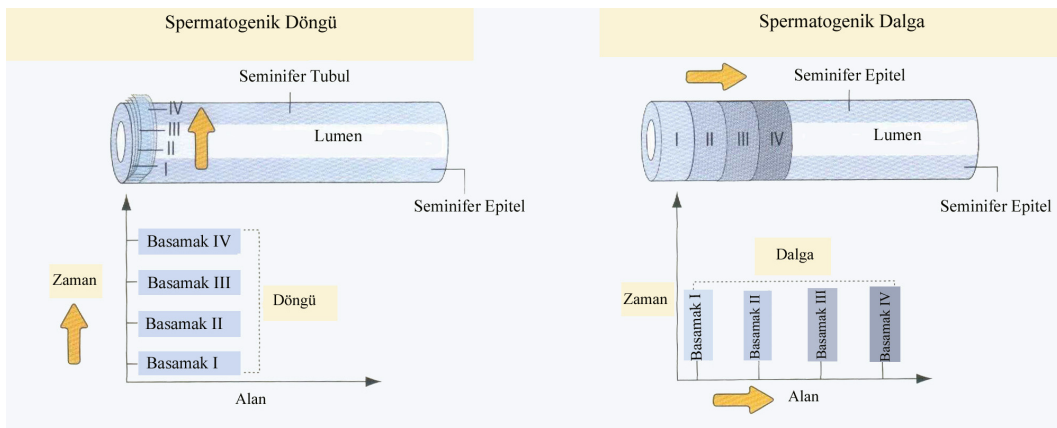
3.3. Seminifer Epitel Siklusu (Spermatogenik Döngü) ve Seminifer Epitel Dalgası (Spermatogenik Dalga)

Işık mikroskobu altında seminifer epitel incelendiğinde spermatogenik hücrelerin birbirleriyle gelişigüzel değil belirli bir düzene göre ilişkiler kurduğu gözlenir. Yani seminifer epitelde belirli spermatogenik hücreler sadece belirli spermatogenik hücrelerle ilişki halindedirler. Bu değişmez hücre grupları basamak ya da aşama olarak adlandırılır ve roma rakamlarıyla gösterilir. Bu basamakların sayısı türe özeldir (sıçanda 14, insanda 6 ve maymunda 12 basamak) (35, 44, 52).

Belirgin bir seminifer tubul alanında, aynı hücresel gruplaşmanın iki defa ortaya çıkması arasında ardışık basamakların serisi spermatogenik döngü olarak

adlandırılır. Sıçanlarda Seminifer tubul uzunluğuna incelendiğinde birbirleriyle ilişki halinde olan belirli gelişim dönemindeki hücrelerin oluşturduğu basamakların belli aralıklarla yinelendiği görülür. Buna spermatogenik dalga adı verilir. Spermatogenik dalga insanlarda belirlenemez. Çünkü sıçanlarda; seminifer epitelin enine kesitinde tek tip basamak vardır. Yani kesitin bütünündeki spermatogenik hücre grupları birbirinin aynıdır. İnsanlarda ise basamaklar veya hücresel gruplar, sarmal bir düzendedir. Bu nedenle enine kesitlerde birden fazla hücresel grup veya basamak aynı anda görülür (33, 35, 44, 52) (Şekil 4).

Yukarıda belirtilen hususlar spermatogenezin seminifer tubullerin tümünde veya seminifer tubulün uzamı boyunca eş zamanlı olarak değil belirli bir düzene göre ardışık olarak şekillendiğini gösterir. Bu durum histolojik preparatlarda enine kesitlerde farklı seminifer tubullerde (kemirgenlerde) ya da bir seminifer tubulün farklı bölgelerinde (insanlarda) birbirinden farklı gelişim dönemindeki spermatogenik hücrelerin görülme sebebini açıklar (33, 35).



Şekil 4. Spermatogenik döngü ve spermatogenik dalga (49)

3.4. Erkek Genital Kanalının Endokrin Kontrolü

Hipotalamustan salgılanan gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) hipotalamus ile hipofiz arasında iki yönlü akım gösteren mikrovasküler portal dolaşım yoluyla sistemik dolaşıma geçmeden, yüksek konsantrasyonlarda adenohipofize ulaşarak buradan glikoprotein yapısındaki gonadotropik hormonların [follikül sitümüle edici hormon (FSH), LH] salgılanmasını sağlar. Salgılanan bu gonadotropinler kan dolaşımına geçerek testise ulaşırlar. LH ve adenohipofizden salgılanan diğer bir hormon olan prolaktin Leydig hücre fonksiyonlarını düzenler. Aşırı miktarda prolaktin üretimi gonadotropin salgısını ve testisteki etkisini azaltarak erkek üreme fonksiyonunu baskılar. Hiperprolaktinemi Leydig hücrelerinden androjenlerin üretimini azaltabilir, erektil disfonksiyon ve infertiliteye neden olabilir. LH Leydig hücrelerinden androjen salgılanmasını sitümüle eder. Salgılanan testosteron belirli bir seviyenin üstüne çıktığında negatif geri bildirim mekanizmayla hem hipotalamustan GnRH, hemde hipofizden LH salınımını inhibe etmektedir. İnsanlarda testosteron; testiste, dolaşım kanından 200 kat daha fazla konsantrasyonda bulunmaktadır. Bu yüksek konsantrasyon, spermatogenik hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşması için gereklidir. FSH ise Sertoli hücrelerinde bulunan reseptörleri aracılığıyla, Sertoli hücrelerinden inhibin ve aktivin gibi glikoprotein yapısındaki hormonların salgılanmasını sağlar. İnhibin adenohipofizden FSH salınımını inhibe ederken aktivin adenohipofizden FSH salınımını sitümüle eder (35, 46, 52, 65).

Erkek fetüste embriyogenezisden itibaren Sertoli hücreleri tarafından sentezlenen antimüllerian hormon (AMH) Müller kanalının gerilemesine neden olarak dişi genital sistemin gelişimini önler (15).

Testosteron ve DHT'ye oldukça yüksek bağlanma affinitesine sahip olan androjen bağlayıcı protein (ABP) üretimi, Sertoli hücreleri tarafından FSH ve testosteron kontrolü altında gerçekleştirilir. Böylece seminifer tubul içinde spermatogenez için gerekli olan yüksek testosteron yoğunluğu sağlanmış olur (35, 52).

3.5. Epididimal Obstrüksiyonun, Testis Gelişimine Etkisi ve Önemi

Ekzokrin bezlerde salgının dışarıya akışının engellenmesi, sekretorik epitelin dejenerasyonu ile sonuçlanır. Hücre sentezlediklerinden dolayı sitojenik bez olarak da adlandırılan testislerde de (17) akıtıcı kanalların (genital boşaltıcı kanalar) tıkanıklığı sonucunda seminifer tubullerinde patolojik değişiklikler oluşabilir (17, 21, 47). Bu değişiklikler tıkanıklığın şekillendiği bölgeye göre farklılık arz eder (17, 21).

Erkek boşaltım kanallarının tıkanıklığı üzerine yapılan çalışmalar özellikle duktus deferens ve duktuli eferentes testis üzerinde yoğunlaşmıştır. Duktus deferensin tıkanıklığı üzerinde yapılan çalışmaların en önemli nedeni; gebelikten korunmak için erkeklerde yapılan vasktomisi operasyonlarının testise olan etkilerini incelemektir. Amerika'da her yıl yarım milyondan fazla insana vasktomisi operasyonu uygulanmaktadır. Operasyon uygulanan insanlardan bazıları yeniden çocuk sahibi olmak istemekte ve bu nedenle vasktomisi operasyonu ile yapılan değişiklikleri düzeltici operasyonlar talep etmektedirler (32). Bu sebeple vasktominin testiste patolojik değişiklikler meydana getirip getirmediği, getiriyorsa bu değişikliklerin geri dönüşümlü olup olmadığını bilmek önem kazanmıştır. Duktus deferensin bağlanmasıyla ilgili yapılan çalışmaların sonuçları değişkendir. Bazı çalışmalarda ligatürün, seminifer tubullerin bir

kısımında ya da tamamında, germinal hücrelerin tamamına yakınının yahut tamamının, yok olmasıyla dolayısıyla sperm üretiminin durmasıyla sonuçlanan hızlı ve geniş çaplı seminifer epitel dejenerasyonuna yol açtığı (2, 13, 19, 32, 41, 49, 61), bazılarında ise; vasktominin testis üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (20, 47).

Vasktominin aksine, özellikle prepubertal dönemde şekillenen epididimal obstrüksiyonun etkilerini inceleyen çalışma sayısı azdır. Paufler ve Foote (47) erişkin tavşanlarda yaptıkları çalışmada; epididimal obstrüksiyonun seminifer tubullerde patolojik değişikliklere yol açtığını, ancak seminifer tubullerin bir kısmındaki patolojik değişikliklerin reversibl olduğunu bildirmişlerdir. Soler ve arkadaşlarının (61) erişkin sıçanlarda yaptıkları çalışmada kısmi epididimektomi sonrasında; seminifer tubullerin tamamında dejeneratif değişikliklerin şekillendiği bildirilmiştir. Prepubertal dönemde oluşturulan epididimal obstrüksiyonun, etkilerine yönelik yapılan çalışmalar sonucunda; seminifer tubullerde, germ hücrelerinin tamamına yakınının ya da tamamının yok olmasıyla karakterize ciddi, irreversible değişikliklerin şekillendiği ileri sürülmüştür (1, 17). Epididimal obstrüksiyon sonrası şekillenen testis hasarının; seminifer tubullerde basınç artışı (47, 68), metabolitlerin birikimi (49), epididimis tarafından sentez edilen maddelerin yokluğu (47, 68), bazal membran kalınlaşması ve diğer nedenlerden dolayı damar çapında daralma ve genişlemenin (vasomotion) bozulması (1, 49) ve antisperm antikorların yükselmesi (16) gibi nedenlerden kaynaklanabileceği iddia edilmiştir.

Testis ile duktus deferens arasında yer alan epididimis, testisten sonra sırasıyla caput, corpus ve cauda epididimis adlı bölümlerden oluşan akıtıcı bir

kanalıdır. Başlıca görevleri testisten gelen sıvıların büyük bir kısmının emilmesi, ejakülasyon öncesi spermiyumların depolanması ve olgunlaştırılması olan epididimisin endokrin görevlerinin de olduğu ileri sürülmüştür (61). Bu özelliklerinden dolayı epididimisin obstrüksiyonunun, testis ve spermatogenez üzerindeki etkisine yönelik çalışmalar önem kazanmıştır. Prepubertal dönemde epididimiste; inguinal fitik operasyonları sırasında iatrojenik (hekim hatası), yangısal (travmatik, enfeksiyöz vb.), tümöral, kistik vb. nedenlerden meydana gelebilecek bir tıkanıklık ya da insanlarda konjenital olarak vas deferensin yokluğu sendromu gibi hastalıklarda, testislerin ve dolayısıyla spermatogenez sürecinin bu gibi durumlardan etkilenip etkilenmediği, etkileniyorsa spermatogenez sürecindeki hangi aşamalarda ve yapılarda patolojik değişikliklerin şekillendiği, şekillenen değişikliklerin reversible olup olmadığı gibi soruların cevabını araştırmak erkek fertilitesi açısından önemlidir (1, 2, 17, 18).

3.6. Androjen Reseptörü'nün (AR) Tanımı, Testisteki Dağılımı ve Önemi

Androjenlerin etkileri ya direkt androjen doku etkileşimi ya da AR vasıtasıyla olur (50). AR, androjenin hedef hücrelerdeki etkilerine aracılık eden yapılardır (39, 74). Testosteron ve DHT gibi hormonların bağlanabildiği, çekirdeğe özgü bir reseptör olan bu yapılar, geniş steroid hormon reseptör ailesin bir üyesidir (56). Çekirdeğe özgü bir transkripsiyon faktörü olan AR, androjenle birleştiğinde DNA'ya bağlanma yeteneği kazanarak, androjene bağlı gen transkripsiyonunu sitümüle eder (63).

Günümüzde gonadların ve sekonder erkek karakterlerinin normal bir şekilde gelişiminin androjenler tarafından sitümüle edilen bir süreç olduğu açık bir şekilde ortaya konulmuştur (50). Androjenler özellikle de testosteron spermatogenezin başlaması ve devamı için gereklidir (71). Androjenlerin spermatogenik süreci düzenleme mekanizması tam olarak ortaya konulamamasına rağmen normal androjen seviyesinin spermatogenezin tamamlanabilmesi için gerekli olduğu açık bir şekilde anlaşılmıştır (28, 63). Androjenlerin testisteki etki mekanizmasına dair çalışmalar sınırlıdır. Androjenlerin testislerde sentez edildiği ve burada yüksek konsantrasyonda bulunduğu bir gerçektir. Androjen yokluğunda spermatogenez sadece pakiten aşamasına kadar devam etmekte olup daha ileri gidememektedir. Androjenler germ hücre gelişimini desteklemekte ve mayoz bölünmenin kalitesini artırmaktadır. Testisteki somatik hücrelerin tümünün androjenlere belirli yanıtlar verdiği belirlenmiştir (8). Germ hücrelerine de etki ettiği belirtilmesine rağmen androjenin seminifer tubuldeki temel etki yerinin Sertoli hücreleri olduğu düşünülmektedir (29). AR'nin olmadığı farelerde yapılan incelemeler, AR'nin testisin normal gelişimi ve fonksiyonu için gerekli olduğunu göstermiştir (9). Belirli mutasyonlar sonucu oluşan AR'nin fonksiyonel bozukluklarının spermatogonik defektlere yol açabileceği ileri sürülmüştür (67). İdiopatik infertilite görülen bazı hastalarda spermatogenez sürecindeki bozukluklar AR fonksiyonundaki yetersizlikler sonucu oluşabilir. Androjenlerin spermatogenezin normal bir şekilde tamamlanmasında gerekli olduğu görüşünü destekleyen oldukça fazla doküman olmasına rağmen androjenler tarafından düzenlenen hayati süreçler henüz belirlenememiştir. Bu nedenle testiste,

androjene cevap veren hücreleri belirlemek androjenlerin etki mekanizmalarını anlamak bakımından önem kazanmıştır (63).

Hormon bağlama çalışmalarıyla (25, 57) AR'nin Sertoli hücrelerinde, immunohistokimyasal çalışmalarla; AR'nin Sertoli, Leydig, peritubuler miyoid hücreler (6, 8, 9, 24, 36, 53, 58, 59, 63, 64, 67, 69, 74, 75) ile rete testis epiteli ve stroması (23, 24), intersitisyel fibroblastlar (23) ve perisitlerin (damar düz kas hücreleri) (6, 59, 63, 69) çekirdeğinde bulundukları gösterilmiştir. Genel olarak, spermatogenezin, androjene bağımlı bir süreç olduğu, görüşü kabul görmesine rağmen (51, 62) AR'nin germinal hücrelerde lokalize olup olmadığı henüz kesin olarak ortaya konulamamıştır. Bazı araştırmacılar AR'nin spermatogonia (36, 74) spermatosit (36) ve geç spermatid (24, 57, 69, 71) gibi germ hücrelerinde bulunduğunu belirtirken bazıları, germ hücrelerinde AR bulunmadığını (6, 23, 25, 58, 63, 64, 67) belirtmişlerdir. Sar ve arkadaşları (58) AR'nin spermatogoniyumdaki bulunma ihtimalinin göz ardı edilemeyeceğini ortaya koymuştur. Pubertas döneminde testislerde AR lokalizasyonu birçok araştırmacı tarafından incelenmesine rağmen doğumdan pubertas'a kadar olan gelişme sürecinde testislerdeki AR dağılımı üzerinde çok az bilgi mevcuttur. Prepubertal dönemde testislerde AR varlığı testis hücrelerinin farklılaşması ve gelişimi ile ilgili olabilir (74). Bu yüzden postnatal gelişim dönemlerinde AR'nin kesin dağılımını bilmek önemlidir.

Yapılan literatür araştırmalarında insanlarda infertilitenin başlıca nedenlerinden olan kriptorşidizm, germinal aplazi (50) ve hipospermatogenez'in (67) testisdeki AR dağılımı üzerindeki etkilerine ilişkin çalışmalara rastlanmış

ancak epididimal obstrüksiyonun, testiste AR dağılımına etkisine yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

3.7. Amaç

Bu çalışmanın amacı; prepubertal dönemde şekillenen epididimal obstrüksiyonun seminifer tubul gelişimi ve testislerdeki AR dağılımı üzerindeki etkisini inceleyerek obstrüksiyonun spermatogenez sürecinde rol oynayan hücresel ve hormonal sistemleri ne şekilde etkilediğini anlamaya çalışmak ve böylece pubertal dönemden önce meydana gelen epididimal obstrüksiyonlar sonucu oluşan sperm üretimi bozukluklarının nedenlerine ışık tutmaktır. Bunun yanında yapılan çalışmayla postnatal gelişim sürecinde testislerde AR dağılımının nasıl olduğu tespit edilerek, androjenlerin spermatogenez sürecine olan etkileri incelenecektir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada; Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Birimi (FÜTDAM)'nden anneleriyle birlikte temin edilen 40 adet 15 günlük Wistar cinsi erkek sıçan yavrusu kullanıldı. Aynı birimde 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamın sağlandığı klimalı odalarda barındırılan sıçanlara, yiyecek ve su ad libitum olarak verildi. Kırk tane sıçan yavrusu; rastgele bir seçimle 25 tanesi ligatür, 15 tanesi de kontrol grubu olmak üzere iki gruba ayrıldı. Aynı gün ameliyata alınan ligatür ve kontrol grubu sıçanlara, anestezi amacıyla periton içi 50 mg/kg dozda ketamin uygulandı. Aseptik şartlarda, ligatür grubu sıçanlara laparotomi yapılarak, karın boşluğuna girildi. Testisler açığa çıkarıldıktan sonra, bölgedeki damarlara zarar vermeden korpus epididimis orta noktasından 6-0 ipek iplikle ligatüre edildi. Testislerin yerine yerleştirilmesinin ardından periton ve karın kasları birlikte olacak şekilde 6-0 krome katgütle, deri ise 6-0 naylon iplikle dikilerek operasyon tamamlandı. Korpus epididimisin ligatüre edilmesi hariç kontrol grubuna da aynı işlemler uygulandı. Yavru sıçanlar anesteziden uyandıktan sonra emzirilmeleri için annelerinin yanına bırakıldı. Doğum sonrası 21. günde süttten kesilen sıçanlar annelerinden ayrıldı. Operasyon sonrası yavru sıçanlar testislerin skrotuma inip inmediğini belirlemek amacıyla birer haftalık periyotlarla kontrol edildi.

21, 35, 56, 90 ve 120 günlük yaşlarda, ligatür grubundan beşer kontrol grubundan ise üçer tane sıçan rastgele bir şekilde seçilerek dietil eter ile anestezi edildi. Bunu takiben testisler hızlı bir şekilde vücuttan uzaklaştırılarak Bouin solüsyonunda 36 saat süreyle tespit edildi. Daha sonra bu dokular %50, 70, 80, 96

I, 96 II, 100 I, 100 II'lik alkol serilerinden geçirildikten sonra xylol I ve xylol II (her birinde yarım saat) serisinden de geçirilerek 45 °C'lik etüvde önce xylol-parafin karışımında, sonra üç ayrı parafin serisinde de birer saat bekletilerek parafin bloklar hazırlandı. Bu bloklardan mikrotomda 5 µm kalınlığında polysine kaplı lamlara kesitler alındı. Alınan kesitler hematoksilen-eozin, P.A.S., üçlü boyama (Crossman) ve mikrodalga ışınlı “antijen retrieval” protokolü uygulanarak immunohistokimyasal yöntemlerle boyandı.

4.1. İmmunohistokimya

Doku kesitlerine, immunohistokimyasal boyama öncesi antijen maskelenmesi problemini gidermek için mikrodalga ışınlı “antijen retrieval” yöntemi uygulandı. Shi ve arkadaşları (60) tarafından geliştirilen bu yöntem formalinle tespit edilip parafine gömülmüş doku kesitlerinin, immun boyama öncesi tuz solüsyonları içinde mikrodalga ışınlı ile ısıtılması esasına dayanır. Shi ve arkadaşları (60) geliştirdikleri bu yöntemle formaldehit ile tespit edilip parafine gömülen doku kesitlerinde immunoreaktivitenin arttığını bildirmişlerdir. Bu yöntemin immunoreaktiviteyi artırıcı etkisinin nedeni kesin olarak saptanamamakla birlikte mikrodalga ile ısıtmanın proteinlerle formalin arasında şekillenen çapraz bağlarda değişikliklere yol açarak etkisini oluşturmuş olabileceğini belirtilmiştir (60).

Shi ve arkadaşları (60) tarafından önerilen “antijen retrieval” protokolünde bazı değişiklikler yapılarak şu şekilde uygulanmıştır;

Parafini gidermek için; polysine kaplı lamlara alınmış olan doku kesitleri ilk olarak 15 dakika süreyle 90 °C'lik etüvde bırakıldı. Ardından dört ayrı xylol

serisinden ve %95, 90, 85, 80, 70'lik alkol serilerinden de geçirilerek (her birinde beş dakika) işlem tamamlandı.

Parafini giderilmiş kesitler beş dakika süreyle distile suda bekletildi. Daha sonra endojen peroksidazın giderilmesi için on dakika %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) (metanolle hazırlanmış) de bekletilen doku kesitleri bunun ardından distile suda (5 dakika) yıkandı. Kesitler yıkama işleminden sonra içerisinde 0,01 M sitrat tamponu (pH 6,0) (30) bulunan plastik koplın jara aktarıldı. Koplın jar mikrodalga fırının dönen platformunun orta noktasına yerleştirilerek 600 W'da beşer dakika süreyle ardı ardına dört kez ısıtıldı. Her beş dakikada bir koplın jardaki tampon miktarı kontrol edilerek azalan kısım distile suyla tamamlandı. Daha sonra mikrodalga fırından çıkarılan kesitler oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakıldı. Soğuyan doku kesitlerinin 5 dakika süreyle PBS (phosphate buffer saline) de yıkanması ile antijen retrieval işlemi sona erdi.

İmmunohistokimyasal boyama avidin-biotin (ABC) tekniği kullanılarak gerçekleştirildi. Antijen retrieval protokolü sonrası PBS'de yıkanan kesitlerin etrafı, PAP (peroksidaz anti peroksidaz) kompleks kalemle sirküler olarak çizildi. Ardından doku kesitleri; kurumalarına izin verilmeksizin spesifik olmayan antikor bağlanmalarını önlemek amacıyla % 10'luk normal keçi serumu ile oda ısısında (10 dakika) inkube edildi.

Yapılan bu işlemlerin ardından AR'yi saptamak için primer antikor olarak PG-21 [Rabbit Anti-Rat/Human Androgen Receptor Polyclonal Antiserum (Millipore Corporation)] (13) kullanıldı. Negatif kontrol olarak kullanılan doku kesitlerine PG-21 yerine non spesifik sığır serumu uygulandı (Şekil 34). Kesitler primer antiserum ile 16–20 saat 4 °C de inkube edildi. Antiserum, içerisinde % 2.5

bovine serum albumin ve % 0.25 sodyum azid içeren PBS'de 1:50 oranında sulandırıldı. Daha sonra biotinleştirilmiş sekonder antiserum [goat anti-rabbit IgG (Zymed 50-235Z)] ile (30 dakika) ve bunu takiben streptavidin horseradish peroksidaz (HRPO conjugate, SA 1007, CALTAG) ile (30 dakika) 37 °C nemli ortamda inkube edildi. Kesitler her inkübasyon öncesi 10 dakika süre ile PBS solüsyonu ile yıkandı. Daha sonra kesitler AEC (3-amino-9-ethylcarbozole) kromojen substratına daldırılıp (10 dakika) su ile yıkayıp, hematoksilen ile boyandı (3 dakika) ve mounting medium ile kapatıldı.

İmmunohistokimyasal ve diğer yöntemlerle boyanan kesitler Olympus BX-51 fotomikroskop ile incelendi ve fotoğrafları çekildi.

Seminifer tubul çapları ve germinal epitel kalınlığı ligatür ve kontrol gruplarının her birinden rastgele seçilen bir preparatta farklı alanlardaki toplam 40 tubulün oküler mikrometre ile X 400 büyütmede incelenmesiyle ölçüldü.

Ortalama seminifer tubul çapında ve seminifer epitel katman kalınlığında azalma, germ hücrelerinin sayısında azalma ve çeşitli derecelerde germ hücre yokluğu, çok çekirdekli dev hücrelerin görülmesi, spermatid çekirdeklerinde kromatin yoğunlaşması, bazal membran kalınlaşması gibi histopatolojik değişikliklerin gözlendiği tubuluslar dejenere tubulus olarak değerlendirildi.

İmmunohistokimyasal olarak boyanan preparatlar iki farklı araştırmacı tarafından incelendi. Çekirdeklerinde boyanma görülen hücreler AR pozitif olarak değerlendirildi. İmmunboyanma yoğunluğu negatif (-), pozitif (+), yoğun pozitif (++), çok yoğun pozitif (+++) ve değişken (+/-, ++/-, +++/-) olarak derecelendirildi.

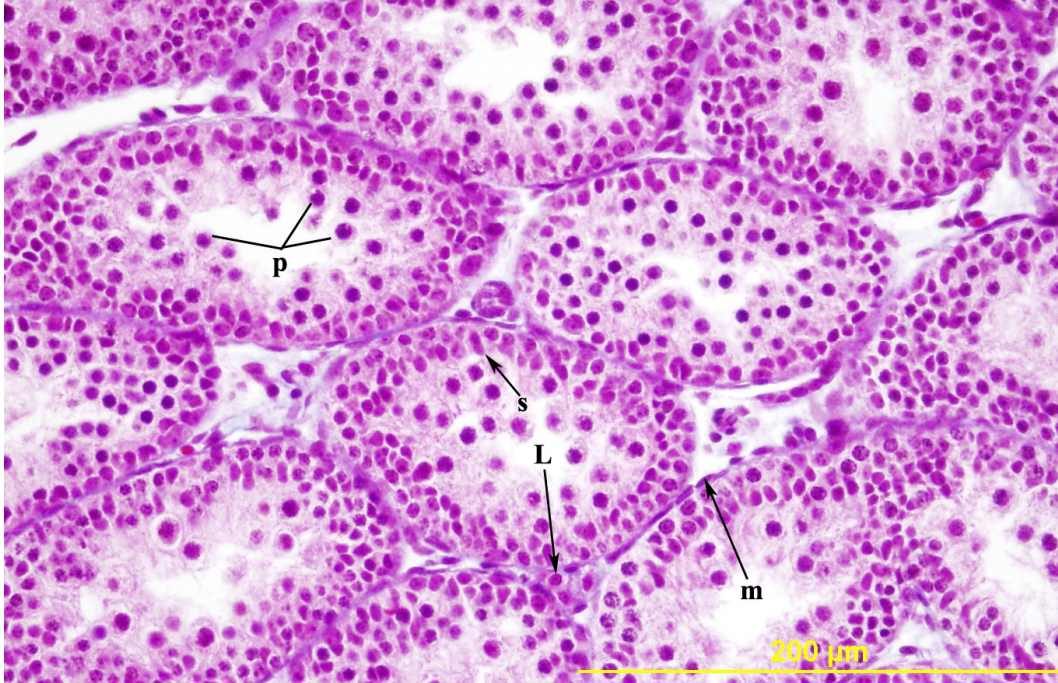
Histolojik terimlerin yazımında, Nomina Embryologica Veterinaria (42) ve Nomina Histologica'dan (43) yararlanıldı.

5. BULGULAR

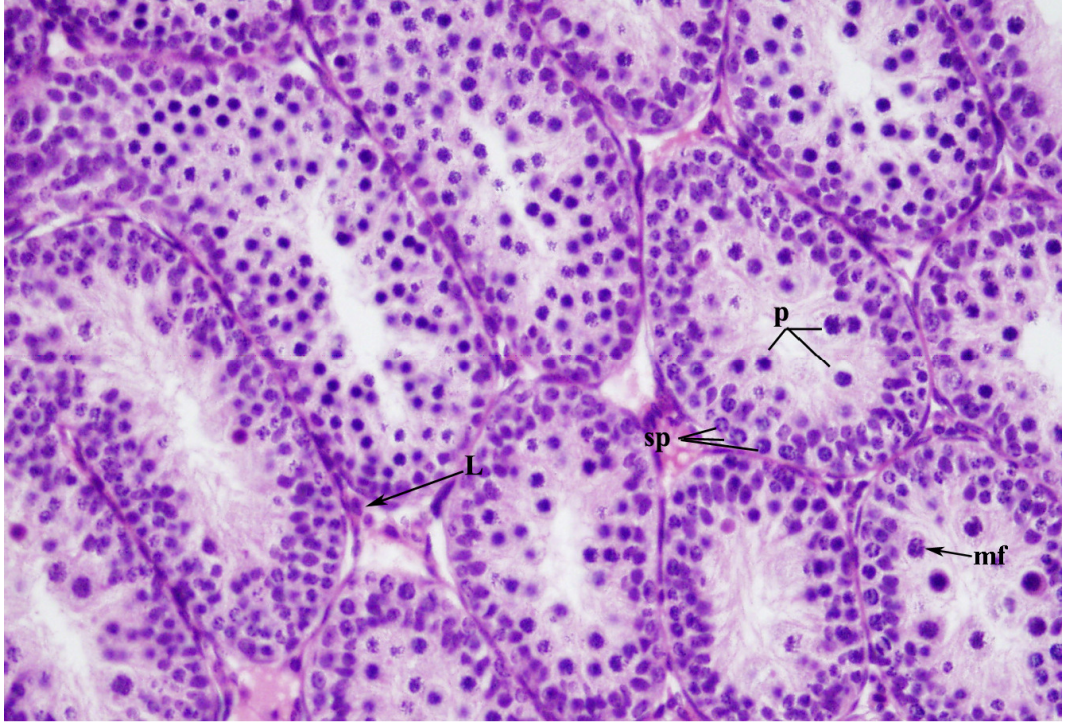
5.1. Epididimal Obstrüksiyonun Seminifer Tubul Gelişimine Etkisi;

5.1.1. 21. Gün

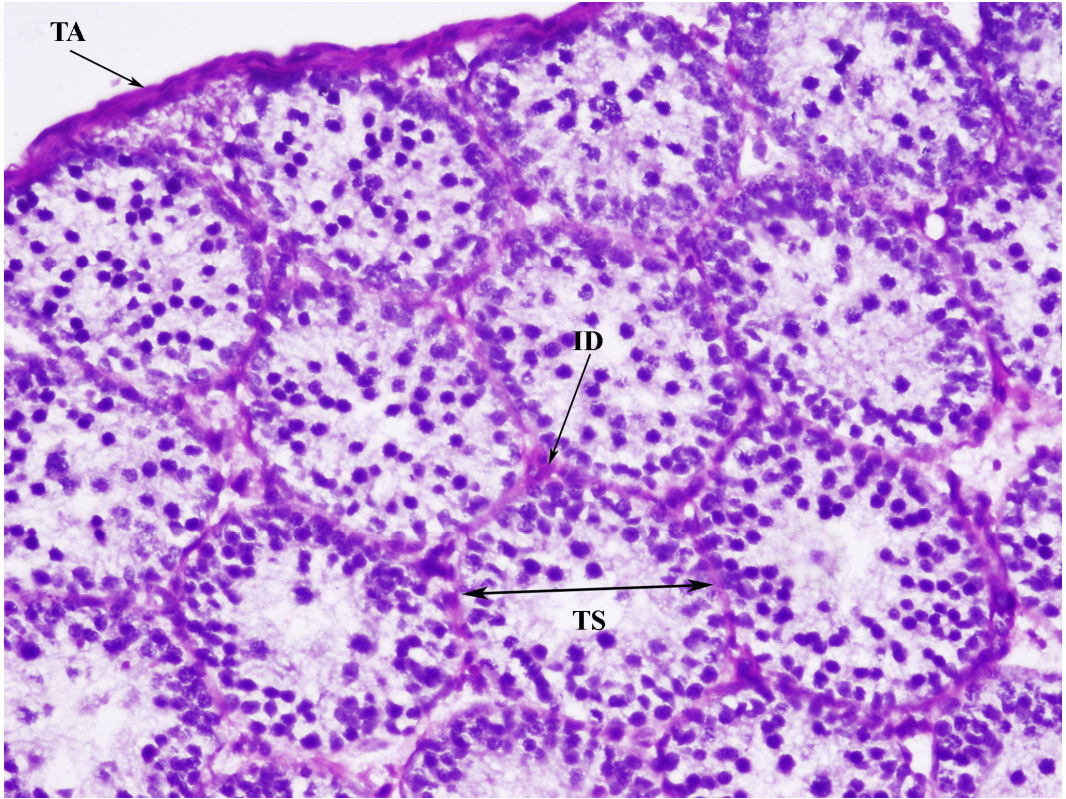
Ligatür grubu ile kontrol grubu sıçanların testisleri arasında herhangi bir fark gözlenmedi. Her iki grupta da seminifer tubul (tubulus seminifer convolutus) çapları 105–125 μm , seminifer epitel (epithelium spermatogenicum) kalınlığı ise 35–45 μm arasında değişmekteydi. Seminifer tubulde henüz olgunlaşmamış çok sayıda Sertoli hücresi (epitheliocytus sustentans) mevcuttu. Sertoli hücre çekirdekleri oval şekilli idi. Seminifer epitelde Sertoli hücrelerinin yanında daha az sayıda, yuvarlak çekirdekli spermatogonium ve primer spermatositler (spermatocytus primarius) gibi spermatogenik hücrelere rastlandı. Ayrıca germinal epitelde mitotik figürler de gözlemlendi (Şekil 5, 6, 7).



Şekil 5. 21. Gün kontrol grubu testis. **m**-peritubuler miyoid hücresi, **p**-primer spermatosit, **s**-Sertoli hücresi, **L**-Leydig hücresi. Üçlü boyama X 400.



Şekil 6. 21. Gün ligatür grubu testis. **p**-primer spermatosit, **sp**-spermatogonium, **L**-Leydig hücresi, **mf**-mitotik figür. Hematoksilen eozin X 400.

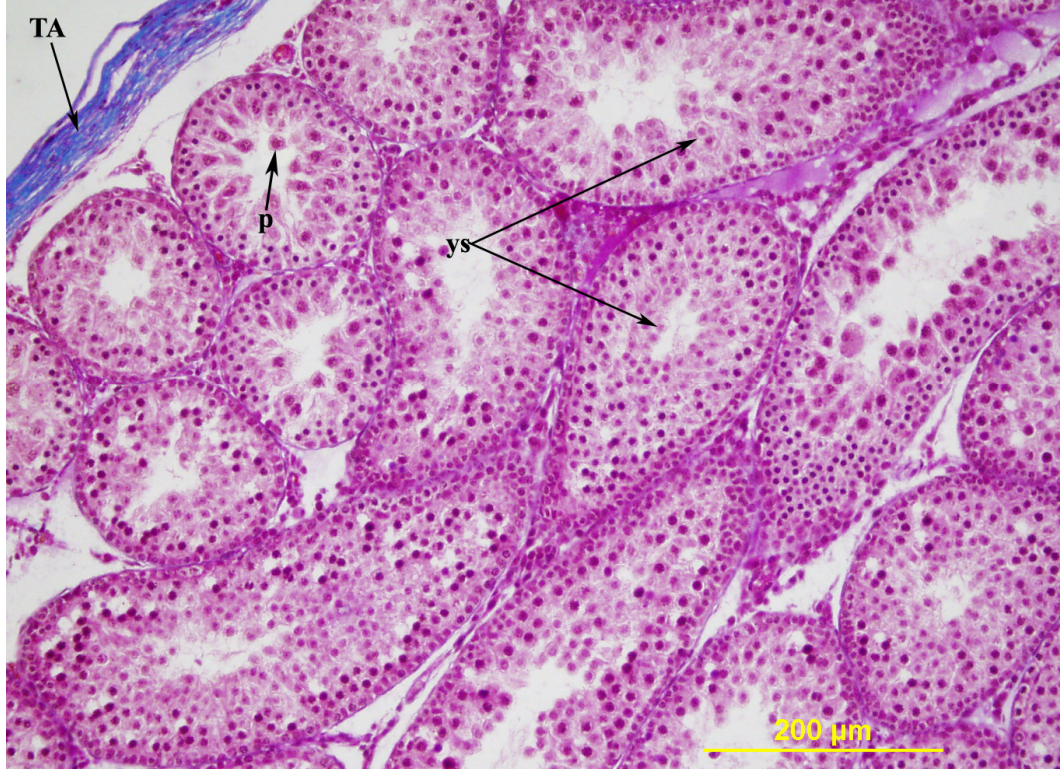


Şekil 7. 21. Gün kontrol grubu testis. **TA**-tunica albugineya, **ID**-intersitisyel doku, **TS**-tubulus seminifer convlutus. P.A.S. X 400

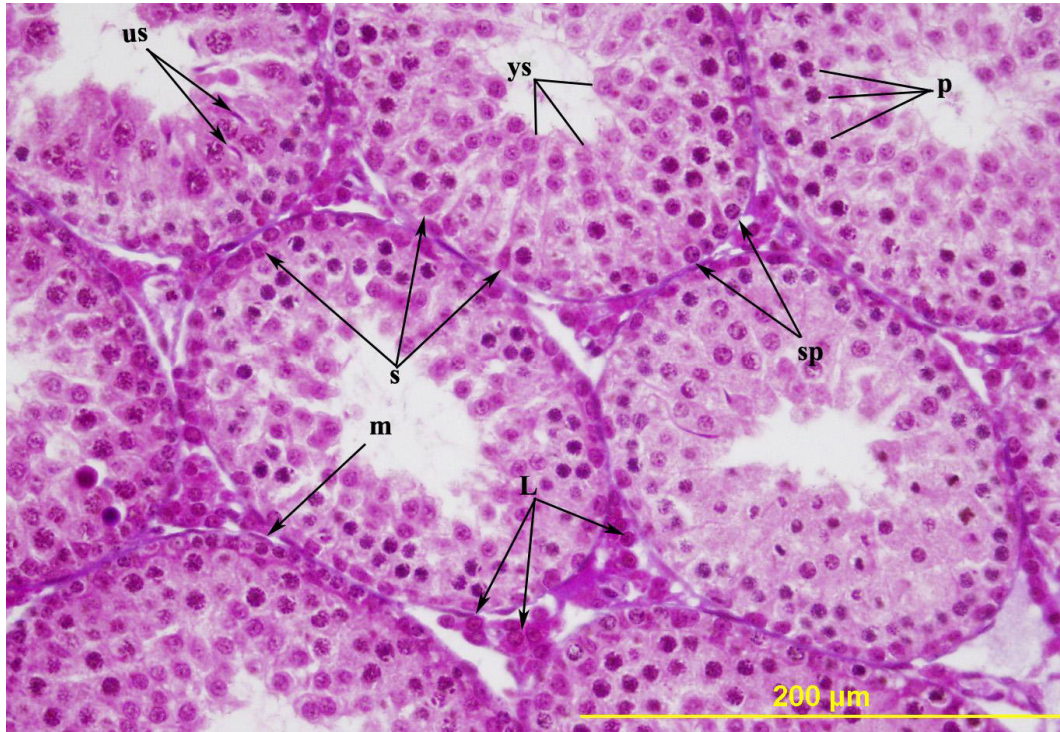
P.A.S. boyaması ile zikzaklı giden meni kanalcıkları (seminifer tubuller) dışındaki bazal membran, intersitisyel doku ve tunika albugineyanın sıkı bağ dokusunun P.A.S. pozitif reaksiyon verdiği gözlemlendi. Seminifer tubullerin çevresinde tek katlı peritubuler miyoid hücre tabakası (stratum miyoideum) belirgindi. Bu tabakada myofibroblastus'lar tubullerin çevresini kuşatmış idi. Stratum miyoideum'un dış kısmında fibröz oluşum halinde stratum fibrosum adı verilen bir katman gözlemlendi. Seminifer tubuller arasında oval şekilli Leydig hücreleri (endocrinocytus interstitialis) mevcuttu (Şekil 5, 6, 7).

5.1.2. 35. Gün

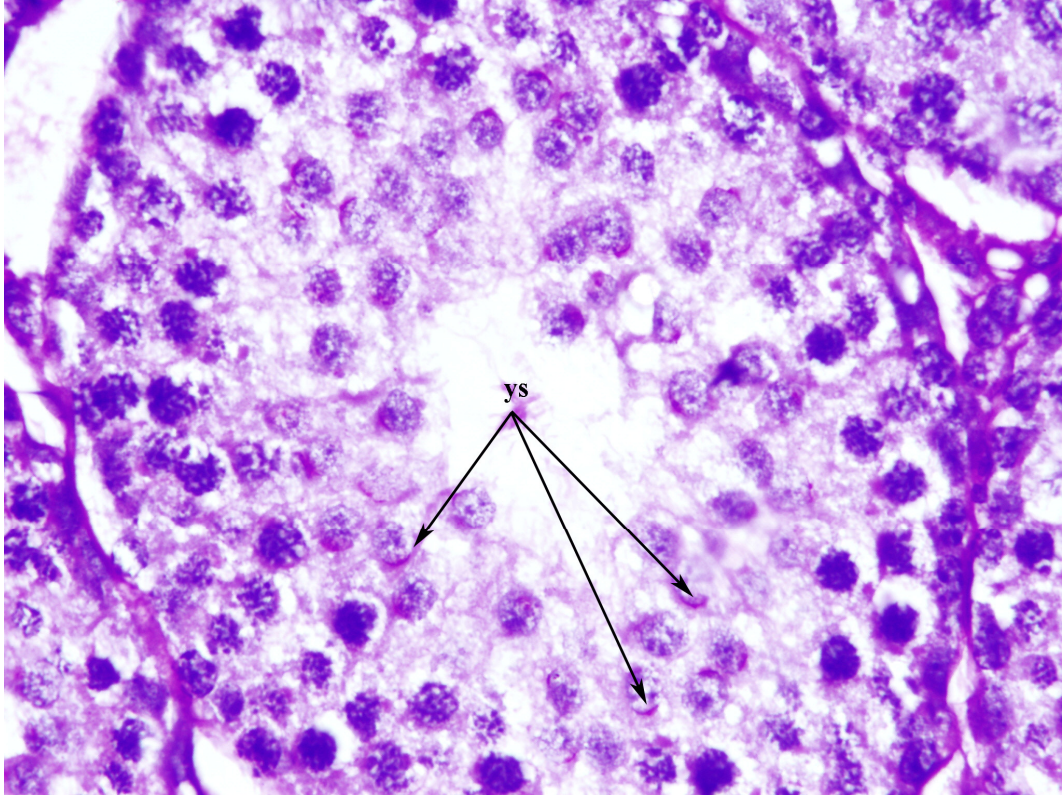
Her iki gruptaki histolojik bulgular benzerdi. Seminifer tubul çapları 180–220 µm, seminifer epitel kalınlığı ise 60–80 µm arasında değişmekteydi. Tubul lumeni önceki gruba göre genişlemişti. Germinal epitel kalınlığı artmıştı. Spermatogoniyumlar yaklaşık 5 µm çapındaydı ve bazal membran üzerine oturmuştu. Primer spermatositler yanında tubul lumenine yakın olarak yerleşmiş çok sayıda yuvarlak spermatid görüldü. Ayrıca seminifer tubullerin bazılarında uzamış spermatidlere de rastlanıldı. İntersitisyel dokuda Leydig hücre sayısında az bir artış gözlemlendi. P.A.S. boyaması ile spermatidlerin gelişmekte olan akrozomundaki glikoproteinler pozitif reaksiyon verdi (kep fazında reaksiyon daha belirgindi) (Şekil 8, 9, 10).



Şekil 8. 35. Gün kontrol grubu testis. TA-tunika albugineya, p-primer spermatosit, ys-yuvarlak Spermatid. Üçlü boyama X 200



Şekil 9. 35. Gün ligatür grubu testis. m-peritubuler miyoid hücresi, p-primer spermatosit, s-Sertoli hücresi, us-uzamış spermatid, ys-yuvarlak spermatid, sp-spermatogonium, L-Leydig hücresi. Üçlü boyama X 400



Şekil 10. 35. Gün ligatür grubu testis. **ys**-yuvarlak spermatid (P.A.S. pozitif). **P.A.S.** X 1000

5.1.3. 56. Gün

Ligatür grubuyla kontrol grubu arasında fark ilk kez bu dönemde gözlemlendi. Morfolojik olarak ligatür grubu sıçanların testisleri, kontrol grubuna göre daha büyük ve sertti. Kontrol grubundaki sıçanların seminifer tubul gelişimi normaldi. Seminifer tubul çapları 250–300 μm , seminifer epitel kalınlığı ise 75–100 μm arasında değişmekteydi. Germinal epitelde Sertoli hücreleri, spermatogoniyum, spermatositler, çok sayıda yuvarlak ve uzamış spermatidlerle tubul lumeninde spermiyumlar mevcuttu (Şekil 11). P.A.S. boyaması ile bazal membran, yuvarlak ve uzamış spermatidler ile spermiyumlar pozitif reaksiyon verdi (Şekil 14).

Ligatür grubundaki sıçanların dört tanesinde; seminifer tubul çapları kontrol grubuna göre hafifçe artmış olup yaklaşık 260–330 μm arasındaydı. Seminifer epitel (epithelium spermatogenicum) kalınlığı ise kontrol grubuna

nazaran azalmış olup, yaklaşık 60–90 µm arasında değişim göstermekteydi. Seminifer tubullerin lumeni ligatür grubunda kontrol grubuna göre daha geniştir. Bu gruptaki sıçanların dört tanesinde germinal epitel kalınlığı ve uzamış spermatid sayısındaki azalmaya rağmen spermatogenik hücrelerin (cellulae spermatogenicae) tümü mevcuttu.

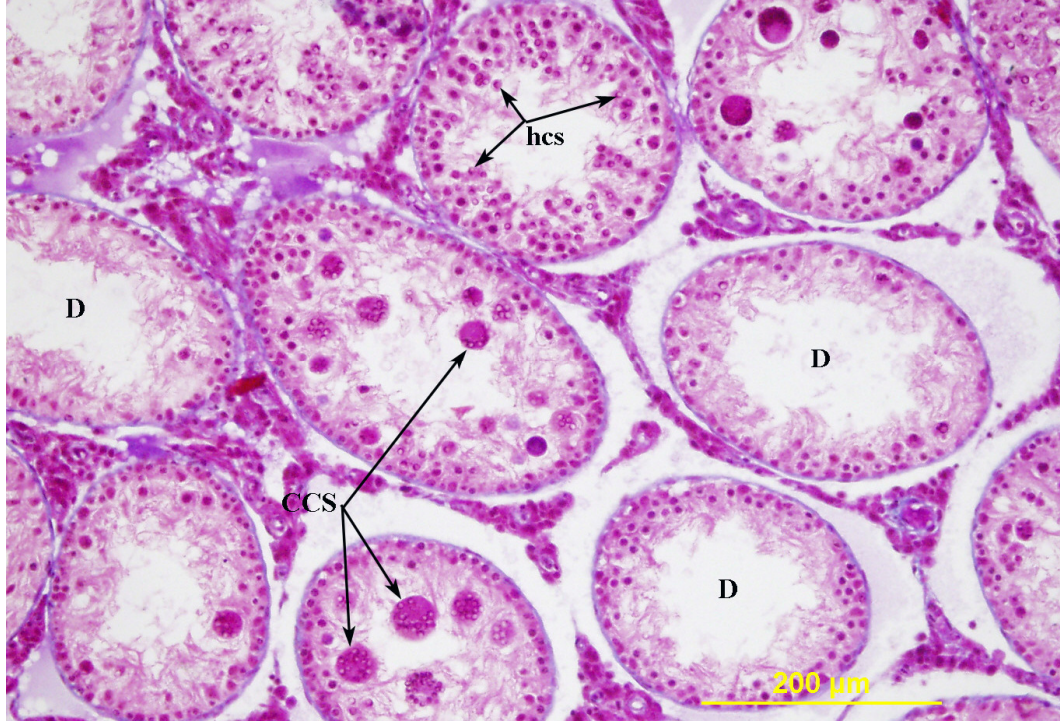
Ligatür grubu sıçanlardan bir tanesinin testislerinde; seminifer tubullerin bazılarında, germinal epitel kalınlığında hafif derecede bir azalma varken bazılarında ileri derecede azalma mevcuttu. Seminifer epitel (epithelium spermatogenicum) kalınlığı 25–60 µm arasında değişmekteydi. Germinal epitel kalınlığında ileri derecede azalmanın görüldüğü seminifer tubullerde, tubulun bazal kompartmanına yakın konumda çekirdekleri koyu boyanan yuvarlak germ hücreleri gözlemlenirken, adluminal kompartman sadece Sertoli hücrelerinin (epitheliocytus sustentans) sitoplazmik uzantılarından oluşmaktaydı. Tubullerin bir kısmında yuvarlak spermatidlerin çekirdeklerinde; kromatin'in çekirdeğin bir kenarına yoğunlaşarak biriktiği gözlemlendi. Bu şekildeki yuvarlak spermatid çekirdeklerinin mikroskopik görünüşü hilali ya da yüzüğü andırıyordu. Bu görünüme sahip spermatidler ayrıca seminifer epitel kalınlığı ve uzamış spermatid sayısı azalmış olan testislerde de gözlemlendi. Seminifer tubullerin bazılarında; germinal epitelde, lumene yakın konumda yerleşim gösteren çok çekirdekli dev hücreler mevcuttu. Bu hücreler morfolojik olarak yuvarlak spermatidlere benzemekle beraber spermatidlere göre oldukça büyüklerdi ve çok çekirdekli bir yapıya sahiptiler. Çekirdeklerinin şekli yukarıda bahsedildiği gibi yüzük ya da çomak şeklindeydi. Üçlü boyamada tunika albuginea ve seminifer tubul çevresindeki kollagen iplikler belirgindi. Patolojik değişikliklerin gözlemlendiği

testislerde, seminifer tubullerin çevresindeki boyanma daha fazlaydı. Bu durum seminifer tubul duvarında kollagen ipliklerde bir birikim olduğunun ve dolayısıyla seminifer tubul duvarının kalınlığının arttığına göstergesiydi. Her iki grupta da seminifer tubullerin bazal membranları dışında tek katlı peritubuler miyoid hücre tabakası (stratum miyoideum), belirgin olarak gözlemlendi (Şekil 12, 13).

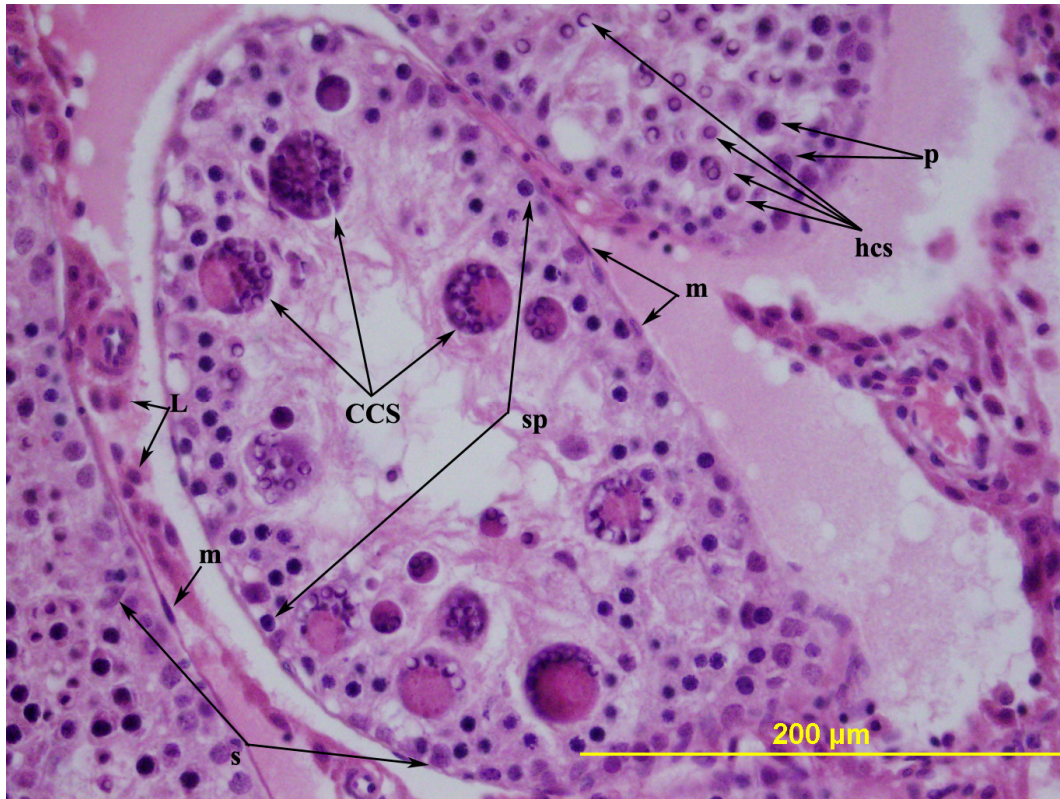
Ligatür ve kontrol grubunda intertubuler alandaki gevşek bağdokuda P.A.S. boyaması ile sitoplazması pozitif reaksiyon veren Leydig hücrelerine (endocrinocytus interstitialis) rastlanıldı. Sitoplazmaları koyu olarak boyanan Leydig hücrelerinin çekirdekleri oval ya da yuvarlak olup küçük bir çekirdekçik içeriyordu (Şekil 14).



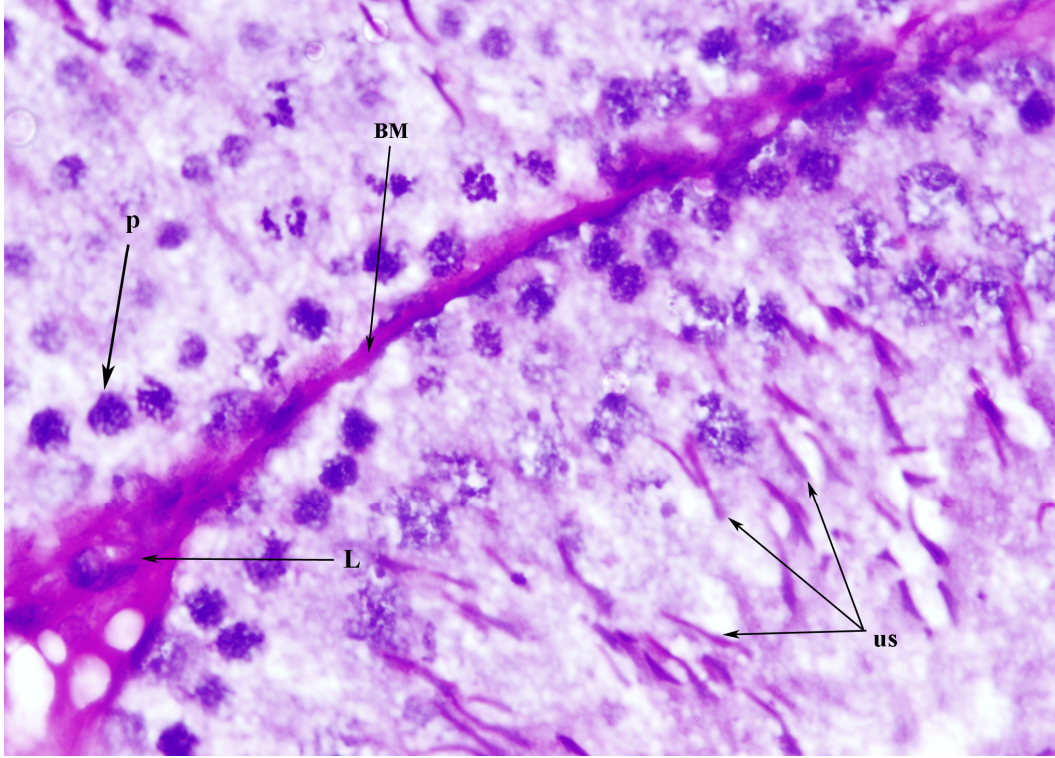
Resim 11: 56. Gün kontrol grubu testis. **m**-peritubuler miyoid hücresi, **sp**-spermatogonium, **p**-primer spermatozoid, **s**-Sertoli hücresi, **ys**-yuvarlak spermatid, **us**-uzamış spermatid, **sm**-spermiyum, **L**-Leydig hücresi, **KD**-kan damarı. Üçlü boyama X 400



Şekil 12. 56. Gün ligatür grubu testis. **D**-dejenere tubuller, **CCS**-çok çekirdekli spermatid (çok çekirdekli dev hücre), **hcs**-hilal çekirdekli spermatid. Üçlü boyama X 200



Şekil 13. 56. Gün ligatür grubu testis. **m**-peritubuler miyoid hücresi, **sp**-spermatogonium, **p**-primer spermatosit, **s**-Sertoli hücresi, **L**-Leydig hücresi, **hcs**-hilal çekirdekli spermatid, **CCS**-çok çekirdekli spermatid. Hematoksilen eozin X 400



Şekil 14. 56. Gün kontrol grubu testis. **p**-primer spermatosit, **us**-uzamış spermatid (P.A.S. pozitif), **L**-Leydig hücresi, **BM**-bazal membran. **P.A.S.** X 1000

5.1.4. 90. ve 120. Günler

90 ve 120 günlük kontrol grubu sıçanların seminifer tubul çapları sırasıyla 270–330 ve 270–360 μm , seminifer epitel kalınlıkları ise 80–110 ve 80–120 μm arasında değişmekteydi. Bu gruplardaki sıçanların seminifer tubul ve intersitisyel doku gelişimleri normaldi. Germinal epitelde; Sertoli hücreleri ve spermatogenik seriye ait bütün hücreler normal yapı ve görünümdeydi (Şekil 15, 16, 20).

Morfolojik olarak 90 ve 120 günlük ligatür grubu sıçanların testisleri kontrol grubuna göre daha küçük ve yumuşaktı.

90 günlük ligatür grubu sıçanların seminifer tubul çapları 170–220 μm , seminifer epitel kalınlığı ise 25–40 μm arasında değişmekteydi. Bu gruptaki sıçanların üçünde; seminifer tubullerin hemen hemen tamamında ileri derecede dejenerasyonlar şekillenmişken dejenere tubuller arasında birkaç tane normal çap

ve yapıya sahip seminifer tubul de mevcuttu. Normal görünümlü bu tubuller dikkatli olarak incelendiğinde germinal epitelde; spermiyumların sayısının azaldığı dikkati çekiyordu. Üç sıçandan birinde seminifer tubullerden bir kaçında; seminifer epitelde lumene yakın konumda yerleşim gösteren çok çekirdekli dev hücreler mevcuttu. Aynı testiste, çok çekirdekli spermatidlerin gözlendiği tubullerde dahil, birkaç tubulde daha çekirdeklerinin mikroskopik görünimleri hilal yada yüzüğü andıran spermatidler de mevcuttu. Bu gruptaki diğer iki sıçan testisinde ise seminifer tubullerin tamamı dejenereydi (Şekil 17, 18, 19).

120 günlük ligatür grubu sıçanların seminifer tubul çapları 180–240 μm , seminifer epitel kalınlığı ise 25–40 μm arasında değişmekteydi. Bu gruptaki sıçanların 4 tanesinde seminifer tubullerin tamamı ileri derecede dejenerasyon gösterirken bir tanesinde; dejenere tubuller arasında normal çap ve yapıya sahip seminifer tubullerde mevcuttu (Şekil 21, 22).

90 ve 120 günlük ligatür grubu sıçanların seminifer tubullerindeki dejeneratif değişiklikler benzerdi. Dejenere tubullerin çapları kontrol grubundakilere oranla belirgin şekilde azalmıştı. Aynı şekilde germinal epitel kalınlığı belirgin olarak azalmış tubul lumeni genişlemişti. Tubullerin bir kısmında Sertoli hücreleriyle beraber spermatogoniyum, primer spermatosit ve nadir olarak spermatid gibi spermatogenik hücreler mevcutken çoğunda seminifer epitel ileri derecede dejenere olmuştu ve sadece Sertoli hücrelerinden oluşuyordu (Şekil 18, 19, 21, 22).

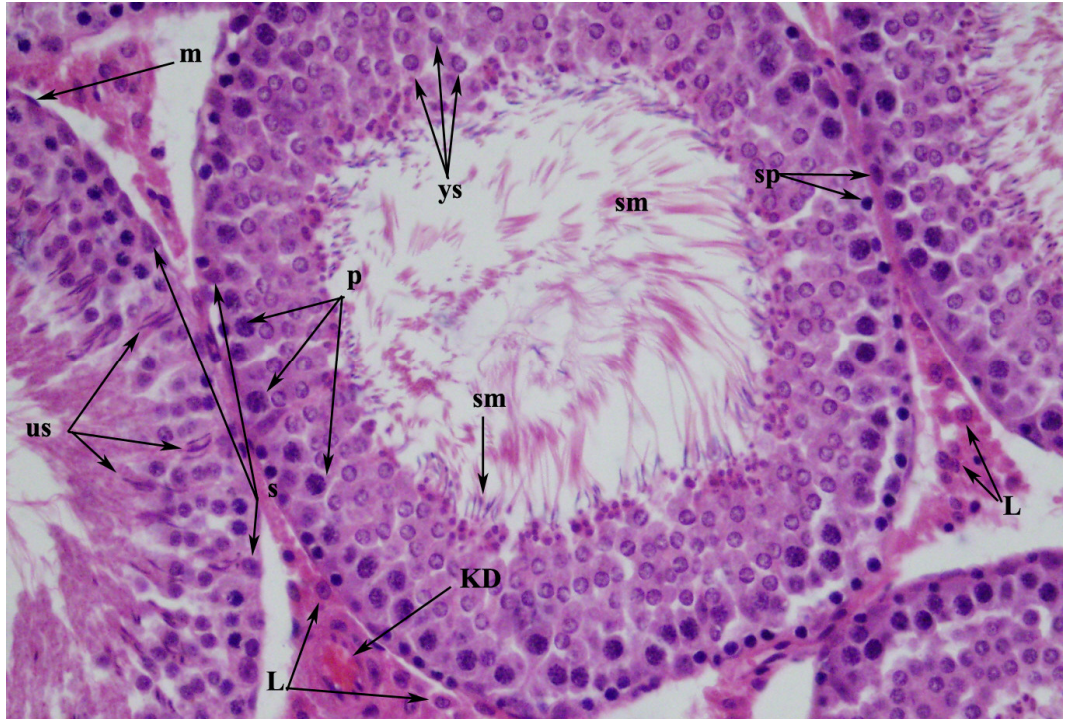
90 ve 120 günlük ligatür grubu sıçanların intersitisyel dokusunda patolojik bir duruma rastlanmadı. Leydig hücrelerinin sayısı ve morfolojisi kontrol grubundakilerle benzerdi.

P.A.S. ve üçlü boyama ile dejenere tubullerin bazal membranlarının daha kalın ve belirgin olarak boyandığı gözlemlendi (Şekil 18, 19, 21).

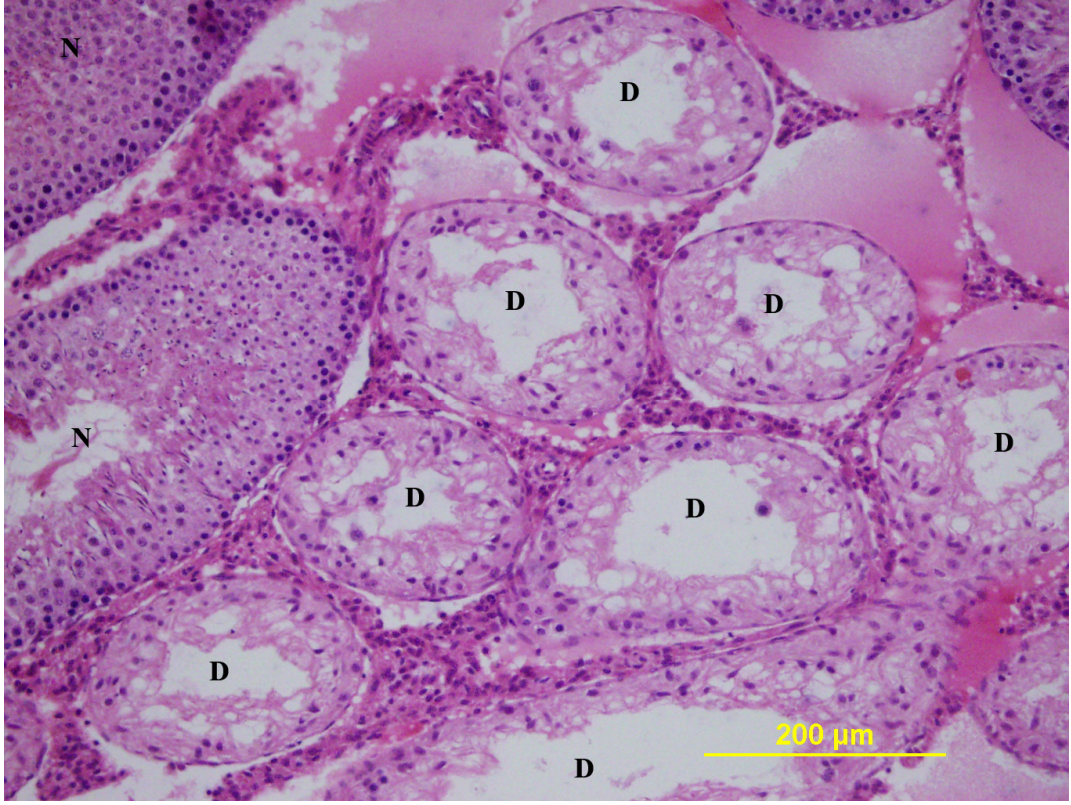
Ligatür ve kontrol grubu sıçan testislerine ait; ortalama seminifer tubul çapları, ortalama seminifer epitel kalınlıkları ve dejeneratif değişikliklerle ilgili bulgular tablo 1 de özetlenmiştir.



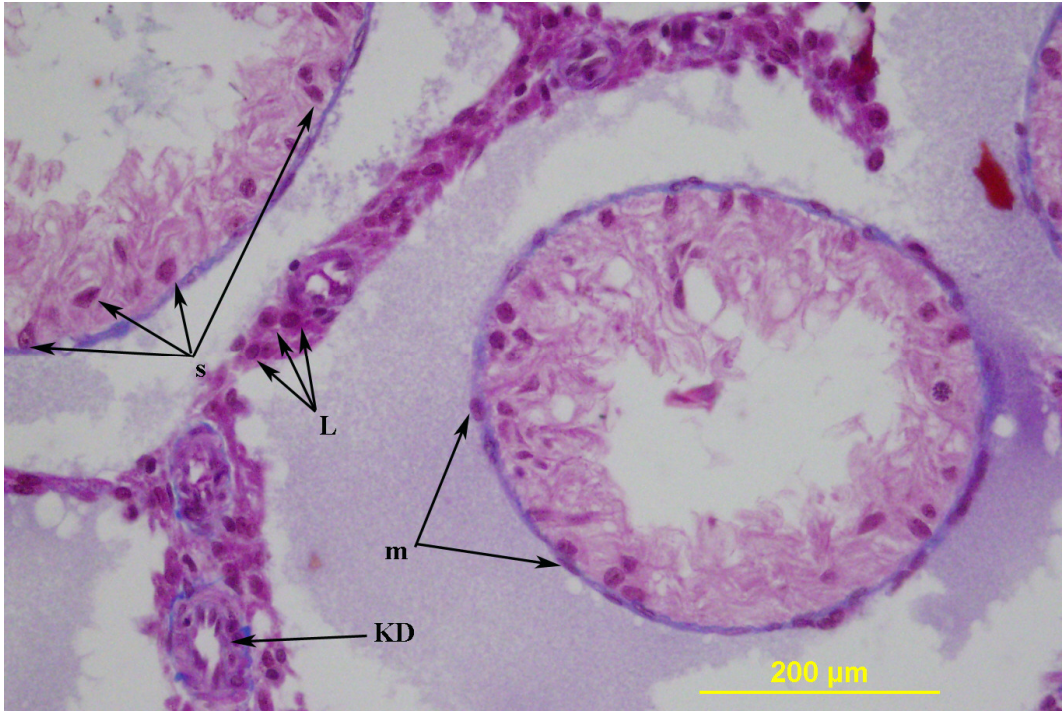
Şekil 15. 90. Gün kontrol grubu testis. **ys**-spermatid, **sm**-spermiyum, **TA**-tunika albugineya. Üçlü boyama X 200



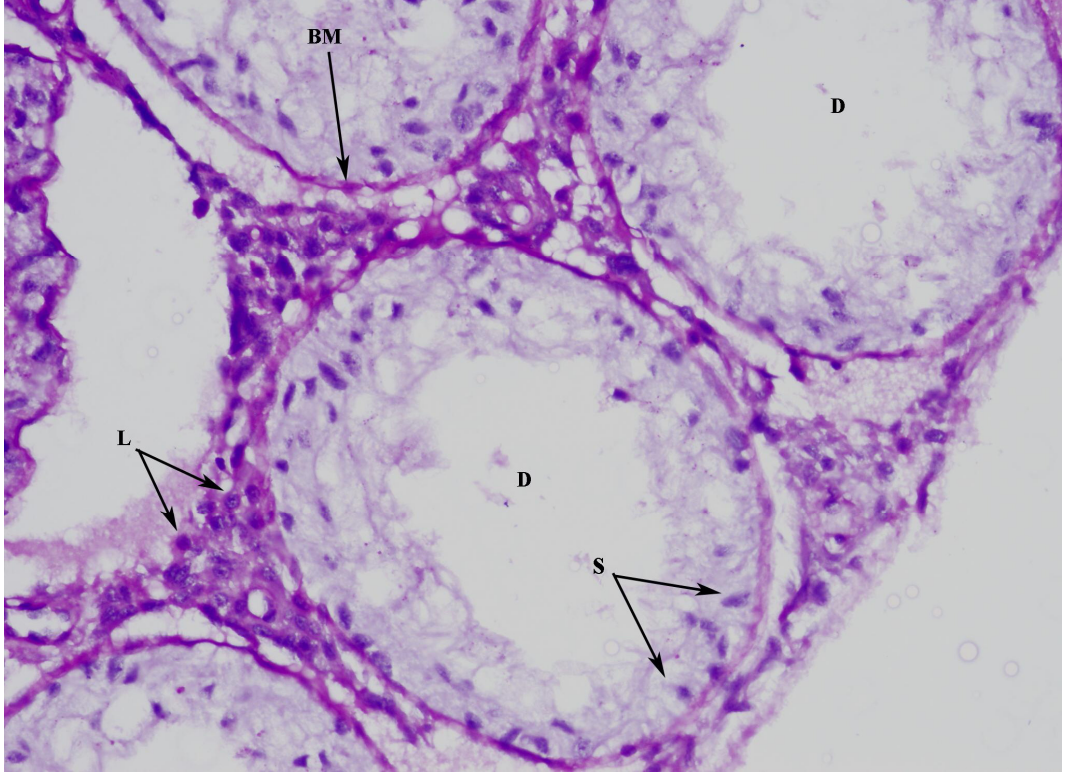
Şekil 16. 120. Gün kontrol grubu testis. **m**-peritubuler miyoid hücre, **sp**-spermatogonium, **p**-primer spermatosit, **ys**-yuvarlak spermatid, **us**-uzamış spermatid, **sm**-spermiyum **s**-Sertoli hücresi, **L**-Leydig hücresi, **KD**-kan damarı. Hematoksilen eozin X 400



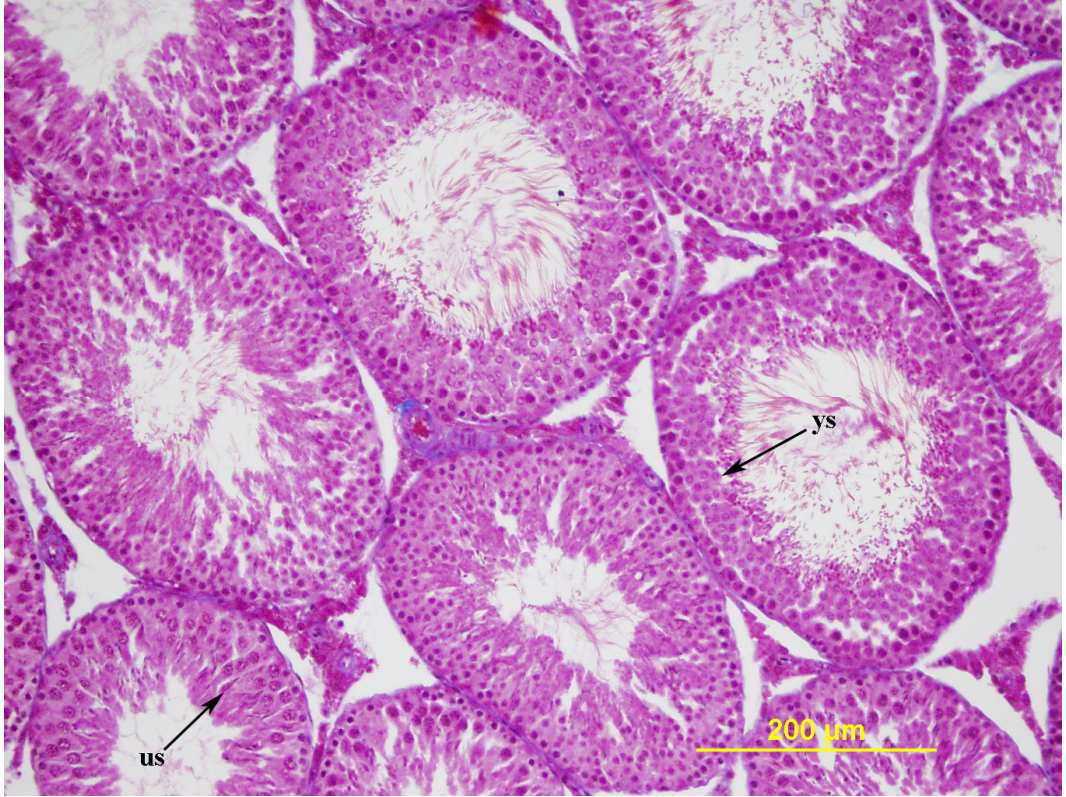
Şekil 17. 90. Gün ligatür grubu testis. **D**-dejenere tubuller, **N**-normal tubuller. Hematoksilen eozin X 200



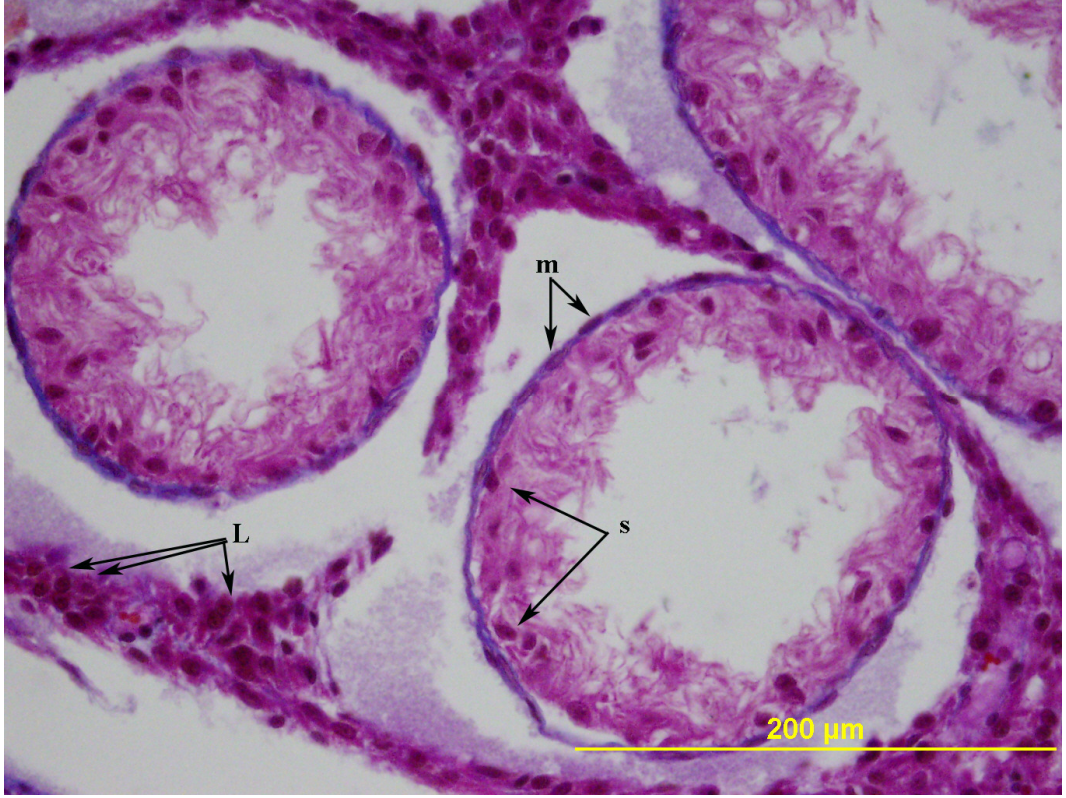
Şekil 18. 90. Gün ligatür grubu testis. **m**-peritubuler miyoid hücresi, **s**-Sertoli hücresi, **L**-Leydig hücresi, **KD**-kan damarı, Üçlü boyama X 400



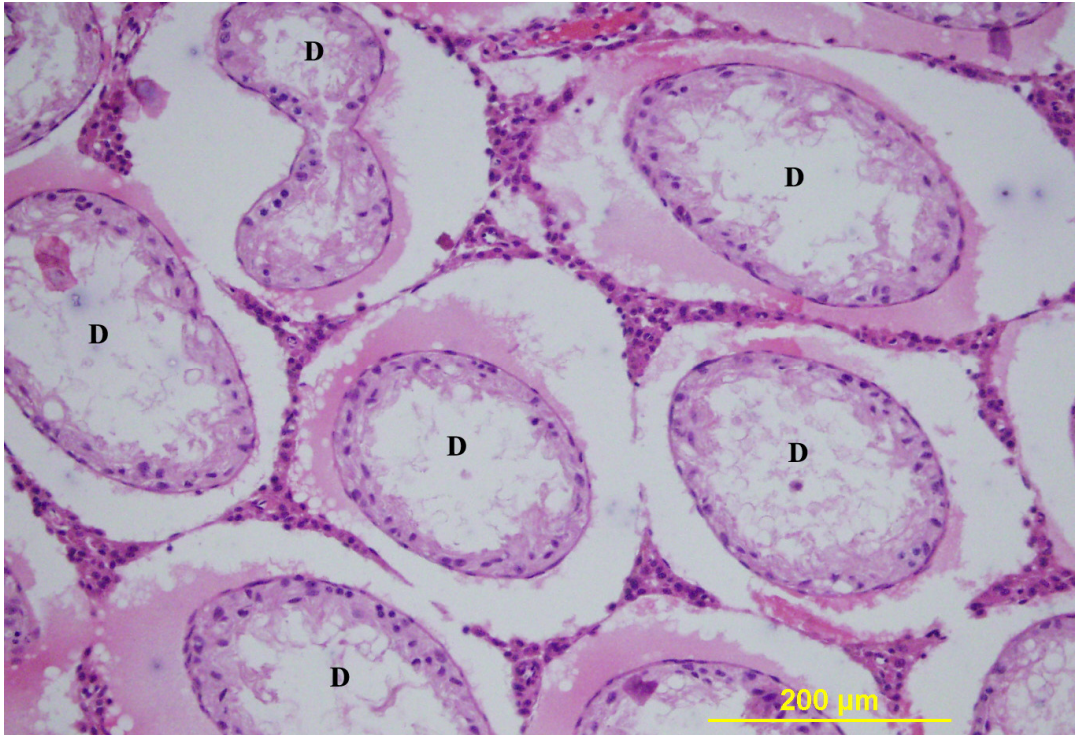
Şekil 19. 90. Gün ligatür grubu testis. **D**-dejenere tubul, **BM**-bazal membran, **s**-Sertoli hücresi, **L**-Leydig hücresi. **P.A.S.** X 400



Resim 20: 120. Gün kontrol grubu testis. **ys**-yuvrak spermatid, **us**-uzamış spermatid. Üçlü boyama X 200



Şekil 21. 120. Gün ligatür grubu testis. **m**-peritubuler miyoid hücresi, **s**-Sertoli hücresi, **L**-Leydig hücresi. Üçlü boyama X 400



Şekil 22. 120. Gün ligatür grubu testis. **D**-dejenere tubuller. Hematoksilen eozin X 200

Tablo 1. Günlere ve gruplara göre sıçan testislerine ait ortalama tubul çapı ve ortalama germinal epitel katman kalınlığına ilişkin veriler ile dejenerasyon gözlenen olgu sayıları

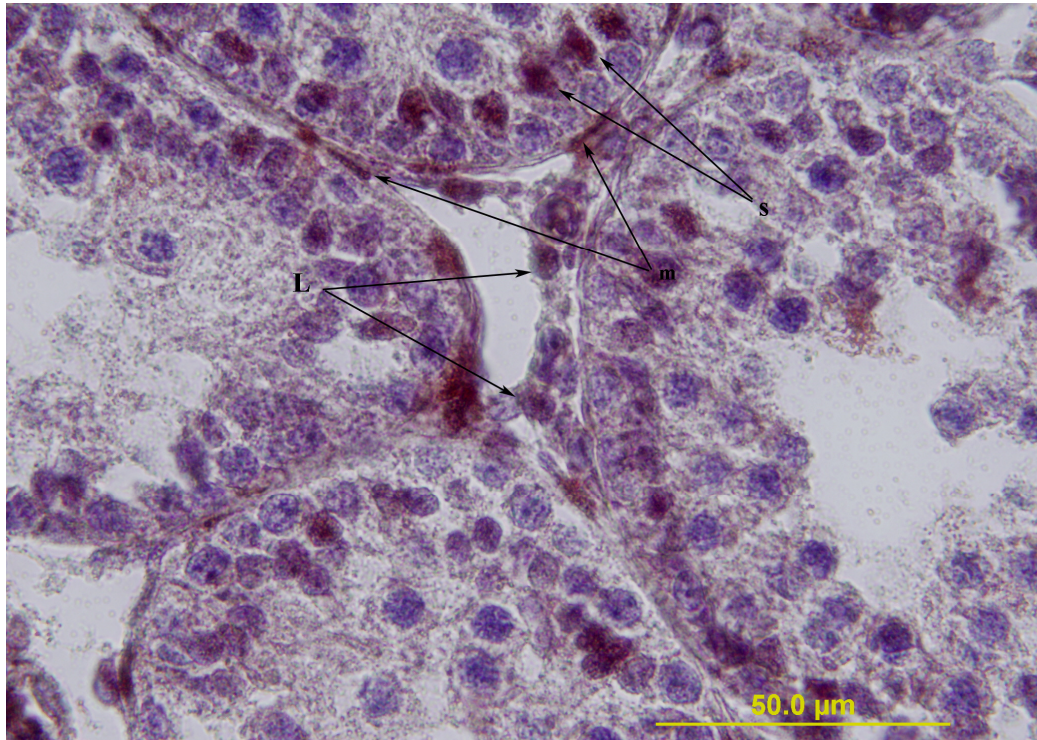
Bulgular	21 Gün		35 Gün		55 Gün		90 Gün		120 Gün	
	Kontrol	Ligatür	Kontrol	Ligatür	Kontrol	Ligatür	Kontrol	Ligatür	Kontrol	Ligatür
Ortalama tubul çapı (µm)	120	118	195	198	273	297	317	211	320	220
Ortalama germinal epitel kalınlığı (µm)	41,5	43	71	71,5	87,5	73	89,5	35,5	93,5	35
Dejenerasyon	-	-	-	-	-	1/5*	-	5/5	-	5/5

*.Beş sıçandan bir tanesinde

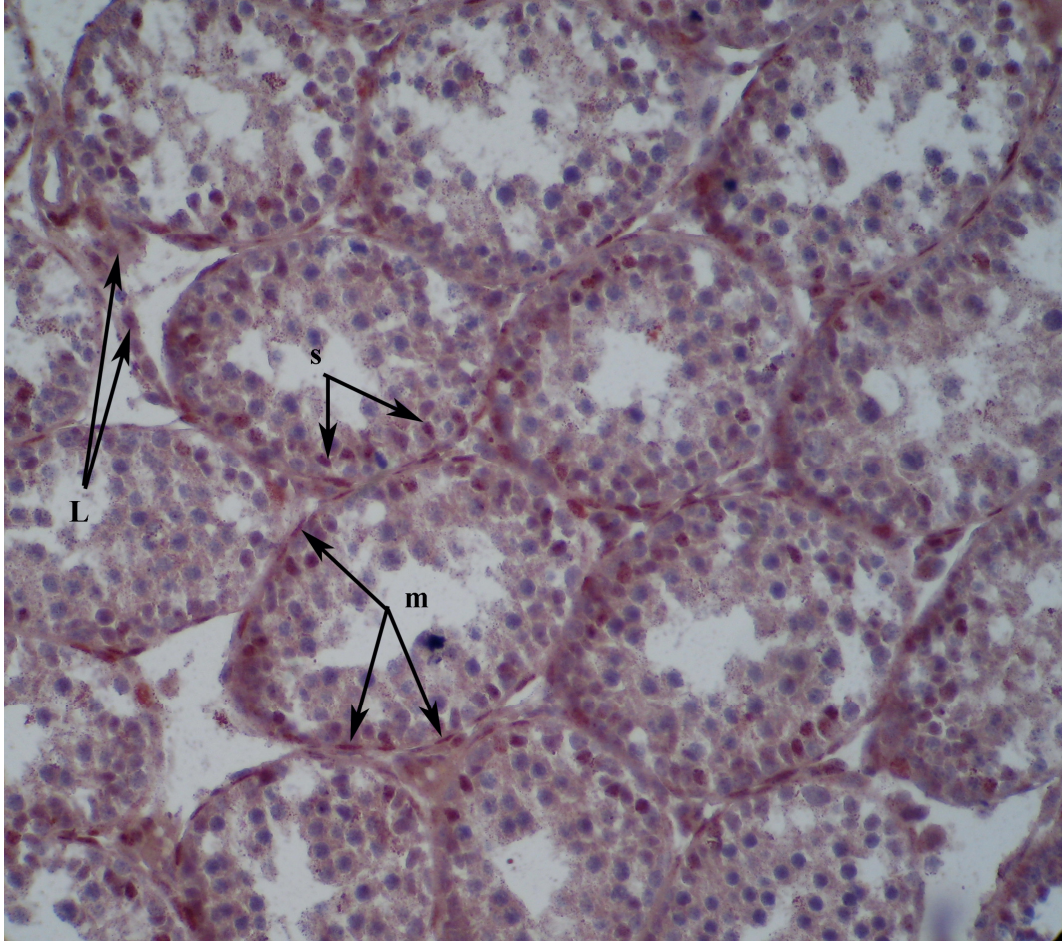
5.2. Testiste, Postnatal AR Dağılımı ve Prepubertal Epididimal Obstrüksiyonun AR Dağılımına Etkisi;

5.2.1. 21. Gün

Ligatür grubu ile kontrol grubu arasında herhangi bir farklılık yoktu. İmmunoreaktivite yalnızca hücre çekirdeklerinde gözlemlendi. Sitoplazmada herhangi bir immunboyanma şekillenmedi. Her iki grupta da peritubuler miyoid hücreler (myofibroblastus), perisitler (kan damarlarındaki düz kas hücreleri), Sertoli (endocrinocytus interstitialis) ve Leydig (epitheliocytus sustentans) hücrelerinin çekirdeklerinde AR immunboyanma görülmesine rağmen spermatogenik hücrelerin çekirdek ve sitoplazmalarında immunboyanma görülmedi. Leydig hücrelerinin bir kısmında immunoreaktivite şekillenirken bazılarında gözlenmedi. İmmunoreaktivite gösteren Leydig hücre çekirdeklerindeki boyanma yoğunluğu hücreden hücreye değişim göstermekteydi (Şekil 23, 24).



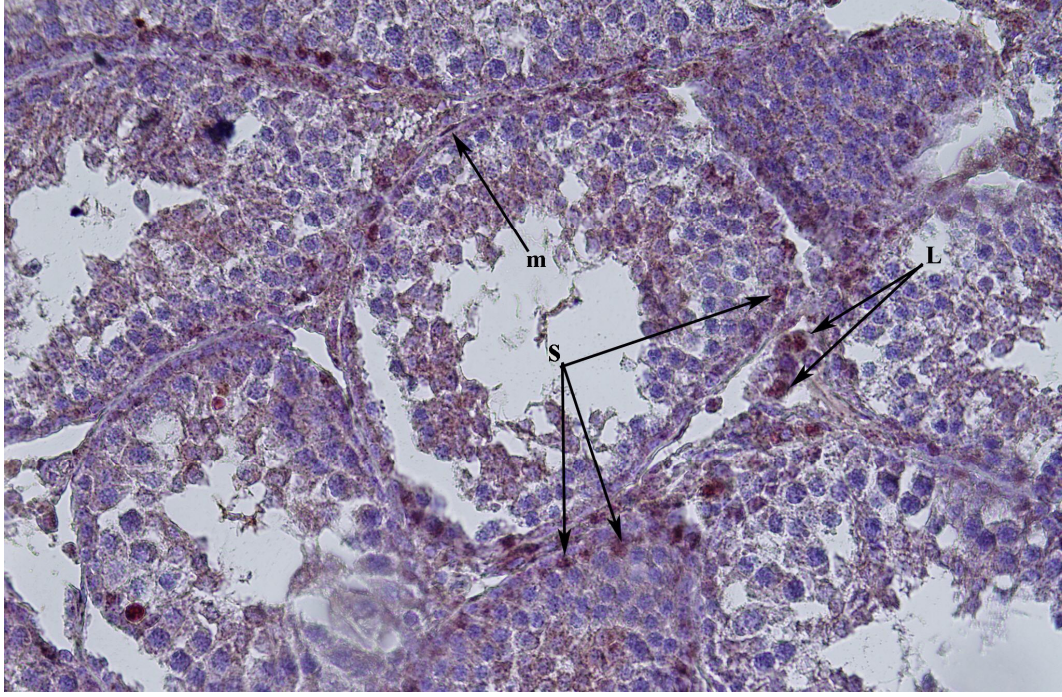
Şekil 23. 21. Gün kontrol grubu testis. **m**-peritubuler miyoid hücresi, **s**-Sertoli hücresi, **L**-Leydig hücresi. İmmunohistokimya X 1000



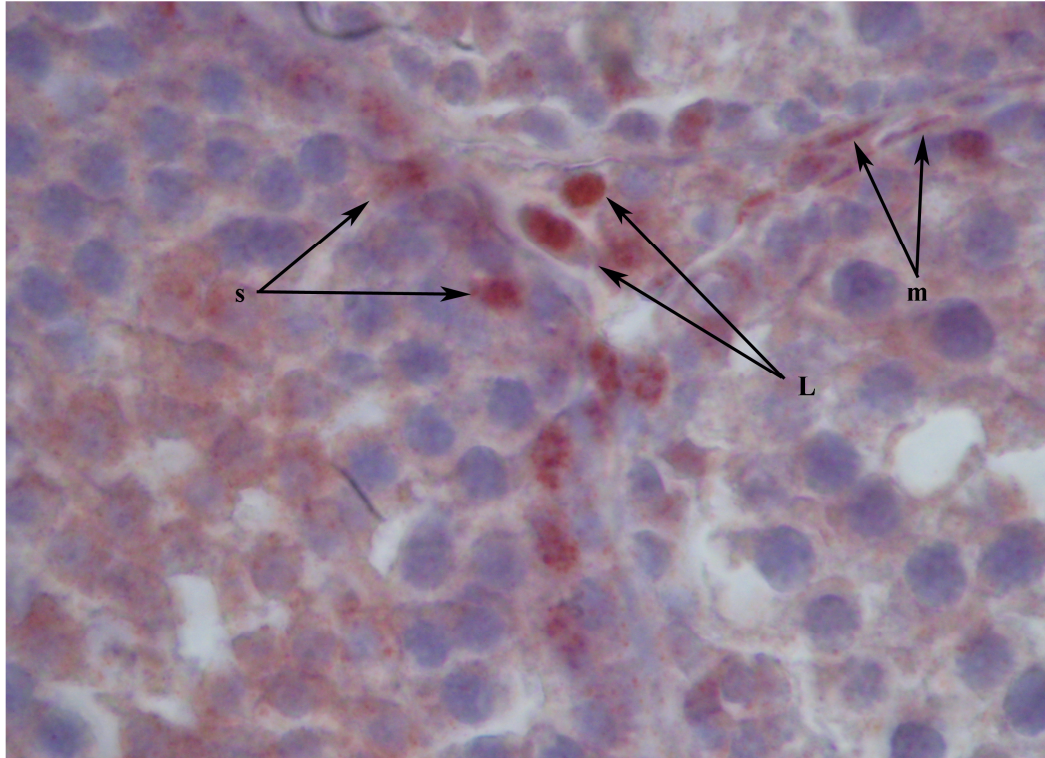
Şekil 24. 21. Gün ligatür grubu testis. **m**-peritubuler miyoid hücresi, **s**-Sertoli hücresi, **L**-Leydig hücresi. İmmunohistokimya X 400

5.2.2. 35. Gün

AR immonureaktivite açısından ligatür grubuyla kontrol grubu arasında herhangi bir farklılık gözlenmedi. Leydig hücre çekirdeklerindeki boyanma yoğunluğu önceki gruba göre artmıştı. İncelenen tüm yaş grupları içerisinde, Leydig hücre çekirdeklerinde AR immunboyanmanın en yoğun olduğu dönemdi. Leydig hücrelerinin boyanma özellikleri önceki gruptakine benzerdi. Sertoli hücrelerinin boyanma yoğunluğu tubulden tubule değişmekteydi. Tubullerden bazılarında AR negatif olan Sertoli hücre çekirdekleri, bazılarında pozitif bazılarında da yoğun pozitif immunboyanma gösterdi (Şekil 25, 26).



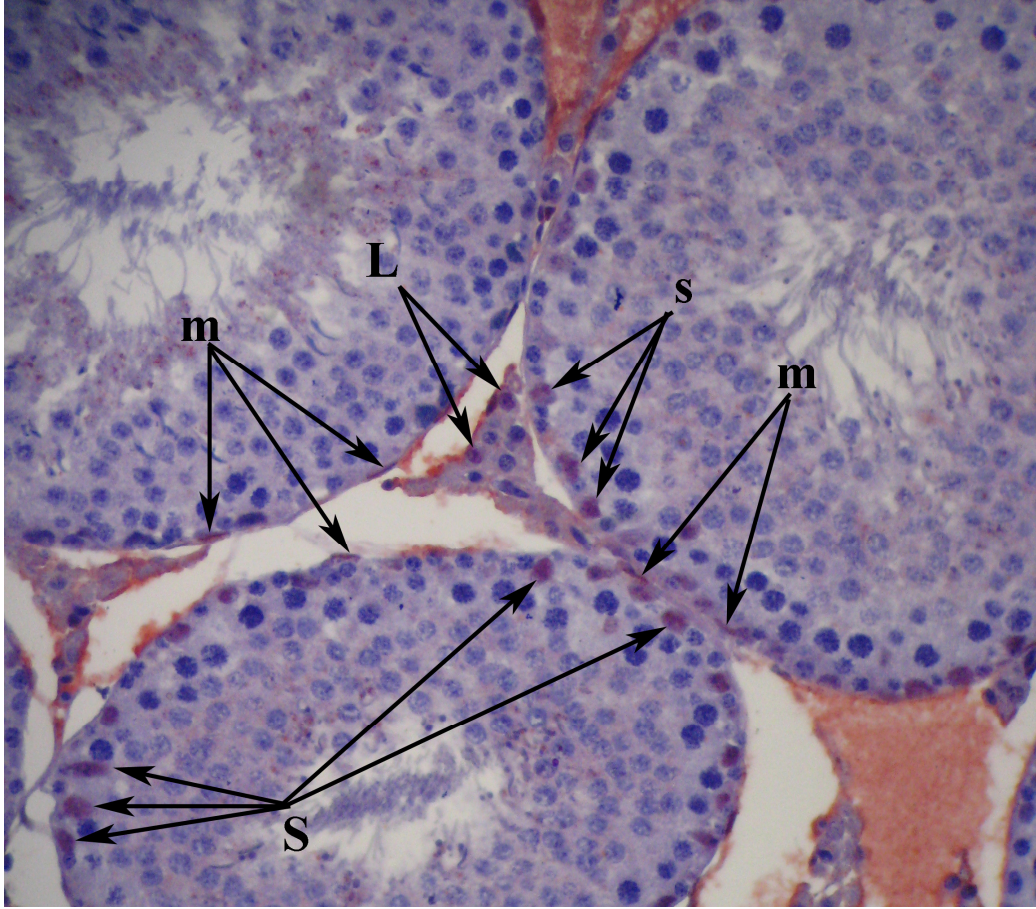
Şekil 25. 35. Gün kontrol grubu testis. **m**-peritubuler miyoid hücresi, **s**-Sertoli hücresi, **L**-Leydig hücresi. İmmunohistokimya X 400



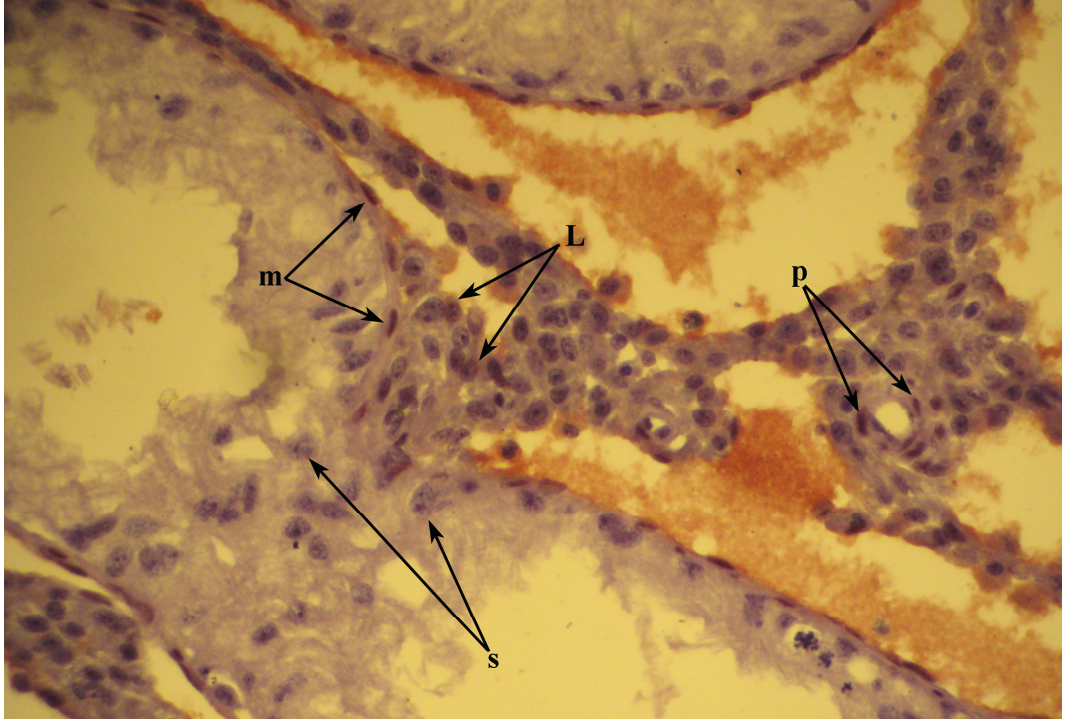
Şekil 26. 35. Gün ligatür grubu testis. **m**-peritubuler miyoid hücresi, **s**-Sertoli hücresi, **L**-Leydig hücresi. İmmunohistokimya X 1200

5.2.3. 56. Gün

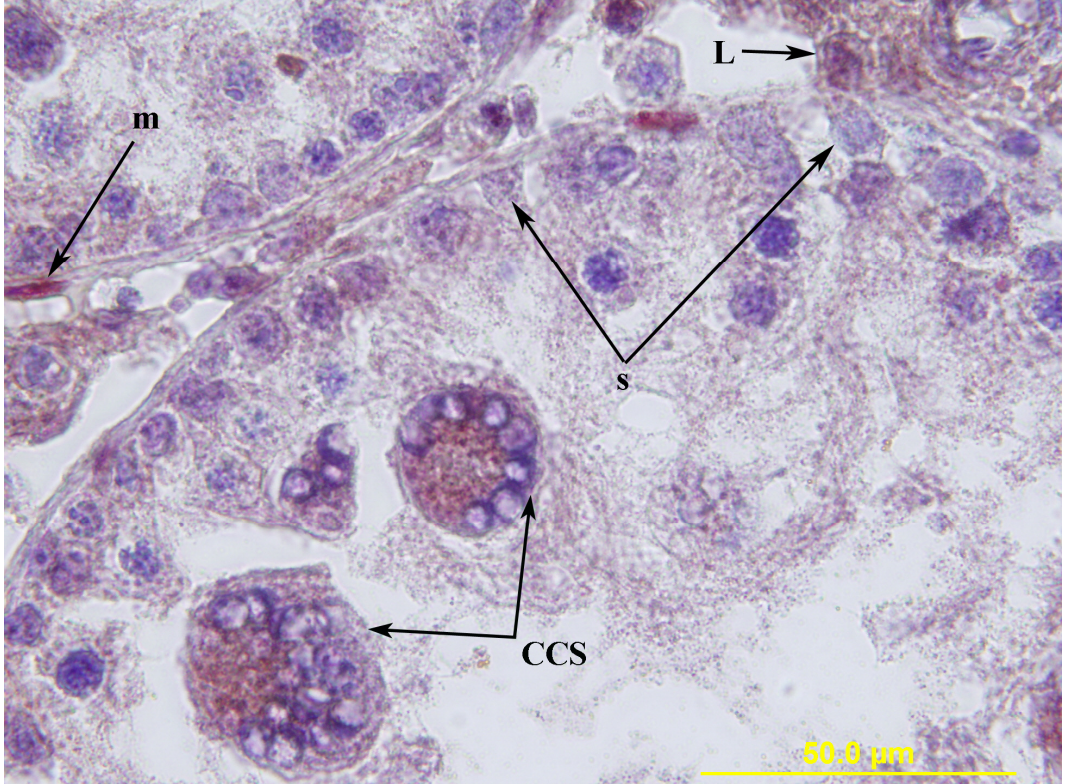
Kontrol grubuyla ligatür grubu arasında farklılık ilk kez bu dönemde tespit edildi. Ligatür grubu sıçan testislerinde; Sertoli hücreleriyle karakterize, ileri derecede dejenerasyonların görüldüğü seminifer tubullerde, Sertoli hücre çekirdeklerinde immunboyanma şekillenmedi (Şekil 28). Ayrıca dejenere tubullerin bir kısmında gözlenen çok çekirdekli dev hücrelerin çekirdekleri de AR negatifti (Şekil 29). Peritubuler miyoid hücreler, perisitler (damar düz kas hücreleri), ve Leydig hücre çekirdeklerinin boyanma özellikleri kontrol grubundakilerle aynıydı. Kontrol grubundaki Sertoli hücrelerinin boyanma özellikleri bir önceki grupla benzerdi (Şekil 27).



Şekil 27. 56. Gün kontrol grubu testis. **m**-peritubuler miyoid hücresi, **s**-Sertoli hücresi, **L**-Leydig hücresi. İmmunohistokimya X 400



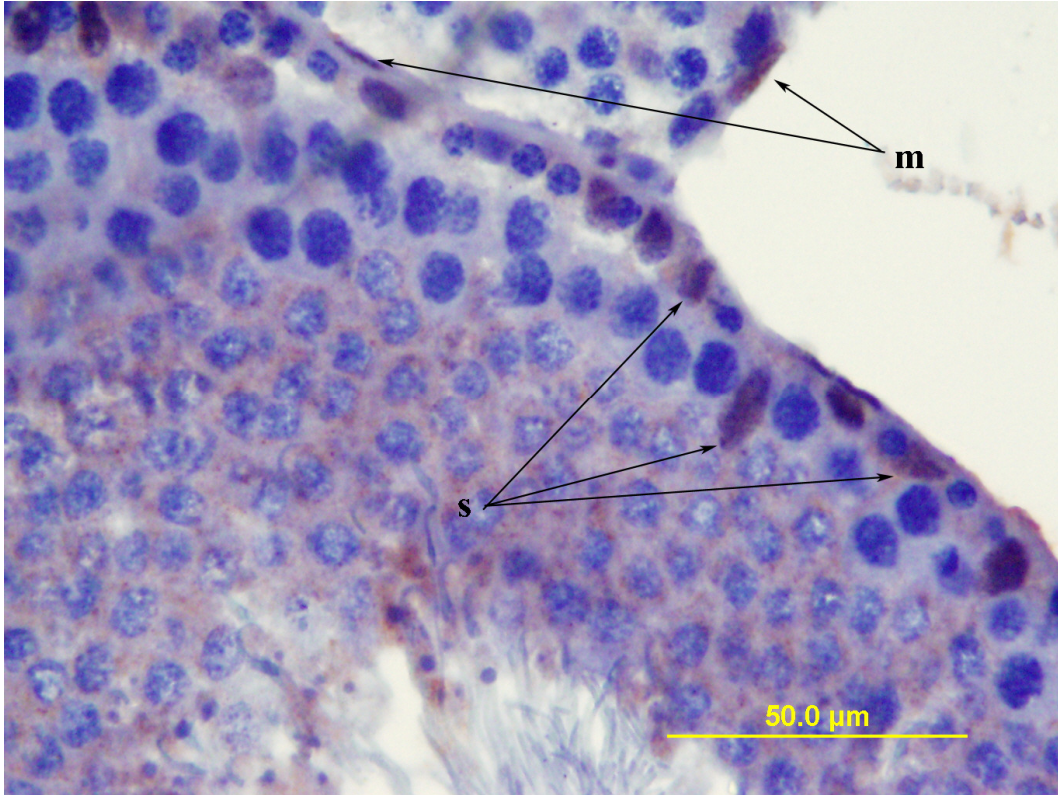
Şekil 28. 56. Gün ligatür grubu testis. **m**-peritubuler miyoid hücresi, **s**-Sertoli hücresi, **L**-Leydig hücresi, **p**-perisit. immunohistokimya X 400



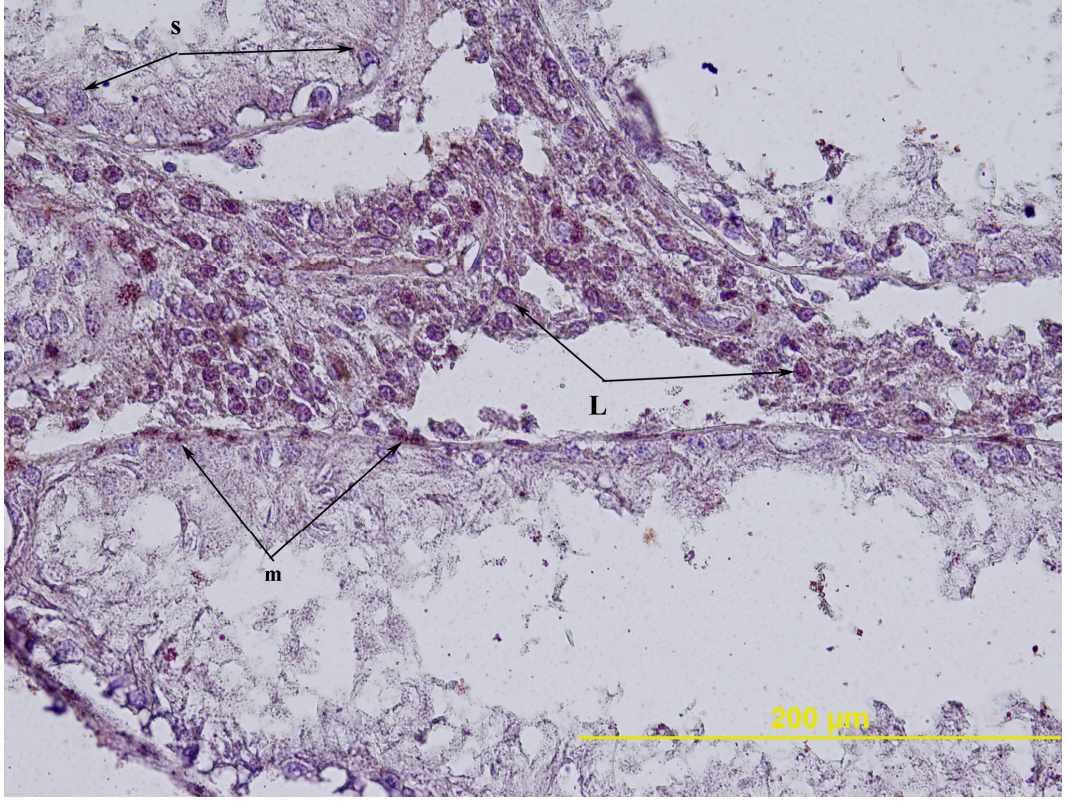
Şekil 29. 56. Gün ligatür grubu testis. **m**-peritubuler miyoid hücresi, **s**-Sertoli hücresi, **L**-Leydig hücresi, **CCS**-çok çekirdekli spermatid. immunohistokimya X 1000

5.2.4. 90. ve 120. Günler

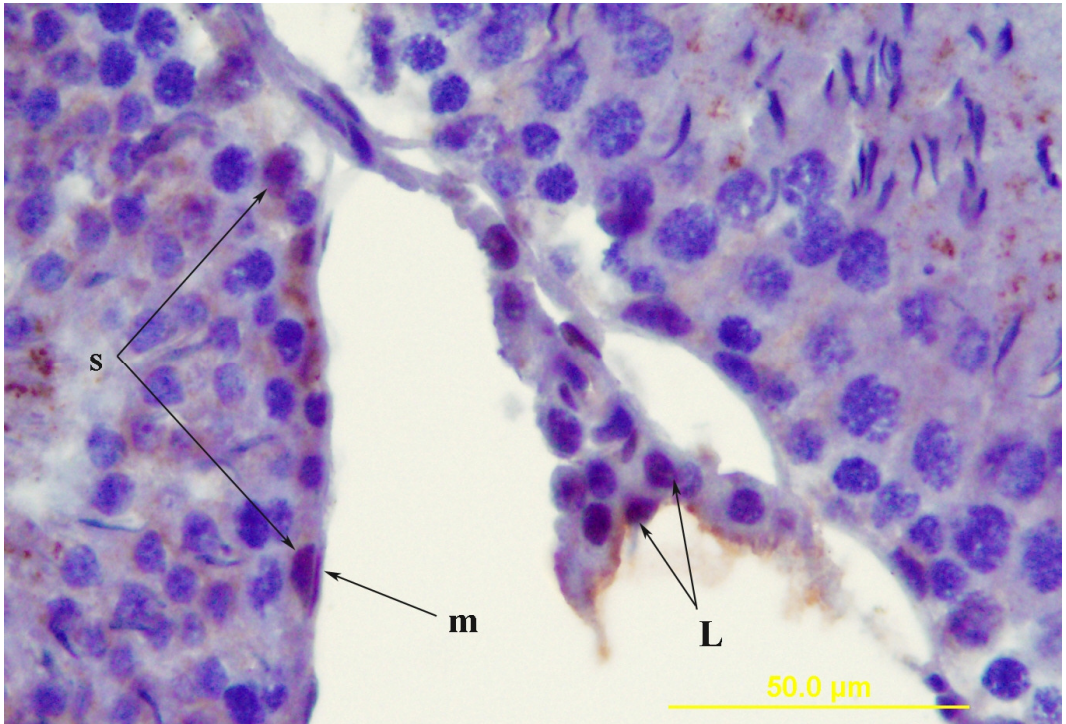
90 ve 120 günlük gruplar arasında herhangi bir farklılık yoktu. Kontrol grubu sıçanların testislerindeki bulgular önceki gruplarla benzerdi. Leydig hücrelerindeki boyanma yoğunluğu 35 günlük gruba göre azalmıştı. Ligatür grubu sıçanlarda; perisitler (damar düz kas hücreleri), peritubuler miyoid hücreler ve Leydig hücreleri AR immunboyanma gösterdi. Sertoli hücre çekirdeklerindeki immunoreaktivite; tubulde dejenerasyon olup olmamasına göre değişiklik arz ediyordu. İleri derecede dejenere tubullerde Sertoli hücrelerinde AR immunboyanma gözlenmezken, histolojik görünümü normal olan tubullerde Sertoli hücrelerinin boyanma özellikleri kontrol grubuyla benzerdi (Şekil 30, 31, 32, 33).



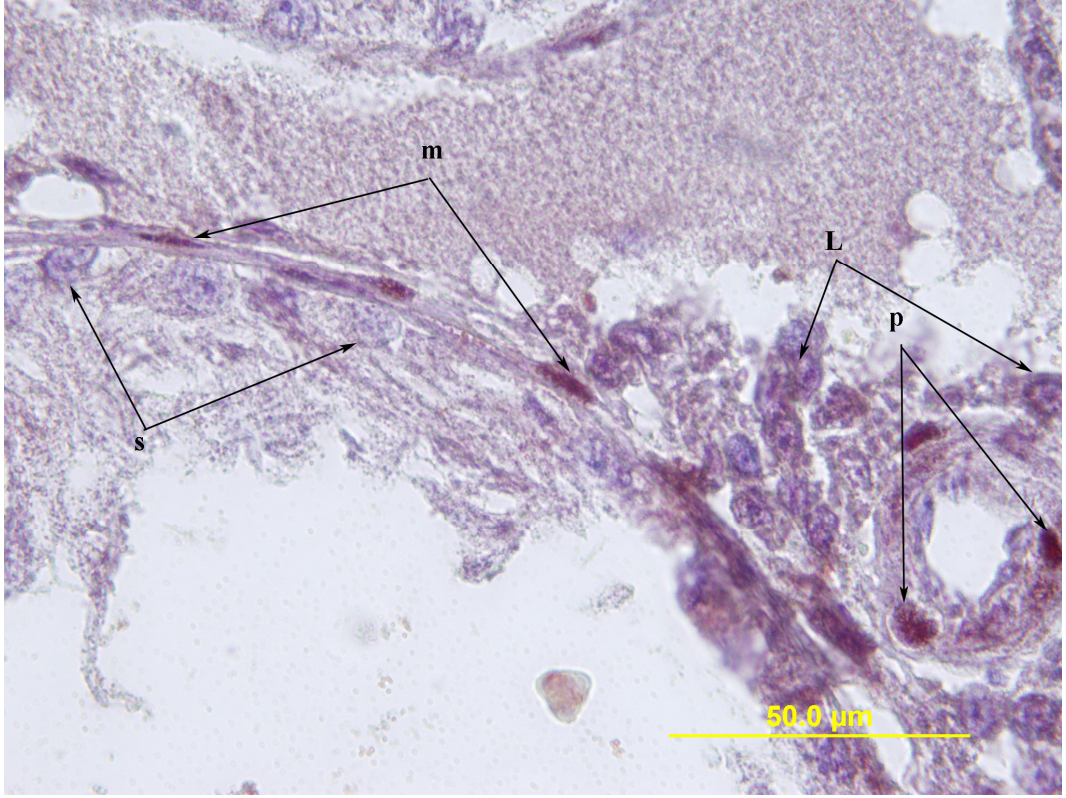
Şekil 30. 90. Gün kontrol grubu testis. **m**-peritubuler miyoid hücresi, **s**-Sertoli hücresi. İmmunohistokimya X 1000



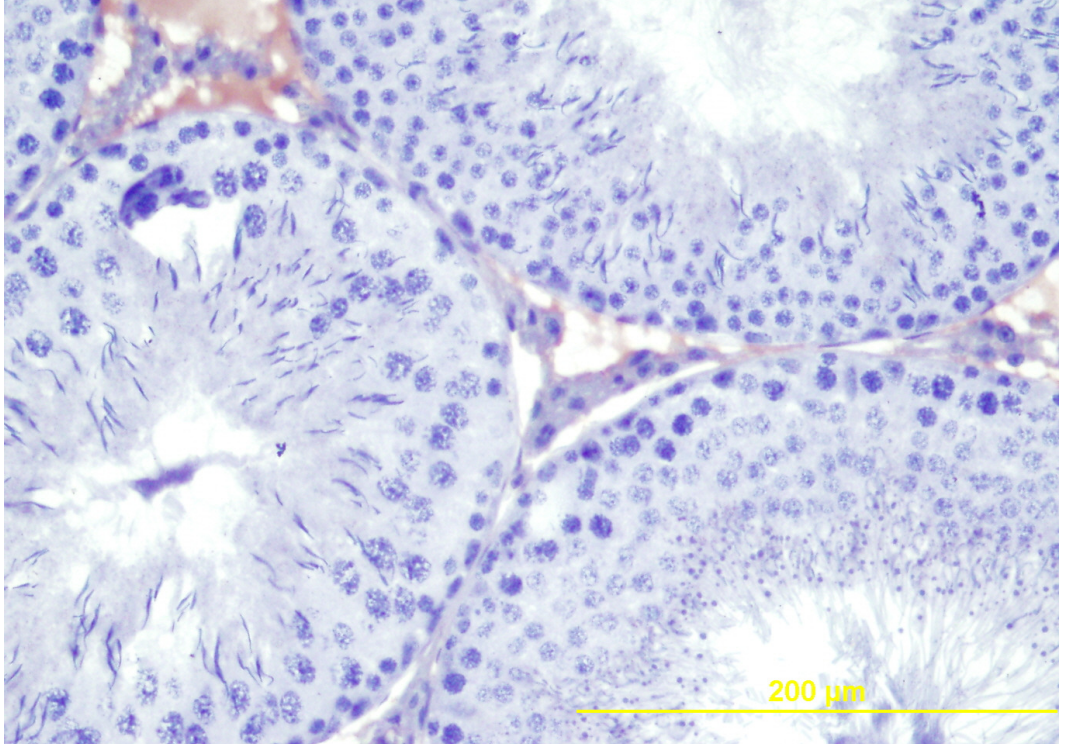
Şekil 31. 90. Gün ligatür grubu testis. **m**-peritubuler miyoid hücresi, **s**-Sertoli hücresi, **L**-Leydig hücresi. İmmunohistokimya X 400



Şekil 32. 120. Gün kontrol grubu testis. **m**-peritubuler miyoid hücresi, **s**-Sertoli hücresi, **L**-Leydig hücresi. İmmunohistokimya X 1000



Şekil 33. 120. Gün ligatür grubu testis. **m**-peritubuler miyoid hücresi, **s**-Sertoli hücresi, **L**-Leydig hücresi, **p**-perisit. İmmunohistokimya X 1000



Şekil 34. 90. Gün kontrol grubu testis (negatif kontrol). X 400

Tablo 2. Günlere ve gruplara göre sıçan testislerindeki hücrelerde androjen reseptör (AR) dağılımı

Hücre tipleri	21 Gün		35 Gün		55 Gün		90 Gün		120 Gün	
	Kontrol	Ligatür	Kontrol	Ligatür	Kontrol	Ligatür	Kontrol	Ligatür	Kontrol	Ligatür
Germ hücreleri	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sertoli hücreleri	++/-	++/-	++/-	++/-	++/-	.*	++/-	.*	++/-	.*
Miyoid hücreler	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Perisitler	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Leydig hücreleri	++/-	++/-	+++/-	+++/-	+/-	++/-	+/-	+/-	+/-	+/-

Boyanna yoğunluğu skalası; negatif (-), pozitif (+), yoğun pozitif (++), çok yoğun pozitif (+++) ve değişken (+/-, +/+, +++)

*: Dejenere Seminifer Tubuller.

6. TARTIŞMA

6.1. Epididimal Obstrüksiyonun Seminifer Tubul Gelişimine Etkisi

Erkek genital boşaltıcı kanallarının tıkanıklığı neticesinde seminifer epitelde patolojik değişiklikler şekillenebilir. Meydana gelen bu değişiklikler tıkanan bölgeye göre farklılık arz eder (17). Bu yönde yapılan çalışmalar özellikle vas deferensin tıkanıklığı (2, 13, 18, 19, 20, 41, 47, 61) üzerinde yoğunlaşmıştır. Bunun yanında kauda epididimis (68), korpus epididimis (1, 17, 47) ve duktuli eferentesin (2, 47) tıkanıklığı üzerine yapılan çalışmalar da mevcuttur.

Duktus deferensin tıkanıklığı ile ilgili yapılan çalışmaların sonuçları değişkendir. Flickinger ve arkadaşlarının erişkin (20), ve prepubertal (18) sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, vasktominin; testisler üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı yani vasktomi sonrası testisin normal yapısını koruduğu belirtilmiştir. Paufler ve Foote (47) erişkin tavşanlarda yaptıkları çalışmada, duktus deferensin bağlanması; spermatogenezisi etkilemediği, testislerin boyutlarının ve histolojisinin normal yapısını koruduğunu bildirmişlerdir. Neaves (41) ise, vasktominin erişkin sıçanlarda; seminifer tubul çapında daralma, spermatidlerin füzyonu, ileri derecede germ hücre yokluğu gibi dejeneratif değişiklikler yanında, patolojik değişikliklerin en fazla görüldüğü seminifer tubullerde; kan-testis bariyerinin geçirgenliğinin bozulmasına yol açtığını ifade etmiştir. Collins ve Tsang (13), Soler ve arkadaşları (61), Pilsworth ve arkadaşları (49), Altay ve arkadaşlarının (2) sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarda, vasktomi operasyonu sonrasında, seminifer tubullerin tamamında ya da bir kısmında; germ hücre yokluğu, spermatogenik hücrelerde sayıca azalma,

seminifer tubullerin çapında ve seminifer epitel kalınlığında azalmayla karakterize dejeneratif değişikliklerin şekillendiği bildirilmiştir. Ayrıca Flickinger ve arkadaşlarının (19) yaptıkları bir başka çalışmada vasktomiden 1 ay sonra vazovazostomi operasyonu yapılan sıçanlarda seminifer epitelde vasktomi sonrası şekillenen dejeneratif değişikliklerin düzelmediği bildirilmiştir.

Vare ve Bansal (68) erişkin köpeklerde yaptıkları çalışmada, kauda epididimisin bağlanması; seminifer tubul çapının küçülmesi, seminifer epitel kalınlığının azalması, spermatogenik hücre sayısının ve çeşidinin azalmasıyla kendini gösteren ilerleyici bir dejenerasyona yol açtığını açıklamışlardır. Korpus epididimisin bağlanması testisler üzerindeki etkisine yönelik çalışmalar sınırlıdır. Paufler ve Foote'un (47) erişkin tavşanlarda yaptıkları çalışmada ligatür uygulaması sonrasında testiste, ilk önce şişkinlik olduğu, sonrasında testis ve seminifer tubul çapının küçüldüğü, seminifer tubullerin yaklaşık yarısında spermatogenik hücrelerin yokluğuyla karakterize seminifer epitel dejenerasyonunun şekillendiği, seminifer tubullerin bazılarında bu olumsuz değişiklikleri, düzelmenin takip ettiği bildirilmiştir. Yine Soler ve arkadaşları (61) erişkin sıçanlarda epididimektomi sonrasında; seminifer tubullerde spermatogenik hücrelerin tamamen yok olmasıyla karakterize ilerleyici, ciddi dejeneratif değişikliklerin şekillendiğini belirterek, meydana gelen zararlı değişikliklerin kanal tıkanıklığıyla açıklanamayacağını, epididimisin testis üzerinde spesifik endokrin etkilerinin olabileceğini ileri sürmüştür. Aktuğ ve arkadaşlarının (1) prepubertal sıçanlarda yaptıkları çalışmada korpus epididimisin bağlanmasını takiben testiste; Sertoli ve Leydig hücrelerinde dejenerasyon, spermatogenik hücrelerin özellikle de spermatogoniyumun tükenmesi, seminifer epitelin

yapısının bozulması sonucu, seminifer tubul içine lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu, granulom oluşumu ve bazal membranların kalınlaşması gibi patolojik değişikliklerin şekillendiği ortaya konulmuştur. Prepubertal sıçanlarda korpus epididimisin bağlanması testis gelişimine etkisine yönelik Flickinger ve arkadaşlarının (17) yaptıkları çalışmada; ligatür grubuyla kontrol grubu arasındaki histolojik farklılıkların ilk olarak 56 günlük grupta şekillendiği, daha önceki gruplarda, kontrol grubuyla ligatür grubu arasında morfolojik ve histolojik olarak herhangi bir farklılığın tespit edilmediği belirtilmiştir. 56 günlük ligatür grubu testislerde morfolojik açıdan kontrol grubuna kıyasla hacimsel ve kütesel artış saptanmış, histolojik olarak ise kontrol grubuna göre seminifer tubul çapındaki ve lumen genişliğindeki artış yanında, hafiften şiddetliye kadar değişen varyasyonda seminifer epitel dejenerasyonlarının şekillendiği tespit edilmiştir. 91 ve 128 günlük ligatür grubunda ise seminifer tubullerin tamamında; germinal hücrelerin yokluğu ile karakterize ileri derecede dejenerasyonlar gözlenmiştir (17).

Yapılan çalışmada 21–35 günlük ligatür grubu ile kontrol grubu testisler arasında morfolojik ve histolojik açıdan herhangi bir farklılık saptanmamıştır. Bu bulgular Flickinger ve arkadaşlarının (17) bulgularıyla benzerdir.

Ligatür grubu ile kontrol grubu testisler arasında morfolojik açıdan ilk farklılık 56 günlük grupta şekillendi. Ligatür grubu testisler kontrol grubuna göre daha büyük ve sertti. 90 ve 120 günlük grupta ise ligatür grubu testisler kontrol grubuna göre daha küçük ve yumuşaktı. Bu bulgular Filickinger ve arkadaşları (17), Soler ve arkadaşları (61), Vare ve Bansal (68) ve Paufler ve Foote'un (47) sonuçlarıyla örtüşmektedir.

Elli altı günlük ligatür grubu sıçanların tümünde, kontrol grubuna göre; seminifer tubullerin çapında ve lumen genişliğinde artış mevcuttu. Bu artışın tıkanıklık neticesinde, seminifer tubul sıvısının ve bu sıvı içindeki spermiyumların tubul içinde birikiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu durum 56 günlük ligatür grubu sıçan testisi ile kontrol grubu arasındaki morfolojik farklılığın nedenini göstermektedir. Yine 90 ve 120 günlük ligatür grubu sıçanların seminifer tubul çapları ve seminifer epitel kalınlıkları kontrol grubuna göre önemli derecede azalmıştır. Bu değişiklikler 90 ve 120 günlük ligatür grubu testislerin kontrol grubuna göre morfolojik olarak daha küçük ve yumuşak olmasını açıklamaktadır. Belirtilen bulgular obstrüksiyondan hemen sonra seminifer tubul çapında ve lumen genişliğinde bir artışın şekillendiği, uzun süreli obstrüksiyonlarda ise bu artışı tubul çapında ve seminifer epitel kalınlığında azalma gibi atrofik değişikliklerin izlediğini ifade eden literatürlerle (1, 17, 47, 68) örtüşmektedir.

56 günlük ligatür grubunda saptanan histolojik değişiklikler Flickinger ve arkadaşlarının (17) bulgularıyla benzerlik göstermesine rağmen spermatidlerin füzyonu ve germinal hücre yokluğuyla karakterize ileri derecede dejeneratif değişiklikler literatürden (17) farklı olarak sadece bir sıçanda gözlemlendi. Bu gruba ait sıçanların dördünde; seminifer tubul çapı ve lumeninde artışla beraber uzamış spermatid sayısında azalma gibi hafif değişiklikler gözlemlendi.

90 ve 120 günlük ligatür grubundaki dejeneratif değişiklikler genel olarak Flickinger ve arkadaşlarının (17) 91 ve 128 günlük ligatür grubundakilerle benzerdi. Fakat Filickinger ve arkadaşlarından (17) farklı olarak ligatür grubu sıçanların testislerinin tümünde, seminifer tubullerin tamamı dejenere değildi (Şekil 17). 90 günlük ligatür grubu sıçanlardan üç tanesinin testislerindeki

seminifer tubuller tamamen dejenere olmuşken kalan iki tanesinde spermatogenik hücre yokluğuyla karakterize ileri derecede dejenere tubullerin yanında, hafif dejeneratif değişikliklerin görüldüğü seminifer tubuller de mevcuttu. Yine 120 günlük ligatür grubu sıçanların dört tanesinin testisinde seminifer tubullerde ileri derecede dejeneratif değişiklikler mevcutken bir tanesinde dejenere tubullerin arasında 90 günlük gruptakilerine benzer normal hücre dizilişine sahip hafif dejenere tubuller gözlendi. Yukarıda bahsedilen bulgular dikkatle incelenecek olursa seminifer tubullerde ilk olarak 56 günlük ligatür grubunda başlayan dejeneratif değişikliklerin sonraki gruplarda giderek yaygınlaştığı ve seminifer tubullerde daha ciddi zararlı değişikliklerin oluştuğu görülmektedir. Yani seminifer tubullerde meydana gelen dejeneratif değişiklikler ilerleyici bir nitelik taşımaktadır. Bu sonuç yukarıda belirtildiği üzere Vare ve Bansal (68) ile Soler ve Arkadaşlarının (61) bulgularıyla paralelken Paufler ve Foote'un (47) bulgularıyla uyuşmamaktadır.

56 ve 90 günlük ligatür grubunda, dejenerasyonların şekillendiği seminifer tubullerden bazılarında görülen çok çekirdekli dev hücreler, Hess ve arkadaşları (26) tarafından çok çekirdekli spermatidler olarak tanımlanmışlardır. Bu tür hücreler; seminifer tubuldeki dejenerasyonun en karakteristik özelliği (41) ve muhtemelen seminifer epiteldeki stresin bir göstergesi (17) olarak yorumlanmıştır. Seminifer tubullerde, bu tür oluşumlara vasktomisi (19, 41), korpus epididimisin bağlanması (17) ve sıçanlara 1,3 Dinitrobenzen (26) uygulaması gibi değişik durumlarda da rastlanılmıştır. Mevcut çalışmada çok çekirdekli spermatidlere literatürden (17) farklı olarak 90 günlük ligatür grubu sıçanlarda da rastlandı.

Bu çalışmada ligatür grubu sıçanlarda gözlemlediğimiz; seminifer tubul çapında ve seminifer epitel kalınlığında azalma, spermatogenik hücrelerin tamamının ya da bir kısmının yokluğuyla karakterize dejeneratif değişiklikler yukarıda belirtilen literatürlerin (1, 2, 17, 19, 41, 49, 68) büyük bir kısmıyla örtüşmektedir. P.A.S. ve üçlü boyama ile dejenere tubullerin bazal membranlarının daha kalın ve belirgin olarak boyandığı bulgusu, bazal membranın kalınlaşmasının bir göstergesi olarak yorumlandı. Bu bulgu; Jarow ve arkadaşları (32) ile Aktuğ ve arkadaşlarının (1) bulgularıyla benzerdir. Aktuğ ve arkadaşlarından (1) farklı olarak bu çalışmada seminifer tubul içerisinde lenfosit ve makrofaj infiltrasyonu ile granulom oluşumuna rastlanılmadı.

Aktuğ ve arkadaşları (1) obstrüksiyonun intersitisyel dokuda ve Leydig hücrelerinde dejeneratif değişikliklere yol açtığı belirtilirken mevcut çalışma dahil diğer literatürlerde (13, 17, 19, 68) böyle bir bulguyla karşılaşılmamıştır.

Obstrüksiyon sonucu şekillenen testis hasarının nedenlerine ilişkin birçok görüş ileri sürülmüştür. Vare ve Bansal (68) intratubuler basınç artışı neticesinde testiste kan akımının durağanlaştığı, buna bağlı olarak dokulara giden oksijen miktarının azaldığı, bu durumun hipoksiye duyarlı olan germinal epitelde hasara yol açtığını belirtmiştir. Pilsworth ve arkadaşları (49) metabolitlerin birikiminin etkisi üzerinde dururken Soler ve arkadaşları (61) epididimisten salgılanan endokrin faktörlerin, testisin beslenmesi üzerinde etkili olabileceğini ileri sürmüştür. Aktuğ ve arkadaşları (1) prepubertal sıçanlarda epididimal obstrüksiyon sonucu şekillenen spermatogenik bozukluklarda bazal membran bütünlüğündeki hasarın anahtar rol oynadığını belirtmiştir.

Birçok canlı türünde, çeşitli dokularda küçük arterlerin ve arteriyollerin yaptıkları ritmik kasılma ve gevşeme hareketlerinin kan akımında değişikliklere neden olduğu gözlenmiştir. Vasomotion olarak adlandırılan bu olayın dokuların beslenme ihtiyacını ve intersitisyel sıvı değişimini düzenlediği ileri sürülmüştür. Prepubertal sıçan testisinde vasomotion görülmemesine rağmen erişkin sıçanlarda görüldüğü belirtilmiştir. Testiste vasomotion; seksüel olgunlaşma, hCG (human chorionic gonadotropin), ve testosteron tarafından uyarılırken hipoksi, kriptorşidizm, varikosel ve lokal olarak sentezlenen vazokonstriktörler tarafından inhibe edilmektedir. Yine sigara kullanımı ve sıcaklık gibi faktörler vasomotionu etkilemektedir. Vasomotionun bozulmasını spermatogenik bozuklukların izleyeceği belirtilmiştir (12).

Literatürlerde (1, 12, 49, 61, 68) belirtilen hususların ışığı altında muhtemelen; tıkanıklığın hemen sonrasında, seminifer sıvı ve spermiyumların birikimi neticesinde intratubuler basınç artmakta, kan dolaşımında azalmaya neden olan bu durum; testis dokusunda metabolitlerin birikimine ve hipoksiye dolayısıyla vasomotionun bozulmasına da neden olmaktadır. Belirtilen nedenlerin kombine etkileriyle bazal membran ve germinal epitelde dejeneratif değişiklikler şekillenmektedir. Obstrüksiyondan belli bir süre sonra intratubuler basınç normale dönse de bazal membran yapısındaki değişiklikler ve vasomotionun bozulması gibi nedenler dejenerasyonun kalıcı olmasına neden olabilir. Bu durum Flickinger ve arkadaşlarının (19) vasktomiden 1 ay sonra vazovazostomi operasyonu yapılan sıçanlarda seminifer epitelde vasktomi sonrası şekillenen dejeneratif değişikliklerin düzelmediği bulgusuyla örtüşmektedir. Ayrıca korpus epididimisin bağlanması vasktomiye göre testiste daha ciddi ve yaygın zararlı değişikliklere

neden olması epididimisten salgılanan endokrin faktörlerin testisin beslenmesi üzerinde etkili olabileceği ihtimalini kuvvetlendirmektedir. Dejenerasyonun nedenlerinin açık bir şekilde ortaya koyulabilmesi bakımından bundan sonra yapılacak çalışmalarda testis beslenmesini etkileyen epididimis kaynaklı endokrin faktörlerin olup olmadığı ile korpus epididimisin bağlanmasının vasomotion üzerine etkisinin araştırılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

6.2. Testiste, Postnatal AR Dağılımı ve Prepubertal Epididimal Obstrüksiyonun AR Dağılımına Etkisi

Bu çalışmada; prepubertal dönemde oluşturulan epididimal obstrüksiyonun, testisteki AR dağılımına etkisi yanında, postnatal gelişim sürecinde testisteki AR dağılımı da incelendi. AR immunboyanma sadece hücre çekirdeğinde şekillendi. AR'nin hücrenin sitoplazmasında değil çekirdeğinde lokalize olduğunu gösteren bu sonuç bazı literatürlerle (6, 23, 31, 36, 58, 59, 63, 64, 74, 75) uyumlu bazılarıyla (23, 24, 69) uyumsuzluk göstermektedir.

Yapılan çalışmada kontrol gruplarının tümünde; Sertoli, Leydig peritubuler miyoid hücreler ve perisitlerin çekirdeklerinde AR immunboyanma şekillendi. Birçok araştırmacı (6, 8, 9, 24, 36, 53, 58, 59, 63, 64, 67, 69, 74, 75) tarafından bildirilen bu sonuç mevcut çalışmayla da teyit edildi.

Seminifer tubullerin tamamında, peritubuler miyoid hücrelerin çekirdekleri homojen bir şekilde boyandı. Bu bulgu literatürlerle (6, 24, 69) örtüşmektedir.

Vornberger ve arkadaşları (69) ile Goyal ve arkadaşları (23, 24) Leydig hücrelerinin AR immunboyanma yoğunluklarının eşit olmayıp, hücreden hücreye değişiklik gösterdiğini yani Leydig hücrelerinin bir kısmının boyanmazken bir

kısının orta derecede, bir kısmının ise yoğun bir şekilde boyandığını bildirmişlerdir. Shan ve arkadaşları (59) Leydig hücre çekirdeklerindeki immunoreaktivitenin 21 günlük yaşta orta düzeyde, 35 günlük yaşta en yüksek, 90 günlük yaşta ise en düşük düzeyde görüldüğünü ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada elde edilen bulgular belirtilen literatürlerle örtüşmektedir.

Bremner ve arkadaşları (6) ve Vornberger ve arkadaşları (69) sıçanlarda, Suarez-Quian ve arkadaşları (63) ise insanlarda; Sertoli hücrelerindeki AR yoğunluğunun, seminifer epitel döngüsünün aşamalarına göre değişiklik gösterdiğini, yine Bremner ve arkadaşları (6) bu değişikliklerin sıçanlarda ilk kez doğum sonrası 28. günde görüldüğünü bildirmişlerdir. Bu çalışmada 21 günlük gruplarda seminifer tubuller arasında Sertoli hücrelerinin boyanma yoğunluğu açısından her hangi bir farklılık tespit edilmezken 35, 56, 90, 120 günlük gruplarda tespit edildi. Farklılıkların gözlemlendiği gruplarda aynı sahada yer alan komşu seminifer tubullerde Sertoli hücrelerinin AR immunboyanma yoğunluğu negatiften (-) yoğun pozitif (++) dereceye kadar değişim göstermekteydi. Sertoli hücrelerindeki boyanma yoğunluğunun tubuller arasında farklılık göstermesinin seminifer epitel döngüsüyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Araştırmacılardan bazıları AR'nin spermatogonia (36, 74) spermatosit (36) ve geç spermatid (24, 57, 59, 71) gibi spermatogenik hücrelerde bulunduğunu belirtirken bazıları, germ hücrelerinde AR bulunmadığını (6, 23, 24, 25, 50, 53, 58, 59, 63, 64, 67, 73) belirtmişlerdir. Bu çalışmada incelenen grupların hiç birinde spermatogenik hücrelerin sitoplazmasında ya da çekirdeğinde AR immunboyanma tespit edilmedi.

Peritubuler miyoid hücreler, Leydig hücreleri ve perisitlerin AR immunoreaktiviteleri arasında ligatür grubuyla kontrol grubu arasında herhangi bir farklılık yoktu. Farklılık Sertoli hücrelerinin immunoreaktivitesinde gözlemlendi. Ligatür grubu sıçan testislerinde germinal hücre yokluğuyla karakterize ileri derecede dejenerasyonların şekillendiği seminifer tubullerde Sertoli hücre çekirdeklerinde AR immunboyanma şekillenmedi.

Roijen ve arkadaşları (67) gonadotropin seviyesi normal, Johnsen skoru 2,7 ile 3,7 arasında değişen oligospermik erkeklerin Sertoli hücre çekirdeklerinin AR immunboyanma gösterdiğini ve boyanma yoğunluğunun fertil erkeklerinki ile aynı olduğunu bildirmişlerdir. Yine Bremner ve arkadaşlarının (6) sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada; pakiten spermatosit, yuvarlak spermatid ya da uzamış spermatid yokluğu ile karakterize seminifer tubullerde Sertoli hücre çekirdeklerindeki boyanma yoğunluğunun, normal yapıya sahip seminifer tubullerle aynı olduğu tespit edilmiştir. Halbuki Regadera ve arkadaşları (50) kriptorşit insan testislerinde; sadece erişkin tip Sertoli hücrelerinden oluşan yani spermatogenik hücrelerin bulunmadığı, seminifer tubullerde, AR immunoreaktivitenin negatiften yoğunlaştıkça değişen varyasyonlarda görüldüğünü, hipoplazik seminifer tubullerdeki olgunlaşmamış Sertoli hücrelerinin çoğunda ise AR immunboyanmanın görülmeyişini bildirmişlerdir. Yukarıda belirtilenlerden de anlaşılacağı üzere değişik oranlarda ve tipte spermatogenik hücre yokluğuyla karakterize dejenere tubullerdeki Sertoli hücre çekirdeklerinde AR varlığı veya yoğunluğu üzerinde fikir birliği yoktur.

Sertoli hücrelerindeki belirli genlerin ve bu genlerin sorumlu olduğu protein yapısındaki ürünlerin ortaya çıkmasının seminifer epitel döngüsündeki

aşamalara göre değiştiğini kanıtlayan bilgiler mevcuttur (6). Bu değişimi düzenleyen temel faktör aşamaya göre değişim gösteren germinal hücre topluluklarıdır. Metoksiasetik asit; uygulanmasını takiben, belirli sürelerde, belirli germ hücrelerinin seçici bir şekilde ortadan kalkmasını sağlayan bir maddedir. Bu madde Sertoli hücreleri tarafından sentez edilen birçok proteinin üretiminin Sertoli hücreleriyle temas halinde olan belirli germ hücre toplulukları tarafından kontrol edildiğini başarılı bir şekilde göstermiştir (6). Mevcut çalışmada elde edilen, “spermatogenik hücre yokluğuyla karakterize, dejenere seminifer tubullerdeki Sertoli hücre çekirdeklerinde AR immunboyanmanın görülmediği” bulgusu Sertoli hücrelerdeki AR varlığının spermatogenik hücreler tarafından kontrol edilebileceğini düşündürmektedir.

Bilindiği üzere androjenler, özellikle de testosteron, spermatogenezin başlaması ve devamı için gereklidir (71). Androjenlerin etkileri ya direkt androjen doku etkileşimi ya da AR vasıtasıyla olur (50). Bu çalışmada sıçan testislerinde, AR yalnızca somatik hücre çekirdeklerinde tespit edilmiş olup spermatogenik hücrelerin hiç birisinde tespit edilemedi. Elde edilen bulgular androjenlerin spermatogenezini dolaylı olarak Sertoli ve peritubuler miyoid hücreler aracılığı ile etkiledikleri (10, 59) görüşünü desteklemektedir. Kanaatimizce bundan sonra yapılacak çalışmalarda seminifer tubullerdeki spermatogenik hücre topluluklarının Sertoli hücrelerindeki AR varlığı üzerindeki etkisi daha detaylı bir şekilde araştırılmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Aktuğ H, Özdedeli K, Altay B, Cüreklibatür İ, Turna B, Yılmaz Ö. (2007). The consequences of epididymal ligation on prepubertal rats: A histopathologic study a,b. *Anal Quant Cytol Histol* 29: 50-6.
2. Altay B, Hekimgil M, Kefi A, Çıkılı N. (2001). Histopathological examination of both ipsilateral and contralateral testes with different obstructive models in prepubertal and adult rats. *BJU International* 88: 84-89.
3. Anonim. (2007). Blue Histology Male Reproductive System. Erişim: (<http://www.lab.anhb.uwa.edu.au/mb140/CorePages/MaleRepro/malerepro.htm>). Erişim tarihi: 15.12.2007.
4. Anonim. (2009). Development of Testes Erişim: (<http://sprojects.mmi.mcgill.ca/embryology/ug/Reproductives/Normal/boydevelop.html>). Erişim tarihi: 08.06.2009.
5. Anonim. (2009). Embryology of the Reproductive System. Erişim: (<http://www.courseweb.uottawa.ca/medicinehistology/English/Reproduction/Embryology/Embryology.htm>). Erişim tarihi: 08.06.2009.
6. Bremner WJ, Millar MR, Sharpe RM, Sunders PTK. (1994). Immunohistochemical localization of androgen receptors in the rat tissue: evidence for stage-dependent expression and regulation by androgen. *Endocrinology* 135: 1227-1234.
7. Buzek SW, Caston LA, Sanborn BM (1987). Evidence for age-dependent changes in Sertoli cell androgen receptor concentration. *J Androl* 8: 83-90.
8. Buzek SW, Sanborn BM. (1988). Increase in testicular androgen receptor during sexual maturation in the rat. *Biol Reprod* 39: 39-49.
9. Chang C, Chen YT, Yeh SD, Xu Q, Wang RS, Guillou F, Lardy H, Yeh S. (2004). Infertility with defective spermatogenesis and hypotestosteronemia in male mice lacking the androgen receptor in Sertoli cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101: 6876-6881.
10. Chen H, Chandrashekar V & Zirkin BR. (1994). Can spermatogenesis be maintained quantitatively in intact adult rats with exogenously administered dihydrotestosterone? *Journal of Andrology* 15: 132-138.
11. Clermont Y and Leblond CP. (1955). Spermiogenesis of man, monkey, ram and other mammals as shown by the 'Periodic Acid-Schiff' technique. *Am. J. Anat* 96: 229 - 237.
12. Collin O, Zupp JL, Setchell BP. (2000). Testicular vasomotion in different mammals *Asian J Androl*.2: 297- 300.
13. Collins PM, Tsang WN. (1979). An assessment of the function of the seminiferous tubules and interstitium of the rat testis following ligation of the vasa efferentia. *Biol Reprod* 20: 671-680.

14. Çöven N. (1994). Prenatal ve postnatal dönemdeki ratlarda testisin histogenezi üzerinde ışık mikroskopik çalışmalar (Doktora Tezi). Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Elazığ.
15. Ergün L. (2008). Erkek Genital Sistem. “Veteriner Özel Histoloji” Özer A (Editör). Nobel Yayın Dağıtım, Bursa. Sayfa:
16. Flickinger CJ, Baran ML, Howards SS, Herr JC. (1998). Epididymal obstruction during development results in antisperm autoantibodies at puberty in rats. *J Androl* 19: 136-144.
17. Flickinger CJ, Baran ML, Howards SS, Herr JC. (1999). Degeneration of the Seminiferous Epithelium Following Epididymal Obstruction in Prepubertal Rats. *Anat Rec* 254: 76-86.
18. Flickinger CJ, Herr JC, Baran ML, Howards, SS. (1995). Testicular development and the formation of spermatocytic granulomas of the epididymis after obstruction of the vas deferens in immature rats. *J Urol* 154: 1539-1544.
19. Flickinger CJ, Herr JC, Howards SS, Sisak JR, Gleavy JM, Fusia TJ, Vailes LD, Handley HH. (1990). Early testicular changes after vasectomy and vasovasostomy in Lewis rats. *Anat Rec* 227: 37-46.
20. Flickinger CJ. (1972). Ultrastructure of the rat testis after vasectomy. *Anat Rec* 174: 477-493.
21. Flickinger CJ. (1985). The effects of vasectomy on the testis. *N Engl J Med* 313: 1283-1285.
22. Gaskell TL, Esnal A, Robinson LL, Anderson RA, Saunders PT. (2004). Immunohistochemical profiling of germ cells within the human fetal testis: identification of three subpopulations. *Biol Reprod* 71: 2012-2021.
23. Goyal, HO, Bartol FF, Wiley AA, and Neff CW. (1997). Immunolocalization of receptors for androgen and estrogen in male caprine reproductive tissues: Unique distribution of estrogen receptors in efferent ductule epithelium. *Biol. Reprod* 56: 90-101.
24. Goyal, HO, Bartol FF, Wiley AA, Khalil MK, Chiu J, and Vig MM. (1997). Immunolocalization of androgen receptor and estrogen receptor in the developing testis and excurrent ducts of goats. *Anat. Rec.* 249: 54-62.
25. Grootegeed JA, Peters MJ, Mulder E, Rommerts FFG and van der Molen HJ. (1977). Absence of a nuclear androgen receptor in isolated germinal cells of rat testis. *Mol. Cell. Endocrinol.* 9: 159-167. 32
26. Hess RA, Linder RE, Strader LF, Perreault SD. (1988). Acute effects and long-term sequelae of 1,3-dinitrobenzene on male reproduction in the rat. II. Quantitative and qualitative histopathology of the testis. *Journal of andrology* 9: 327-342.
27. Heyns CF. (1987). The gubernaculum during testicular descent in the human fetus. *J. Anat.* 153: 93-112.

28. Hill CM, Anway MD, Zikrin BR. and Brown TR. (2004). Intratesticular Androgen Levels, Androgen Receptor Localization, and Androgen Receptor Expression in Adult Rat Sertoli Cells. *Biol Reprod*, 71: 1348-358.
29. Isomaa V, Parvinen M, Jalle OA & Bardin CW. (1985). Nuclear androgen receptors in different stages of the seminiferous epithelial cycles and the interstitial tissue of rat testis. *Endocrinology* 116: 132-137.
30. Iwamura M, Abrahamsson PA, Benning CM, Cockett ATK, Di Sant' Agnese PA. (1994). Androgen receptor immunostaining and its tissue distribution in formalin-fixed, paraffin-embedded sections after microwave treatment. *J Histochem Cytochem* 42: 783-788.
31. Janssen PJ, Brinkmann AO, Boersma WJ, van der Kwast TH. (1994). Immunohistochemical detection of the androgen receptor with monoclonal antibody F39.4 in routinely processed, paraffinembedded human tissues after microwave pre-treatment. *J Histochem Cytochem* 42: 1169-1175.
32. Jarow JP, Budin RE, Dym M, Zirkin BR, Noren S, Marshall FF. (1985). Quantitative pathologic changes in the human testis after vasectomy: a controlled study. *N Engl J Med* 313: 1252-1256.
33. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. (1998). Erkek Üreme Sistemi."Temel Histoloji". Aytekin Y (Editör). Barış Kitabevi, İstanbul. Sayfa: 431-442.
34. Kerr JB. (1999). Atlas of Functional Histology. Mosby, Barcelona. Sayfa: 339-358.
35. Kierszenbaum AL. (2006). Spermatogenez. "Histoloji ve Hücre Biyolojisi". Demir R (Çev. Editörü). Palme Yayınları. Sayfa: 530-564.
36. Kimura N, Mizokami A, Oonuma T, Sasano H, Nagura H. (1993). Immunocytochemical localization of androgen receptor with polyclonal antibody in paraffin-embedded human tissues. *J Histochem Cytochem* 41: 671- 678.
37. Levine E, Cupp AS, Skinner MK. (2000). Role of Neurotrophins in rat embryonic testis morphogenesis (cord formation). *Biol Reprod* 62: 132-142.
38. Levy S, Serre V, Hermo L, Robaire B. (1999). The effects of aging on the seminiferous epithelium and the blood–testis barrier of the Brown Norway rat. *J Androl* 20: 356-365.
39. Mooradian, AD, JE Morley, and SG Korenman. (1987). Biological actions of androgenes. *Endocr Rev* 8: 1-28.
40. Mori C, Nakamura N, Dix DJ, Fujioka M, Nakagawa S. (1997). Morphological analysis of germ cell apoptosis during postnatal testis development in normal and Hsp 70-2 knockout mice. *Dev. Dynamic* 208: 125-136.
41. Neaves WB. (1978). The effect of vasectomy on the testis of inbred Lewis rats. *J Reprod Fertil* 54: 405-411.
42. Nomina Embryologica Veterinaria, Eighteenth General Assembly of the World Association of Veterinary Anatomists Gent (Belgium).(1992).
43. Nomina Histologica, Revised 2nd.Ed. Eighteenth General Assembly of the World Association of Veterinary Anatomists Gent (Belgium).(1992).

44. O'Donnell L, Robertson KM, Jones ME and Simpson ER. (2001). Estrogen and spermatogenesis. *Endocr Rev* 22: 289-318.
45. Orwiga KE, Shinohara T, Avarbocka MR, and Brinster RL. (2002). Functional Analysis of Stem Cells in the Adult Rat Testis. *Biology of Reproduction* 66: 944-949.
46. Özbey İ. (2006). Erkeklerde hipotalamo-hipofizer-gonadal aksın yapısı (derleme). *Androloji Bülteni* 25: 132-137.
47. Paufler SK, Foote RH. (1969). Spermatogenesis in the rabbit following ligation of the epididymidis at different levels. *Anat Rec* 164: 339-348.
48. Petersen RO, Sesterhenn IA, Davis DJ. (2009). *Ürologic Pathology*. Third Edition. Lippincott Williams & Wilkins, China. Sayfa: 313-325.
49. Pilsworth LMC, Hinton BT, Setchell BP. (1981). Effects of obstruction of the flow of seminiferous tubule fluid on the germinal epithelium of the rat. *J Reprod Fertil* 63: 347-353.
50. Regadera J, Martinez-Garcia F, Lez-Peramato PG, Serrano A, Nistal M. and Suarez-Quian CA. (2001). Androgen Receptor Expression in Sertoli Cells as a Function of Seminiferous Tubule Maturation in the Human Cryptorchid Testis. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 413-421.
51. Roberts KP, Zirkin BR. (1991). Androgen regulation of spermatogenesis. *Ann NY Acad Sci* 637: 90-106.
52. Ross MH, Pawlina W. (2006). *Male Reproductive System. Histology*. Lippincott Williams&Wilkins Fifth Edition. Sayfa:728-759.
53. Ruizeveld de Winter JA, Trampan M, Vermey M, Mulder E, Zegers ND and van der Kwast TH (1991). Androgen receptor expression in human tissues: An Immunohistochemical study. *J. Histochem.Cytochem* 39: 927-936.
54. Ryu BY, Orwig KE, Kubota H, Avarbock MR, Brinster RL. (2004). Phenotypic and functional characteristics of male germline stem cells in rats. *Dev Biol.* 274: 158-170.
55. Sağlam M. (1993). *Genel Histoloji*. Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. Şti, Ankara. Sayfa: 100-106.
56. Sajjad Y, Quenby S, Nickson P, Lewis-Jones DI. and Vince G. (2004). Immunohistochemical localization of androgen receptors in the urogenital tracts of human embryos. *Reproduction* 128: 331-339.
57. Sanborn, BM, Steinberger A, Meistrich ML and Steinberger E. (1975). Androgen binding sites in testis cell fractions as measured by a nuclear exchange assay. *J. Steroid Biochem* 6: 1459-1465.
58. Sar M, Lubahn DB, French FS, and Wilson EM. (1990). Immunohistochemical localization of androgen receptor in rat and human tissues. *Endocrinology* 127: 3180-3186.

59. Shan LX, Bardin CW, Hardy MP. (1997). Immunohistochemical analysis of androgen effects on androgen receptor expression in developing Leydig and Sertoli cells. *Endocrinology* 138: 1259-1266.
60. Shi S-R, Key ME, Kalra KL. (1991). Antigen retrieval in formalin fixed, paraffin-embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *J Histochem Cytochem* 39: 741-748.
61. Soler C, Blazquez C, Pertusa J, Nunez M, Nunez J, Nunez A. (1990). Acomparision of the effects of bilateral efferent duct ligation and of partial epididymectomy on the testes of rats. *Reprod Fertil Dev* 2: 321-326.
62. Steinberger E. (1971). Hormonal control of mammalian spermatogenesis. *Physiol Rev* 51: 1-22.
63. Suarez-Quian CA, Martinez-Garcia F, Nistal M, Regadera J. (1999). Androgen Receptor Distribution in Adult Human Testis *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 84: 350-358.
64. Takeda H, Chodak G, Mutchnik S, Nakamoto T and Chang C. (1990). Immunohistochemical localization of androgen receptors with mono-and polyclonal antibodies to androgen receptor. *J Endocrinol* 126: 17-25.
65. Tanyolaç A. (1993). Özel Histoloji. Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. Şti, Ankara. Sayfa: 72-83.
66. Uzumcu M, Westfall SD, Dirks KA, and Skinner MK. (2002). Embryonic Testis Cord Formation and Mesonephric Cell Migration Requires the Phosphatidylinositol 3-Kinase Signaling Pathway. *Biology of Reproduction* 67: 1927-1935.
67. Van Rooijen JH, Van Assen S, Van der Kwast ThH, de Rooij DG, Boersma WJA, Vreeburg JTM, Weber RFA. (1995). Androgen receptor immunoexpression in the testes of subfertile men. *J Androl*. 16: 510-516.
68. Vare AM, Bansal PC. (1974). The effects of ligation of cauda epididymidis on the dog testis. *Fertil Steril* 25: 256-260.
69. Vornberger W, Prins G, Musto NA, Suarez-Quian CA. (1994). Androgen receptor distribution in rat testis: new implantations for androgen regulation of spermatogenesis. *Endocrinology* 134: 2307-2316.
70. Wheeler PR, Burkitt HG, Daniels VG. (1987). *Functional Histology*. Edinburgh London Melbourne and New York. Sayfa: 329-336.
71. Wright WW, Frankel AI. (1980). An andronen receptor in the nuclei of late spermatids in testes of male rats. *Endocrinology* 107: 314-318.
72. Zhang SX. (1999). *An Atlas of Histology*. Springer-Verlag, New York. Sayfa: 272-296.
73. Zhou Q, Nie R, Prins GS, Saunders PTK, Katzenellenbogen BS, and Hess RA. (2002). Localization of Androgen and Estrogen Receptors in Adult Male Mouse Reproductive Tract. *J Androl* 23: 870-881.

74. Zhou X, Kudo A, Kawakami H, Hirano H. (1996). Immunohistochemical localization of androgen receptor in mouse testicular germ cells during fetal and postnatal development. *Anat Rec* 245: 509-518.
75. Zhu L-J, Hardy MP, Inigo IV, Huhtaniemi I, Bardin CW, and Moo-Young AJ. (2000). Effects of Androgen on Androgen Receptor Expression in Rat Testicular and Epididymal Cells: A Quantitative Immunohistochemical Study. *Biology of Reproduction* 63: 368-376.

8. ÖZGEÇMİŞ

31.12.1976 tarihinde Sivas'ın Şarkışla ilçesinde doğdum. İlkokul eğitimimi Malatya ili Arapgir ilçesi Deregezen köyü ilkokulunda, ortaokul ve lise eğitimimi memleketim olan Arapgir ilçesindeki Arapgir Lisesinde tamamladım. 2000 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesinden mezun oldum. 2000–2002 yılları arasında vatani görevimi Hakkari İli Çukurca İlçesinde Yedek Subay olarak yerine getirdim. 2003 yılı Şubat döneminde Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Programı Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalında doktora eğitimime başladım ve 2004 yılı Aralık ayında aynı anabilim dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. Halen Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'na bağlı Sabiha Gökçen Havaalanı Veteriner Sınır Kontrol Noktası Müdürlüğünde Veteriner Hekim olarak görev yapmaktayım.