



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
MARMARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**VAZEKTOMİ SONRASI SIÇAN TESTİSİNDE  
MEYDANA GELEN DEĞİŞİKLİKLERİN İNCELENMESİ:  
MORFOLOJİ, HÜCRE ÖLÜMÜ VE OKLUDİN DAĞILIMI**

GAZİ CONTUK  
DOKTORA TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Feriha Ercan

İSTANBUL-2009

## **BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Tarih

Gazi Contuk

## TEŞEKKÜR

*Doktora eğitimimin başından beri her türlü ilgisini ve desteğini gördüğüm,  
her zaman bilgisinden yararlandığım çok kıymetli danışman hocam ve  
Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Feriha Ercan'a*

*eğitim ve tez hayatımda bilgi, beceri ve deneyimlerini bizden esirgemeyen,  
her zaman yanımda olan çok değerli hocalarım  
Prof. Dr. Tangül Şan'a, Doç. Dr. Şule Çetinel'e, Doç. Dr. Serap Şirvancı'ya,  
tez ve çalışma hayatımda her zaman desteğini gördüğüm değerli hocam  
Acıbadem Ün. Histoloji ve Emb. A.D. Başkanı Prof. Dr. Serap Arbak'a*

*Üroloji Anabilim Dalı öğretim üyesi değerli hocam Prof. Dr. Tufan Tarcan'a, akım  
sitometrisi alanındaki yardımlarıyla İmmunoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Prof.  
Dr. Emel Ekşioğlu Demiralp'e, çalışmamın Western blot bölümündeki  
yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Oya Orun Akalın'a, vazektomi uygulaması  
konusundaki yardımlarından dolayı Uzm. Dr. Fatih Önel'a*

*tez hayatım boyunca yuva sıcaklığında yakınlık kurduğumuz ve  
ailem gibi olan çok değerli arkadaşlarım  
Dr. Gözde Erkanlı, Yrd. Doç. Dr. Yasemin Ersoy Çanillioğlu, Uzm. Öğr. Pınar Turan,  
Uzm. Dr. Beyhan Sağlam, Uzm. Dr. Dilek Akakın, Dr. Esra Cikler, Uzm. Dr. Bahar  
Uslu, Dok. Öğr. Esin Çalışkan Ak, Uzm. Dr. Şükrü Midillioğlu, Dr. Nazan Deniz  
Koç, Pat. Naziye Özkan, Dok. Öğr. Özlem Tuğçe Çilingir, Yük. Lis. Öğr. Mehmet  
Şerif Aydın, Yük. Lis. Öğr. Sercan Doğukan Yıldız ve Yük. Lis. Öğr. Eren Şahin'e*

*elektron mikroskopik preparasyondaki yardımlarından dolayı Kim. Müh. Necati  
Yurdakul'a, elektron mikroskop yardımlarından dolayı Tek. Yücel Öztürk'e, ışık  
mikroskopideki yardımlarından dolayı Tek. Ünal Devrim'e, bölümümüzde işlerimize  
koşan Salih Tangüç'e*

*desteklerini hep yanımda hissettiğim canım ailem,  
babam Hasan Ali Contuk, annem Meryem Contuk ve  
biricik kardeşim Bülent Contuk'a  
çok teşekkür ederim.*

*Eylül-2009*

# İÇİNDEKİLER

|                                                               |           |
|---------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. ÖZET .....</b>                                          | <b>1</b>  |
| <b>2. SUMMARY .....</b>                                       | <b>2</b>  |
| <b>3. GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>                                 | <b>3</b>  |
| <b>4. GENEL BİLGİLER .....</b>                                | <b>6</b>  |
| 4.1. Testis Histolojisi .....                                 | 6         |
| 4.1.1. Testisin Histofizyolojisi .....                        | 13        |
| 4.1.2. Kan-Testis Bariyeri ve Sıkı Bağlantılar .....          | 13        |
| 4.2. Testis Embriyolojisi .....                               | 15        |
| 4.3. Vazektomi .....                                          | 19        |
| 4.4. Akım Sitometresi (Flow Cytometry) .....                  | 23        |
| 4.5. TUNEL Metodu .....                                       | 23        |
| <b>5. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>                               | <b>26</b> |
| 5.1. Deney Hayvanları.....                                    | 26        |
| 5.2. Deney Grupları.....                                      | 26        |
| 5.3. Sıçanlara Vazektomi Operasyonunun Yapılması.....         | 26        |
| 5.4. Işık mikroskopik Preparasyon ve Histolojik Skorlama..... | 27        |
| 5.5. Okludin İmmunohistokimyası.....                          | 28        |
| 5.6. TUNEL Yöntemi.....                                       | 28        |
| 5.7. Geçirimli Elektron Mikroskobu Preparasyonu .....         | 29        |
| 5.8. Akım Sitometresi Yöntemi .....                           | 29        |
| 5.9. Western Blot Analizi.....                                | 30        |
| 5.10. İstatistiksel Analiz.....                               | 31        |
| <b>6. BULGULAR .....</b>                                      | <b>32</b> |
| 6.1.Sıçan Ağırlığı .....                                      | 32        |
| 6.2.Testis Ağırlığı .....                                     | 32        |
| 6.3.Testis Alanı .....                                        | 32        |

|                                                                 |           |
|-----------------------------------------------------------------|-----------|
| 6.4. Morfolojik Bulgular .....                                  | 34        |
| 6.4.1. Kontrol grubu .....                                      | 34        |
| 6.4.2. Vazektomi grubu .....                                    | 34        |
| 6.5. Seminifer Tübül Hasarı Histopatolojik Skore Bulguları..... | 43        |
| 6.6. Okludin İmmunohistokimyası Bulguları.....                  | 46        |
| 6.6.1. Kontrol Grubu .....                                      | 46        |
| 6.6.2. Vazektomi Grubu .....                                    | 46        |
| 6.7. TUNEL Bulguları.....                                       | 52        |
| 6.7.1. Kontrol grubu .....                                      | 52        |
| 6.7.2. Vazektomi grubu .....                                    | 52        |
| 6.8. TUNEL Pozitif Hücrelerin Sayısal Analizi.....              | 55        |
| 6.9. Elektron Mikroskop Bulguları .....                         | 56        |
| 6.9.1. Kontrol grubu .....                                      | 56        |
| 6.9.2. Vazektomi Grubu .....                                    | 56        |
| 6.10. Akım Sitometresi Bulguları .....                          | 61        |
| 6.11. Western Blot Analizi.....                                 | 63        |
| <b>7. TARTIŞMA ve SONUÇ .....</b>                               | <b>64</b> |
| <b>8. KAYNAKLAR.....</b>                                        | <b>72</b> |
| <b>9. ÖZGEÇMİŞ.....</b>                                         | <b>80</b> |
| <b>10. ETİK KURUL ONAYI .....</b>                               | <b>87</b> |

## 1. ÖZET

Vazektomi, erkeklerde dünyada yaygınlaşarak uygulanan etkili, güvenilir ve kalıcı bir aile planlaması yöntemi olup, vas deferensin devamlılığının kesilerek engellenmesi ve spermatozoanın geçişinin durdurulması işlemidir. Bu çalışmanın amacı çift taraflı vazektomi uygulamasını takip eden 1. , 3. ve 6. aylarda sıçan testisinde spermatogenik seriyi oluşturan germ hücrelerinin niteliksel ve niceliksel özelliklerini ve Sertoli hücreleri arasında yer alan kan-testis bariyerinde rol oynayan proteinlerden biri olan okludinin dağılımını göstermektir. Bu çalışmada kontrol grubu ve vazektomi grubu olarak iki deney grubu oluşturulmuştur. Her iki gruptaki sıçanlardan 1 ay, 3 ay ve 6 ay sonra testis dokuları alınmıştır. Testisler tartılmış ve testis örnekleri hazırlanmıştır. Genel morfolojik incelemeler için Hematoksilin&Eosin boyası, bağ doku değişikliklerini göstermek için Masson trikrom boyası ve bazal membrandaki değişiklikleri göstermek için periyodik asit Schiff boyası uygulanmıştır. İnce yapısal değişiklikler elektron mikroskopi ile incelenmiştir. Okludin proteininin dağılımı immunohistokimya tekniğiyle, protein miktarı da Western blot tekniği ile incelenmiştir. Apoptotik hücrelerin varlığını göstermek için TUNEL metodu, DNA ploidi miktarındaki değişiklikleri göstermek için de akım sitometresi uygulanmıştır. Vazektomiden sonra testis ağırlığı 1 ay grubu hariç 3 ve 6 aylık gruplarda düşüş gösterirken, testis alanı tüm gruplarda anlamlı olarak azalmıştır. Vazektomiden 1 ay sonra bazı seminifer tübüllerde vakuol oluşumları gözlenirken 3 ve 6 ay sonra spermatogenik hücre kaybına ilaveten dejeneratif ve atrofik tübül oluşumları, bazal membran kalınlaşması ve ara dokuda fibrozis görülmüştür. Vazektomi sonrası okludin proteininin dağılımı 3 ve 6 aylık gruplarda dağınık ve zayıf boyanma gösterirken, protein miktarının da aynı gruplarda azaldığı görülmüştür. Vazektomi sonrası zamana bağlı olarak haploid, diploid ve tetraploid hücrelerde düşüş gözlenirken, apoptotik hücre sayısında ise artış görülmüştür. Elektron mikroskopik incelemeler vazektomi 1 ay grubunda hafif hasarı ortaya koyarken, 3 ve 6 ay sonra, bazı seminifer tübüllerde spermatogenik serideki hücreler arasında açılmalar ve ileri derecede hasar gözlenmiştir. Sonuç olarak, vazektomi uygulaması seminifer tübüllerdeki spermatogenik hücrelerde apoptozisi artırmakta ve haploid, diploid ve tetraploid hücre sayısının azalmasına ve kan-testis bariyerinde yer alan okludin dağılımının değişmesine neden olmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Apoptoz, morfoloji, okludin, testis, vazektomi

## 2. SUMMARY

### **The Assessment of the Differences in the Rat Testes After Vasectomy: Morphology, Apoptosis and The Distribution of The Protein Occludin in Blood-Testis Barrier**

Vasectomy is applied widely all over the world among men for the purpose of safe and permanent family planning method. The technique is simple as to cut vas deferens in order to prevent the passage of spermatozoa. The purpose of this study is mainly to demonstrate the fate and the morphology of the cells which constitute the spermatogenic line, at the same time to put forward the distribution of occludin in the blood-testis barrier in vasectomized rats at 1st, 3rd and 6th months. In this study, two experimental groups have been established as control group and vasectomized group. The rat testes tissues in the 1st, 3rd and 6th months were collected following a double-sided vasectomy. Testicles were weighed and testis samples were prepared. For general morphological examination we used Hematoxylin & eosin, to demonstrate the changes in connective tissue we used Masson trichrome, and to show the changes of basement membrane we applied periodic acid Schiff (PAS) stain. Ultrastructural changes were examined by electron microscope. The distribution of occludin protein was examined by the immunohistochemistry, the amount of protein was examined by the Western blot technique. To show the presence of apoptotic cells we applied TUNEL method, and for the changes in the amount of DNA ploidy flow cytometry was applied. The weight of testes reduced in 3rd and 6th months whereas the total cross-sectional area reduced significantly in all groups after vasectomy. There were vacuolizations in the seminiferous tubules after the 1st month, but in the 3rd and 6th months besides the massive loss of spermatogenic cells the tubules showed bizarre atrophy. In the latter groups prominent thickening of basal membrane and fibrosis in the interstitial area were the significant features. The distribution of the protein occludin in the 3rd and 6th months was weak and dispersed, meanwhile the amount of the protein was decreased. There was a reduction in the haploid, diploid and tetraploid groups depending on time, besides the reduction in the number of apoptotic cells. Electron microscopic examinations revealed that there were minimal degeneration in the 1st month but as time went on the degeneration was devastating with desquamation of all tubular cells and loss of blood-testis barrier. In conclusion, application of vasectomy led to a series of morphologic degenerations: apoptosis of spermatogenic cells, reduction of haploid, diploid and tetraploid groups, changes of distribution of occludin in blood-testis barrier.

**Key Words:** Apoptosis, morphology, occludin, testis, vasectomy

### 3. GİRİŞ VE AMAÇ

Vazektomi, erkeklerde dünyada yaygınlaşarak uygulanan en etkili, güvenilir ve kalıcı bir aile planlaması yöntemidir (82). Tüm dünya ölçeğindeki vazektomilerin sayısı, kadınlarda uygulanan tüp ligasyonundan epeyce az olmasına karşın her geçen gün vazektomiye olan ilgi artmaktadır. Vazektomi tüp ligasyonundan daha ucuz, daha kolay ve komplikasyonları daha az bir yöntem olmasına rağmen, erkeklerin gönüllü cerrahi sterilizasyonu kadınlara oranla daha az tercih ettikleri görülmüştür. Vazektomi uygulamasını kabul etmeyenlerin %43.6'sı geri dönüşümsüz olması, %40.3'ü invaziv olması, %6.7'si başka yöntemleri kullanabilecek kültür düzeyinde olduklarını belirtmeleri ve %4.7'si prostat kanseri ile arasındaki ilişkinin tam aydınlatılmamış olmasını sebep göstermişlerdir (5). Bunun yanında vazektomi uygulamasını güvenilir ve kalıcı buldukları için yaptıran kişilerin sayısı dünya üzerinde her geçen gün artmaktadır. Bilim adamları için vazektomi uygulamasına artan ilgi, vazektomi sonuçlarını incelemeyi daha çekici hale getirmiştir.

Vazektomi sonrası oluşabilecek hasarı incelemek için yapılan hayvan deneylerinde, vazektominin ardından geçen zamanla doğru orantılı olarak testiküler dejenerasyonların arttığı gözlenmiştir. Bu konu ile ilgili insan çalışmalarında belirgin olarak dejenerasyon bulguları görülmezken fertilitede düşüş olması dikkat çekicidir (8, 72, 82, 83).

Sperm üretimi vazektomi sonrasında da kesintiye uğramadan devam eder. Fakat vas deferens bağlandığı için üretilen spermatozoa yoluna devam edemez ve epididimiste lümen içinde basınca neden olur. Bu basınç nedeniyle vas deferensde ve epididimiste yer yer sperm granulomalarına rastlanır. Tavşanda yapılan çalışmalarda sperm granulomalarına rastlanmadığı gözlenmiştir. İnsanda ise epididimisin kolayca yırtılabilir olması, basıncın çok yükselmesinin seminifer tübüllere yansımaları engellediği düşünülmektedir (35, 47, 51, 75, 82). Vazektomi sonrasında spermatogenezin olumsuz etkilendiğine dair birçok çalışma vardır (3, 49, 56, 72, 83).

Yapılan hayvan çalışmalarında, vazektomiyi takip eden ilk aydan itibaren testis histolojisinde dejeneratif değişiklikler başlamakta ve zamanla bu değişiklikler



artmaktadır. Bu değişikliklerden en az etkilenen hücreler Sertoli hücreleri olurken en fazla etkilenenler ise spermatogenik seriye ait hücreler olmaktadır. Seminifer tübüllerde ilk aylarda vakuoller ve yer yer spermatogenetik hücre kayıpları gözlenmektedir. İlerleyen aylarda hücre kayıplarında artış izlenmiştir (58, 81). İnterstisyumda bulunan Leydig hücreleri herhangi bir değişikliğe maruz kalmamışlardır. Vazektomi uygulamasını takiben interstisyumda belirgin fibrozis görülmüştür (9, 58, 70, 72, 83).

Vazektomi, testis dokusunda germinal epiteldeki spermatogenik serideki hücrelerde, hücre ölümünü anlamlı bir şekilde artırarak haploid, diploid ve tetraploid hücre oranlarını düşüş yönünde etkilemektedir. Vazektomi sonrası zamana bağlı olarak en fazla haploid hücrelerin apoptozis yoluyla azaldığı görülmüştür. Vazektomi sonrası zaman geçtikçe hücre ölümü oranlarının daha da arttığı dikkati çekmiştir. Yapılan çalışmalarda vazektomi sonucu spermatogenezin olumsuz etkilendiği ve spermatogenik serideki hücrelerde hücre ölümlerinin arttığı gösterilmiştir (37, 44, 56, 68).

Tek taraflı ve çift taraflı vazektomi uygulamasından sonra değişik zaman dilimlerinde testiste meydana gelen değişiklikler histopatolojik açıdan ve apoptozis açısından birçok çalışma ile gösterilmiştir. Ancak yapılan çalışmalarda vazektomi sonrası kan-testis bariyerinde meydana gelen değişiklikler sınırlı sayıda çalışma ile gösterilmiştir. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada tek taraflı vazal ve epididimal ligasyon uygulamasından sonra sıçan testisinde okludin ve konneksin 43 proteinlerinin dağılımında bozulma olduğu gösterilmiştir (3).

Bu çalışmada çift taraflı vazektomi uygulamasını takip eden 1. , 3. ve 6. aylarda sıçan testisinde spermatogenik seriyi oluşturan germ hücrelerinin niteliksel ve niceliksel özelliklerini ve Sertoli hücreleri arasında yer alan kan-testis bariyerinde rol oynayan proteinlerden biri olan okludinin dağılımını göstermek amaçlanmıştır. Vazektomi uygulanmasının zamana bağlı olarak testiste seminifer tübüllerdeki ve ara dokudaki hücrelerin morfolojisine olan etkilerini ışık mikroskopik ve elektron mikroskopik tekniklerle, spermatogenik seriyi meydana getiren hücre popülasyonundaki değişiklikleri akım sitometresi yöntemiyle, spermatogenik serideki hücrelerin programlı ölümü TUNEL yöntemiyle ve kan-testis bariyerindeki

okluidin proteininin dağılımı ise immunohistokimya ve Western blot teknikleri ile gösterilecektir.

## 4. GENEL BİLGİLER

### 4.1. Testis Histolojisi

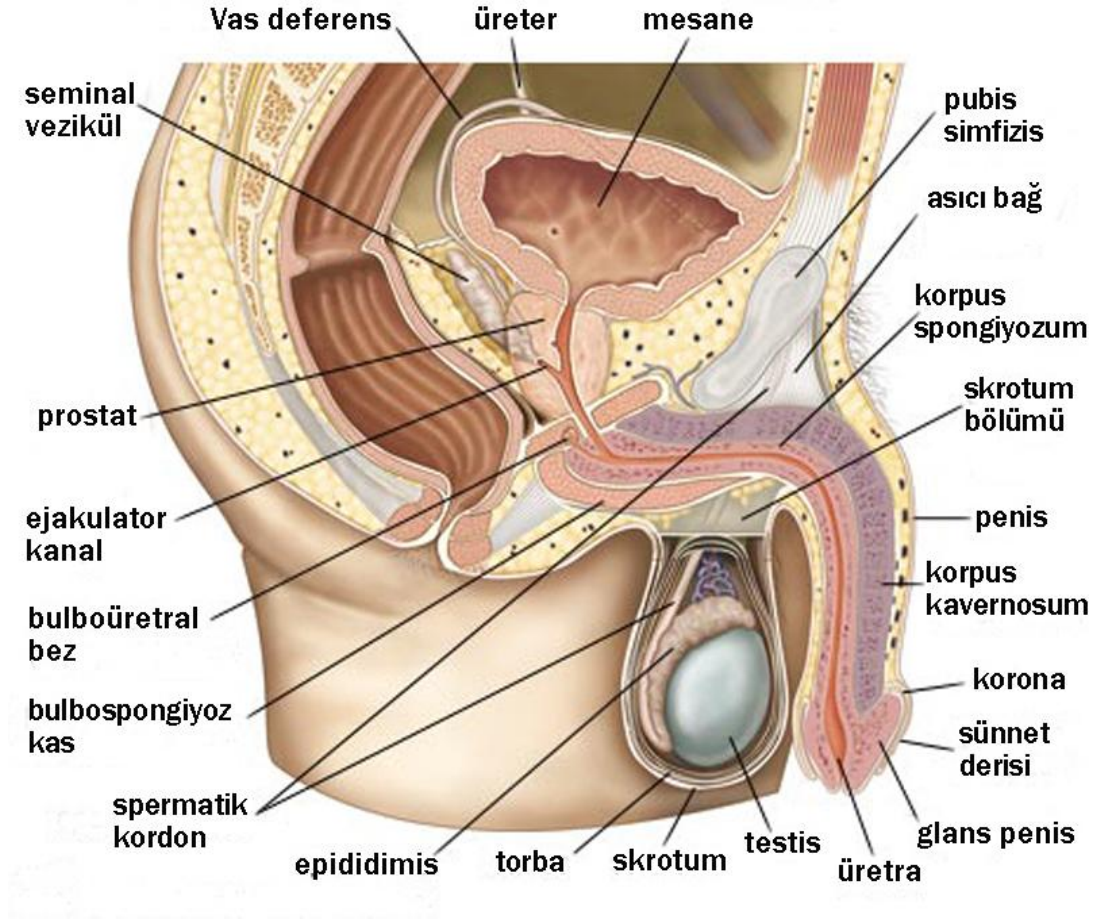
Erkek üreme sistemi, haploid erkek gametin devamlı üretimi, beslenmesi ve geçici olarak depolanmasından; erkek seks hormonlarının sentezi ve sekresyonundan sorumludur. Sistem, sperm üreten, sentezleyen ve androjenleri salgılayan testislerden, dışarıya spermatozoa taşınmasından sorumlu olan dış kanallar sistemini oluşturan epididimis, duktus deferens, ejakülatuar kanal ve erkek üretrasının bir parçasından, salgıları semen kitlesini oluşturan ve ejaküle spermatozoaya besinler sağlayan aksesuar bezler, seminal vezikül, prostat bezi, bülboüretal bezlerden ve erektil dokudan oluşan çiftleşme organı penisten meydana gelir (Şekil 1) (30, 63).

Testis, epididimis ve duktus deferensin başlangıç kısmı tunika vajinalis denilen mezotelyum döşeli boşluğu içine alan deriyle kaplı bir cep olan skrotal kese içinde yer alır. Bu şekilde bir yerleşim testislerin normal spermatogenez için gerekli vücut ısısı olan 34 °C ila 35 °C arasında olmalarını sağlar.

Testisler, tunika albuginea adı verilen kalın bağ dokusu kapsülü ile sarılmıştır. Tunika albuginea testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testis adı verilen yapıyı oluşturur. Buradan bezin içine giren fibröz uzantılar bezi testiküler lobüller denilen yaklaşık 250 adet piramidal bölmeye ayırır. Bu uzantılar tam değildir ve bölmeler çoğunlukla birbiri ile ilişki içindedir. Her bölmede gevşek bağ dokusu ile sarılı 1-4 seminifer tübül bulunur. Bu bağ dokusu bol miktarda kan ve lenf damarı, sinirler ve interstisyel hücreleri (Leydig hücreleri) içerir. Seminifer tübüller erkek üreme hücreleri olan spermatozoonları üretir. Leydig hücreleri ise testiküler androjenleri salgılar.

Testiste yaklaşık 250-1000 seminifer tübül bulunur. Her bir seminifer tübül yaklaşık 150-250 µm çapında ve 30-70 cm uzunluktadır. Bir testisteki tübüllerin toplam uzunluğu 250 metredir. Tübüller kıvrımlıdır ve başlangıçta kör uçludur. Her bir tübül sonlanırken lumeni daralır ve düz tübüller ya da *tübüli rekti* adıyla bilinen kısa segmentler halinde devam eder. Bu düz tübüller, seminifer tübüllerin *rete testis* denilen, epitel ile döşeli kanalların oluşturduğu bir labirente bağlanmasını sağlar.

Mediastinumun bağ dokusunda bulunan rete testis, 10-20 *duktuli efferentes* ile *epididimisin* baş kısmını bağlamıştır (Şekil 2) (30, 63).

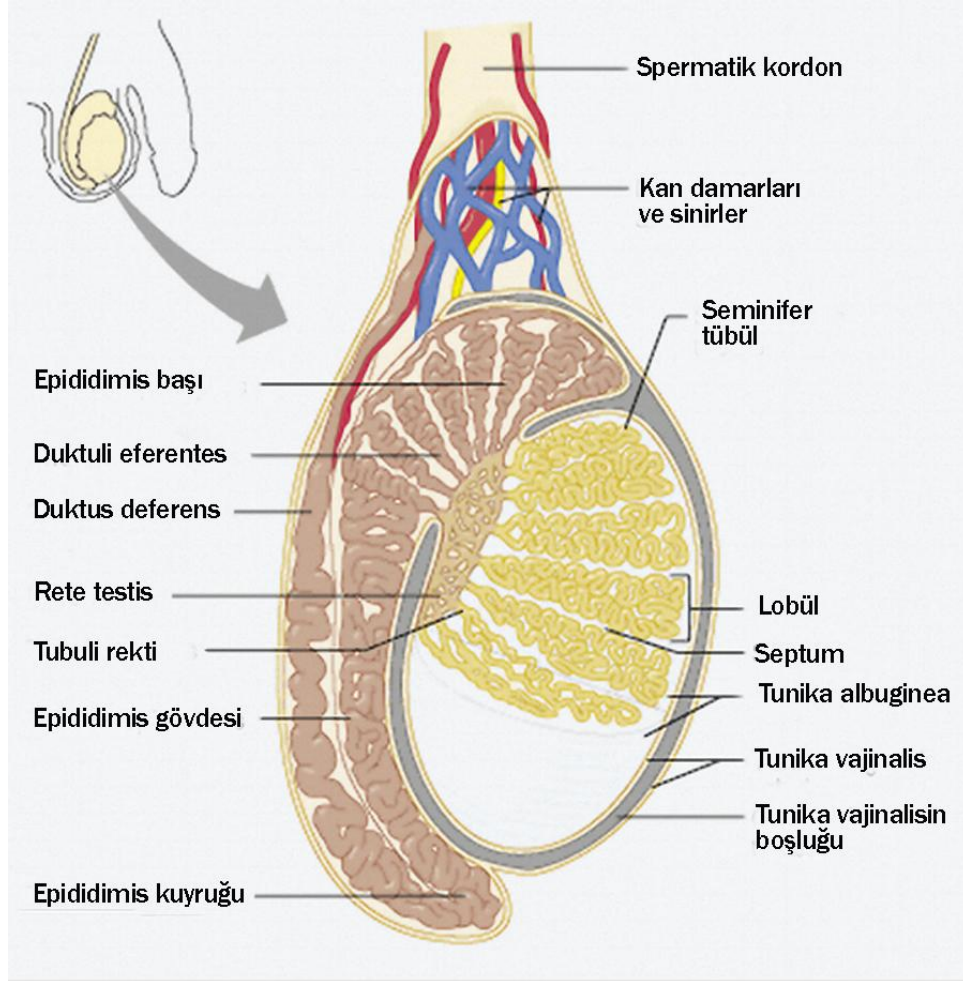


Şekil 1: Erkek genital sistemi (46).

Seminifer tübüller bir fibröz bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ve karmaşık bir *germinal* ya da *seminifer epitel*den oluşur. Seminifer tübülü saran *tunica propria* birkaç fibroblast katmanından oluşmuştur. Bazal laminaya yapışık olarak bulunan en içteki katman düz kas özellikleri gösteren yassılaştırmış *myoid hücre*lerden oluşur. Epitel iki tip hücreden meydana gelmektedir: *Sertoli* ya da *destek hücre*leri ile *spermatogenik seriyi* oluşturan hücreler.

Spermatogenik seri hücreleri bazal lamina ve tübül lümeni arasını dolduracak 4-8 tabaka halinde düzenlenmiştir. Bu hücreler birkaç bölünmeden sonra farklılaşır ve spermatozonları oluştururlar. Bu erkek germ hücrelerinin sürekli farklılaşma

sürecindeki çeşitli evrelerde bulunabilirler. Başlangıçtan bitişe kadar spermatogenez olarak adlandırılan bu olay üç faza ayrılabilir; spermatositogenez olarak adlandırılan



Şekil 2. Testisin yapısı. Testise giren kan damarları ve sinirler ile epididim ve seminifer tübüller görülmektedir (46).

evrede spermatogonyumların bölünmeleri sonucunda oluşan hücrelerden spermatositler meydana gelir. Spermatogonyumların ardı ardına iki bölünmeleri sonucunda oluşan hücrelerden spermatositler meydana gelir. Spermatositlerin ardı ardına iki bölünme geçirerek kromozom sayılarının ve DNA miktarının eşit olarak her hücrede yarıya düşürülmesi sonucu spermatidlerin olduğu evre mayoz adını alır. Spermiyogenez ise spermatidlerin özenli bir hücre farklılaşma süreci geçirerek spermatozoonları oluşturduğu safhadır (30).

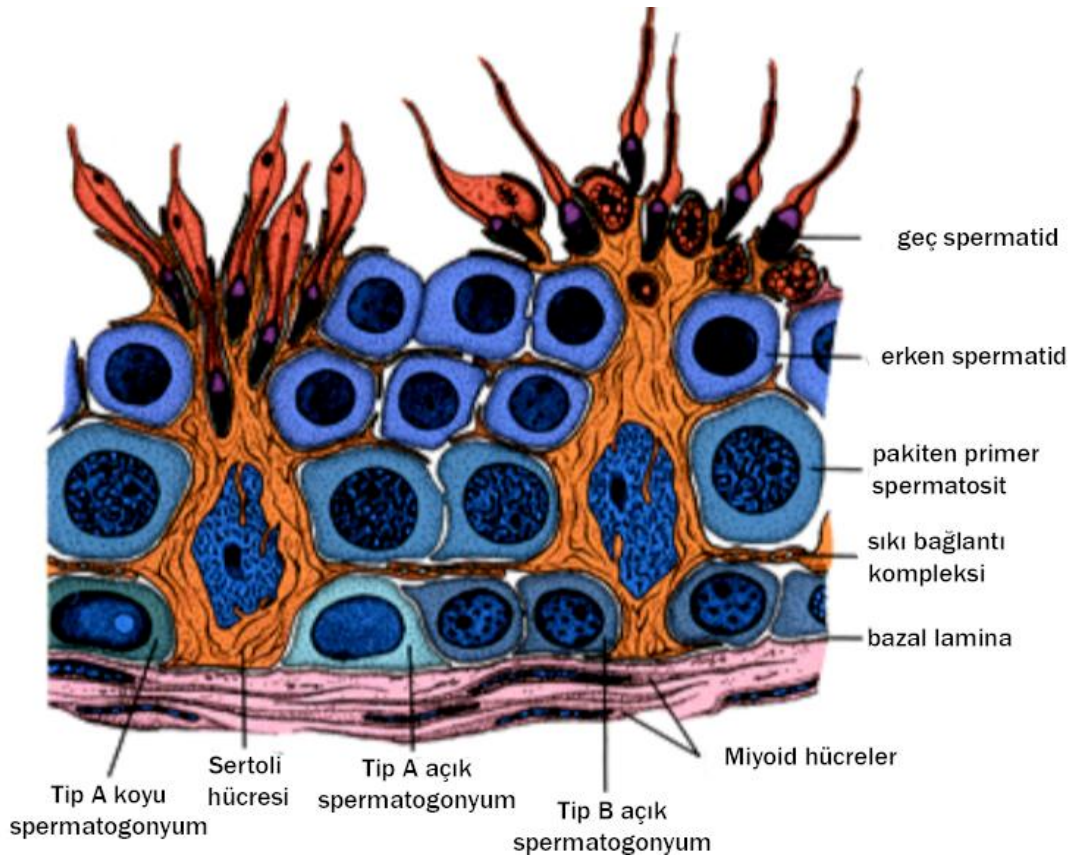
Spermatogenez, spermatozoon üretim sürecidir. Süreç ilkel öncül bir germ hücresi olan spermatogonyum ile başlar. Spermatogonyum, yaklaşık 12 µm çapında, bazal laminanın hemen üstünde yer alan küçük bir hücredir. Ergenlik çağında spermatogonyum hücreleri mitoz bölünme ile çoğalmaya başlar. Oluşan yeni hücreler iki yoldan birini izlerler. A tipi spermatogonyumlar olarak adlandırılan kök hücreler olarak bölünmeyi sürdürebilir ya da devam eden mitotik bölünmeler sonucu farklılaşarak B tipi spermatogonyumları oluştururlar (30).

İnsanda morfolojik olarak ayrılabilen 3 tip spermatogonyum vardır: koyu renkli boyanan koyu tip A spermatogonyum, soluk renkli boyanan açık tip A spermatogonyum ve tip B spermatogonyum. Tip A spermatogonyum spermatogenik serinin kök hücreleridir. Tip B spermatogonyum ise primer spermatositlere farklılaşan öncül hücrelerdir (Şekil 3).

Spermatogonyumların bölünmesi sırasında ortaya çıkan hücreler tamamen ayrılmaz ve sitoplazmik köprülerle birbirlerine bağlı kalırlar. Hücreler arasındaki köprüler, tek bir spermatogonyumdan oluşan her primer ve sekonder spermatositte spermatid arasındaki iletişimi sağlar. Hücreden hücreye bilgi aktarımına izin vermesi sebebiyle bu köprüler spermatogenezdeki olaylar zincirinin koordinasyonunda önemli bir rol oynarlar. Spermatogenez süreci tamamlandığında sitoplazma ve sitoplazmik köprülerin artık cisimcikler olarak dökülmesi ile spermatidler arasında bir ayrılma olur.

İnsanda spermatogonyum safhası ile spermatozoon oluşumu arasındaki süreç yaklaşık 64 gündür. Bu süreç dalgalanmalar şeklinde oluşur, her seminifer tübülde aynı anda gerçekleşmez. Bu durum her bölgesinde spermatogenezin farklı bir safhasının izlendiği seminifer tübüllerin düzensiz görünümünü açıklar. Aynı zamanda neden seminifer tübüllerin bazı bölgelerinde spermatozoonların bulunduğu halde diğer bölgelerde sadece spermatidlerin bulunduğunu da açıklamaktadır. Seminifer epitelyum siklusu germinal epitelyumda belli bir hücre evresinin ardışık iki görünümü arasında oluşan matürasyon değişiklikleri dizisini ifade eder. İnsanda her bir siklus yaklaşık  $16 \pm 1$  gün sürer ve spermatogenez 4 siklustan sonra biter.





Şekil 3. Seminifer tübülün bir parçası. Seminifer epitel 2 tip hücreden oluşmuştur: Spermatogenik seri hücreleri ve destek ya da Sertoli hücreleri (21)

Sertoli hücreleri spermatogenik serideki hücreleri kısmi olarak saran uzamış piramidal hücrelerdir. Sertoli hücrelerinin tabanları bazal laminaya tutunur, apikal uçları ise sıklıkla seminifer tübülün lümenine uzanır. Işık mikroskopunda, Sertoli hücresinin sınırları belirsiz olarak görülür, çünkü bunların spermatogenik seri hücrelerini çevreleyen çok sayıda lateral uzantıları vardır. Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda hücrelerin bol miktarda düz endoplazmik retikulum, bir miktar kaba endoplazmik retikulum, iyi gelişmiş Golgi kompleksi ve çok sayıda mitokondri ile lizozom içerdiği gösterilmiştir. Sıklıkla üçgen biçiminde olan uzamış çekirdekte çok sayıda kıvrılmalar, belirgin bir nukleolus ve az miktarda heterokromatin görülür. Seminifer tübüllerde yan yana duran Sertoli hücreleri birbirlerine spermatogonyumlar seviyesinde sıkı bağlantılarla bağlanmışlardır. Bu bağlantılar seminifer epiteli bazal ve adluminal kompartman olmak üzere iki bölmeye ayırır. Spermatogonyumlar, içine kanda bulunan materyallerin serbestçe girebildiği bazal kompartmanda yerleşirler. Spermatogenez sırasında spermatogonyum serisi, bu

bağlantılardan bir yolunu bulup geçerek adluminal kompartmana çıkarlar. Burada spermatogenezin daha ileri safhaları, kandan gelen ürünlerden bir kan-testis bariyeri ile korunurlar. Bu bariyer Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar ile oluşturulur. Spermatositler ve spermatidler, Sertoli hücrelerinin apikal ve lateral kenarlarındaki derin girintilerde yerleşmişlerdir. Spermatidlerin flagellar kuyrukları geliştikçe bunlar Sertoli hücrelerinin apikal uçlarından çıkan püsküller şeklindeki çıkıntılar halinde görülürler. Sertoli hücreleri “gap junction” denilen birleşmelerle de ilişki kurar ve bu yolla hücrelerin iyonik ve kimyasal alışverişi sağlanır.

Sertoli hücrelerinin en az dört önemli fonksiyonu vardır:

1. Gelişmekte olan spermatozoonların desteklenmesi, korunması ve beslenmelerinin düzenlenmesi
2. **Fagositoz:** Spermiyogenez sırasında fazla spermatid sitoplazması artık cisimcikler şeklinde atılır. Bu sitoplazmik parçacıklar Sertoli hücrelerindeki lizozomlar tarafından fagosit edilir ve sindirilir.
3. **Sekresyon:** Sertoli hücreleri sürekli olarak seminifer tübüllere genital kanallar yönünde akan ve sperm transportu için kullanılan bir sıvı salgılarlar. Androjen bağlayıcı protein (ABP) sekresyonu Sertoli hücreleri tarafından FSH ve testosteron kontrolü altında gerçekleştirilir. Bu protein, seminifer tübül içinde spermatogenez için gerekli olan testosteronun yoğunlaşmasını sağlar. Sertoli hücreleri testosteronu östradiol haline çevirebilirler. Bu hücreler aynı zamanda, anterior hipofiz bezinden FSH sentez ve salınmasını önleyen inhibin adı verilen bir peptid salgılar.
4. **Anti-Müllerian Hormon üretimi:** Bu hormon embriyonik gelişme sırasında erkek fetusta Müller (paramezonefrik) kanalların gerilemesini sağlayan bir glikoproteindir. Testosteron ise Wolf (mezonefrik) kanallardan köken alan yapıların gelişmesini sağlar.

Sertoli hücreleri insanda ve diğer hayvanlarda üreme periyodu süresince bölünmezler. Bunlar özellikle enfeksiyon, kötü beslenme, x-ışını ışıınımı gibi olumsuz koşullara karşı oldukça dayanıklıdır ve bu zararlı etkiler karşısında spermatogenik seri hücrelerine göre çok daha dirençlidirler. Memelilerde



spermatozonların salınımı muhtemelen hücrel hareketlerin bir sonucudur. Bu hareket Sertoli hücresinin apeksinde bulunan mikrotübüller ve mikrofilamentler ile sağlanır.

Testisin seminifer tübülleri arasındaki interstisyel doku da bağ dokusu, sinirler, kan ve lenfatik damarlarla doldurulmuştur. Testiküler kapillerler pencerelidir ve kan proteinleri gibi makromoleküllerin serbestçe geçmesine müsaade ederler. İntertisyel alandaki lenf damarlarının oluşturduğu yoğun şebeke, bu organdan alınan interstisyel sıvı ile lenf sıvısının birleşimindeki benzerliği açıklamaktadır. Bağ dokusu çeşitli tipte hücreler içerir. Bunlar arasında fibroblast, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Puberte sırasında ek bir hücre tipi belirgin hale gelir, bu yuvarlak ya da poligonal şekilli olan ve merkezi bir çekirdeği ve küçük lipid damlacıklarından zengin eozinofilik bir sitoplazması bulunan bir hücredir. Steroid salgılayan hücre özelliklerini gösteren bu hücreler, testisin interstisyel ya da Leydig hücreleridir. Bu hücreler sekonder seks karakterlerinin gelişmesinden sorumlu erkeklik hormonu olan testosteronu üretirler. Testosteron sentezi mitokondri ve düz endoplazmik retikulumda bulunan enzimlerce gerçekleştirilerek, hücre organelleri arası işbirliğine bir örnek oluşturur.

Leydig hücrelerinin hem aktiviteleri hem de miktarları hormonal uyarımlara bağlıdır. İnsanda hamilelik sırasında üretilen plasental gonadotropik hormon maternal kandan fetusa geçer ve androjenik hormonları üreten bol miktardaki fetal testiküler interstisyel hücreleri uyarır. Hormonların bulunması embriyonik farklılaşmada erkek genital organlarının gelişmesi için gereklidir. Embriyonik interstisyel hücreler hamileliğin 18. haftasına kadar tamamen farklılaşmış olarak kalırlar; bundan sonra testosteron sentezinde görülen bir azalma ile birlikte gerilerler. Daha sonra gebelik boyunca ve hipofizden sonra salınan LH uyarımı altında testosteron sentezini yeniden yapmaya başladıkları puberte öncesi döneme kadar dinlenmede kalırlar (30, 63).

#### 4.1.1. Testisin Histofizyolojisi

Vucüt sıcaklığının (37°C) altındaki sıcaklıklarda oluşan spermatogenezin regulasyonunda ısı çok önemlidir. Testiküler ısı yaklaşık 35 °C'dir, bu birkaç mekanizma ile kontrol edilir. Zengin bir venöz pleksus (*pampiniform pleksus*) her bir testiküler arterin etrafını sarar, testiküler ısının sürdürülmesinde önemli olan bir karşı ısı akımı sağlar. Diğer faktörler; skrotumdaki terin buharlaşması ile ısı kaybı ve spermatik kordondaki krameter kaslarının kasılması ile testislerin daha yüksek bir ısıda kalabileceği inguinal kanallara çekilmesidir.

Spermatogenez üzerinde en önemli etkiyi endokrin faktörler oluşturur. Spermatogenez, hipofizin foliküler stimülan (FSH) ve lüteinizan hormonlarının (LH) testiküler hücreler üzerindeki etkilerine bağlıdır. LH interstisyel hücreler üzerine etki ederek spermatogenik seri hücrelerinin normal gelişimi için gerekli olan testosteron yapımını stimüle eder. FSH'nin ise Sertoli hücrelerini etkileyerek adenilat siklaz yapımını stimüle ettiği ve sonuçta cAMP'nin artışına yol açtığı ve aynı zamanda ABP'nin sentez ve salgılanmasını sağladığı bilinmektedir. Bu protein testosteron ile bağlanır ve testosteronu seminifer tübüllerin lümenine taşır. Spermatogenez testosteron ile uyarılır, östrojen ve progesteronlarla inhibe edilir.

Spermatozoonlar epididimise, uygun bir medyum olan testiküler sıvı içinde taşınırlar. Testiküler sıvı Sertoli hücreleri ve rete testis tarafından üretilir; bu sıvı steroidler, proteinler, iyonlar ve testosteronla birleşmiş ABP içerir (30).

#### 4.1.2. Kan-Testis Bariyeri ve Sıkı Bağlantılar

Spermatogonyumların farklılaşması sperme özgü proteinlerin ortaya çıkmasına yol açar. Seksüel olgunlaşmanın, immunolojik yeteneğin gelişmesinden uzun bir süre sonra ortaya çıkması sebebiyle farklılaşmakta olan sperm hücreleri yabancı olarak algılanabilir ve germ hücrelerinin ölümüne sebep olabilecek bir immün yanıtı teşvik edebilirler. Kan-testis bariyeri, gelişen spermler ve immün sistem arasında oluşabilecek herhangi bir etkileşimi ortadan kaldırır. Bu bariyer seminifer tübüllere immünglobulinlerin geçmesini önler ve bu sayede serumlarında çok yüksek düzeyde sperm antikorları bulunan hastalarda herhangi bir fertilite bozukluğu görülmez.

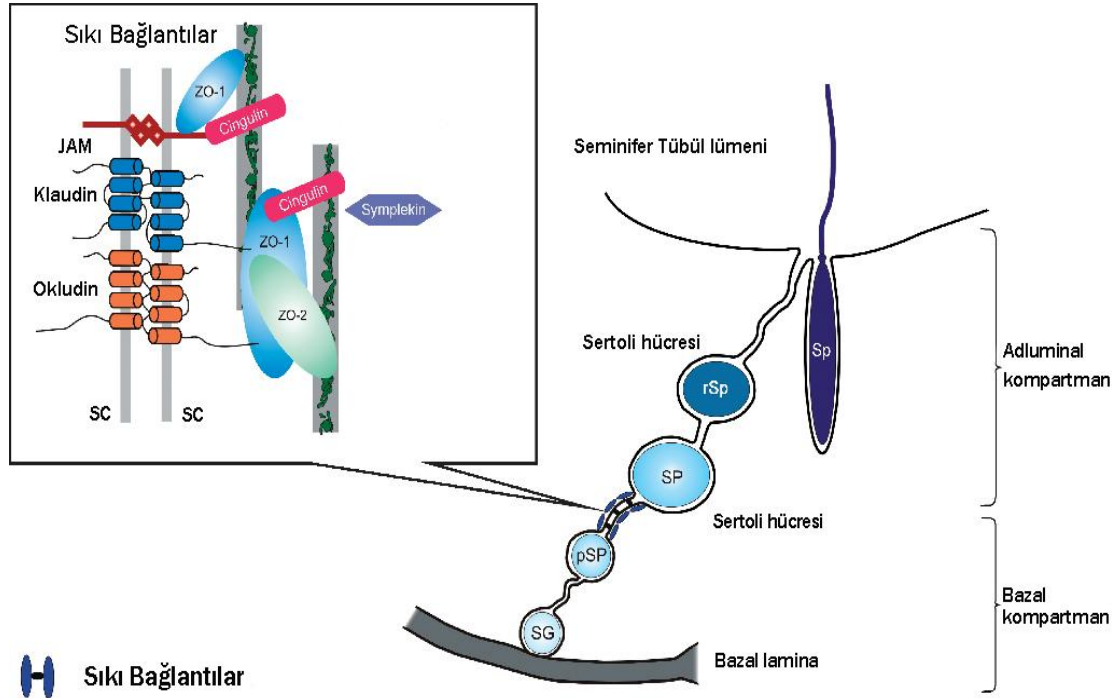
Sertoli hücre bariyeri böylece seminifer epiteli bir otoimmün reaksiyondan korumuş olur.

Kan ile seminifer tübüllerin iç bölgesi arasında bir bariyerin bulunması, sıvı içine kandan çok az maddenin geçmesini açıklayan bir olgudur. Testiküler kapillerler pencere tiptedirler ve büyük moleküllerin serbest olarak geçişine izin verirler. Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar (*tight junctions*) bu bariyerden sorumludurlar. Erkek germ hücrelerinin kandan gelen zararlı ajanlara karşı korunmasında önemli rol oynarlar (30).

Seminifer epitelyumdaki sıkı bağlantılar, membrana en yakın konumdaki lokalizasyonu ile diğer sıkı bağlantılardan farklıdır. Sıkı bağlantılar, bazal laminanın yanındaki seminifer epitelyumun bazal kompartmanındaki Sertoli hücreleri arasında bulunur. Seminifer tübüldeki sıkı bağlantılar seminifer epitelin bazaline yakın bulunan Sertoli hücrelerinin sıkı bağlantılarıyla oluşur. Bu sıkı bağlantılar seminifer epiteli bazal ve adluminal kompartman olarak iki bölüme ayırır. Bazal bölümde spermatogonyumlar ve preleptoten spermatositler bulunurken adluminal bölümde diğer germ hücreleri bulunur (30). Testisteki sıkı bağlantı bölgesinde periferik membran proteinler dizisi ve 3 farklı sıkı bağlantı integral membran proteinlerinden oluşur. Bunlar; zonula okludens çeşitleri olan, zonula okludens-1 (ZO-1), zonula okludens-2 (ZO-2), okludin, kladin gibi sıkı bağlantı proteinleridir (Şekil 4). Sıkı bağlantıların en yüzeyde olanı zonula okludens'tir. Ağa benzer bir yapı oluşturacak şekilde katlanma ve kıvrılmalar gösterir. Kabartı ve olukların sayısı ve kaynaşma yerleri epitelyumun sıvı alışverişi ile çok yakından ilgilidir. Sıkı bağlantının esas fonksiyonu oldukça sıkı bir tutunma meydana getirmek böylece epitelyum hücreleri arasından her iki yöne doğru madde geçişini engellemektir. Bazı epitellerde elektriksel potansiyeller epitelin molekül transport yeteneğini etkileyerek moleküllerin epitelden geçişini düzenler (45).

Sıkı bağlantı bariyerinde yer alan okludinin kan testis bariyerinin regülasyonunda çok önemli rolü vardır. Okludin ile direkt bağlantısı olan diğer sıkı bağlantı proteinleri arasında bulunan bağlantı komponentleri ZO-1 ve ZO-2'dir (24). Okludinin C-terminal bölgesi, bazolateral membranda Okludin'in hedefi olarak ZO-1'e bağlanır ve sıkı bağlantıda okludin lokalizasyonu için ZO-1'in varlığı gereklidir.

Farede okludin Sertoli hücrelerinin bazal bölgelerinde bulunur ve maturasyonla yoğunluğu artar. Sıçan Sertoli hücrelerinde de benzer bulgular göstermesine rağmen, insan ve kobayda Sertoli hücresinde okludinun bulunmadığı bildirilmiştir (55). Testis sıkı bağlantılarındaki okludin izoformları türe özgüdür. Testiste okludin Sertoli hücreleri arası bağlantı bölgesinde bazal olarak çok kuvvetli immunreaktivite gösterir. Sertoli hücrelerinin sitoplazmalarında da yaygın bir immunreaktivite görülebilir. Okludinun analog patterni olan ZO-1 immnureaktivitesi Sertoli hücreleri arası bağlantı bölgelerinde, sitoplazmasında ve subselüler alanda daha yoğun olarak görülmektedir (21, 60, 73).



Şekil 4. Sıkı bağlantıların seminifer epitelyumdaki yapılarını ve bunların adherens bağlantılarını ve dezmozomlardaki lokalizasyonunu gösteren diafragmatik çizimi (22).

#### 4.2. Testis Embriyolojisi

Cinsiyetin farklanması, bazıları otozomal olan çok sayıda genin rol oynadığı kompleks bir süreçtir. Seksüel diformizmin anahtarı kısa kolunda SRY genini (Sex-determining region on Y) taşıyan Y kromozomudur. Embriyoda genetik ve kromozomal

cinsiyet spermin sahip olduğu X veya Y kromozomuna bağlı olarak fertilizasyonda belirlenir. Fertilizasyonda genetik ve kromozomal cinsiyet belli olmasına rağmen, embriyonun erkek ve dişi morfolojik karakteristikleri, embriyonik 7. haftaya kadar gelişime başlamazlar. Genital sistem erken dönemde her iki cinste de birbirine benzer. Bu nedenle genital sistemin gelişiminin başlangıç periyodu “seksüel gelişimin farklanmamış periyodu” olarak adlandırılır. Erkek fenotipinin gelişimi için Y kromozomuna ihtiyaç vardır. Y kromozomu, farklanmamış gonadın medullası üzerinde testis belirleyici etkiye sahiptir. Bu kromozom tarafından düzenlenen testis belirleyici faktör (TDF), testiküler farklılaşmayı sağlamaktadır. Sonuçta, seks kromozom kompleksinin tipi fertilizasyonla sağlanır, bu da farklanmamış gonadın hangi yönde gelişeceğini belirler.

Gonadların köken aldığı kaynaklar aşağıdadır.

- Posterior abdominal duvarın mezotel epitelyumu (mezodermal epitel)
- Altındaki mezenşim (embriyonik bağ dokusu)
- Primordial germ hücreleri

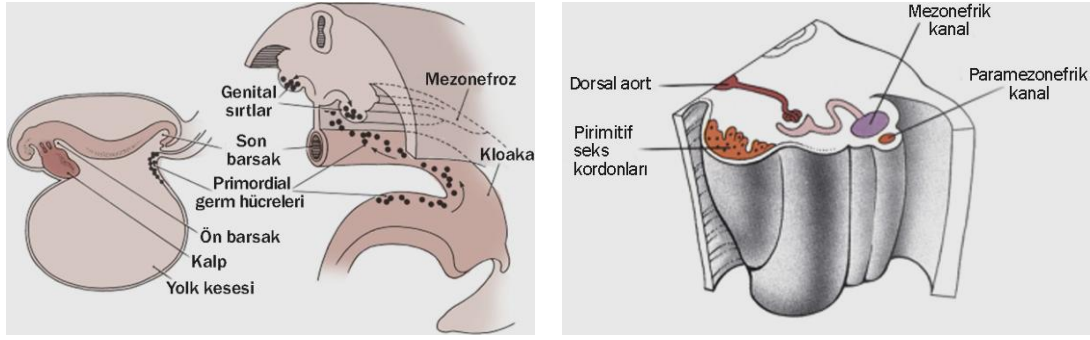
Embriyonun 5. haftasında gonadal gelişimin ilk safhaları ortaya çıkar. Mezonefrozun medialinde, mezotelde bir kalınlaşma ile başlar. Bu epitelin ve altındaki mezenşimin proliferasyonu ile mezonefrozun medialinde bir kabarıklık - gonadal (genital) kabartı - oluşur. Parmak şeklindeki epitelyal kordonlar - primer seks kordonları - altındaki mezenşim içerisine doğru kısa sürede büyürler. Farklanmamış gonad şimdi, dışta yer alan bir medulladan oluşmaktadır. Eğer embriyo XX seks kromozom kompleksine sahip ise, farklanmamış gonadın korteksi overe diferansiye olur, medullası geriler. Embriyo XY seks kromozom kompleksini içermekteyse, medulla testise farklanır, korteks bir takım kalıntıları dışında geriler ve dejenere olur.

Oldukça geniş, yuvarlak primitif seks hücreleri 4. hafta başında vitellus kesesi duvarında allantoisin başlangıç yerine yakın, endodermal hücreler arasında ortaya çıkarlar. Embriyonun katlanmaları sırasında vitellüs kesesinin dorsal parçası embriyo içerisine dahil olur. Bu olurken, primordial germ hücreleri, arka bağırsağın dorsal mezenterisi boyunca gonadal kabartılara göç ederler. Altıncı haftada primordial germ

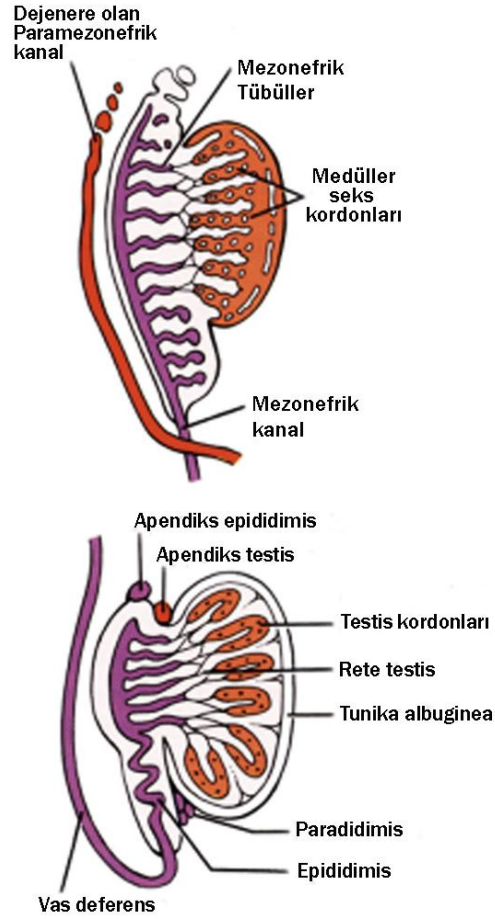
hücreleri altındaki mezenşim içerisine girerler ve primer seks kordonlarına dahil olurlar (Şekil 5).

Y kromozomu taşıyan embriyolarda, genellikle testisler gelişmektedir. Testislerin gelişimi koordineli bir seri genin indüksiyonu ile sağlanır. Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki testis belirleyici faktörler için SRY geni, farklanmamış gonadın testis olarak gelişiminde bir anahtar fonksiyonu görmektedir. Testis belirleyici faktör (TDF), primer seks kordonlarını uyararak, onların farklanmamış gonadın medulla derinlerine doğru uzamasına neden olur, kordonlar burada dallanarak birbirleriyle anastomoz yaparlar ve böylece rete testis oluşur. Seks kordonlarının (semifer- testiküler -kordonların) kalın bir fibröz kapsül olan tunika albuginea geliştikten sonra, yüzey epiteli ile olan bağlantıları kaybolur. Yoğun tunika albuginea gelişimi fetusta testiküler gelişim için oldukça karakteristiktir. Genişleyen testis aşamalı olarak dejenere olan mezonefroz'dan ayrılır ve kendi mezenteri olan mesorşiyum ile asılı hale geçer. Seminifer kordonlar, seminifer tübüllere, tübülü rekti ve rete testise farklanırlar (Şekil 6).

Seminifer tübüller, interstisyel hücreleri (Leydig hücreleri) oluşturan mezenşimden ayrılırlar. Sekizinci haftadan itibaren Leydig hücreleri, androjenik hormonlar olan testosteron ve andosteron salgılamaya başlarlar, bu hormonlar mezonefrik duktusların ve dış genitalerin maskulin olarak farklanmasını indüklerler. Testosteron üretimini insan koryonik gonodotropin (hCG) hormonu stimüle eder, hormonun miktarı 8-12 haftalık periyod'da en yüksek değerine ulaşmıştır. Testosterona ilaveten fetal testisler glikoprotein bir hormon olan antimüllerian hormon (AMH) veya Müllerian İnhibitör Faktör (MİF) adı verilen bir hormonu da salgılamaktadır. Antimüllerian hormon, Sertoli hücreleri tarafından salgılanır, hormonun salgılanması puberteye kadar devam eder, daha sonra ise seviyesi azalır. AMH, paramezonefrik duktusların gelişimini baskılar.



Şekil 5: Testis gelişiminin şematik gösterimi (59).



Şekil 6: Testis gelişimi. Seminifer kordonların, seminifer tübüllere, tübüli rekti ve rete testise farklılaşması (40).

Seminifer tübüller, puberteye kadar solid halde kalırlar, puberteden itibaren lümen gelişir. Seminifer tübül duvarında iki tip hücre bulunur.

- **Sertoli hücreleri:** Destek hücreleri olan bu hücreler, testisin yüzey epitelinden gelişirler.
- **Spermatogonia:** Primordial sperm hücreleri olan bu hücreler, primordial germ hücrelerinden farklırlar.

F tal testiste, Sertoli hücreleri, seminifer tübüllerde çoğunluğu oluşturur. Daha sonraki gelişme sırasında, testisin yüzey epiteli düzleşir ve yetişkin testisin dış yüzeyindeki mezoteli oluşturur. Rete testis, efferent duktusları oluşturan 15-20 adet mezonefrik tübül ile devam eder. Bu duktuslar, duktus epididimisi oluşturan mezonefrik duktus ile ba lanırlar (53, 64).

#### 4.3. Vazektomi

Vazektomi, dünyada giderek daha sıklıkla kullanılan güvenilir, etkili ve kalıcı bir aile planlaması yöntemidir. Dünya Sağlık  rg t n n (WHO) 1991 yılındaki verilerine göre tüm dünyada vazektomi yaptıranların sayısı 50 milyon civarındadır. Günümüze kadar bu sayının 100 milyonu aşmış olacağı düşünülmektedir. Amerika'da yılda ortalama 500000 civarında, İngiltere'de ortalama 40000 civarında vazektomi yapılmaktadır (12, 81, 82).

Vazektomi operasyonu lokal anestezi altında uygulanan bir yöntemdir. Bu işlemdede vas deferensin devamlılığı engellenerek spermatozoonların geçişine engel olunur. Hasta genel olarak hastanede yatmak zorunda kalmadan işlem biter. Bu cerrahi işlem ile hastanın maksimum güvenlikte steriliteye ve en az operasyon sonrası komplikasyona sahip olması hedeflenir.

Vazektomi işlemi için uygulanan cerrahi teknikler řu şekildedir.

- No-scalpel tekniği ( nsizyonsuz Vazektomi)
- Suture ligature
- Cerrahi klip (tutucu)

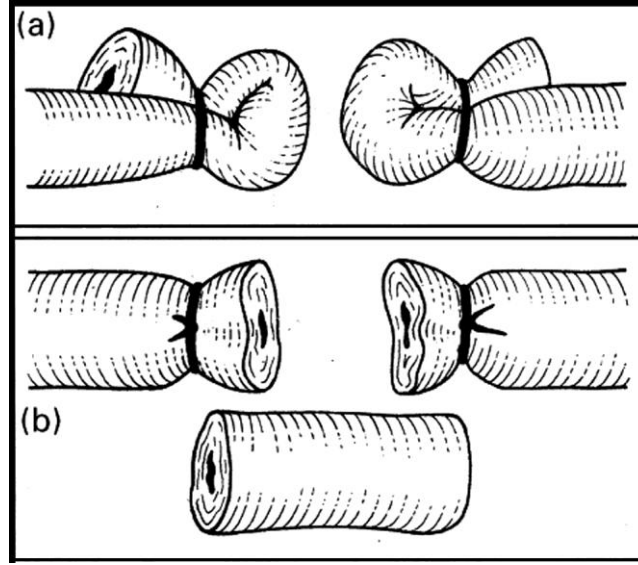


- Isı veya elektro kateter
- Kimyasal tıkkama
- Vas deferens tıkkacı
- Vas deferens eksizyonu (kesip çıkarma)
- Açık uçlu vas deferens
- Fasial müdahale

Bunlar arasında düşük maliyeti, iş gücü kaybını azaltması, klasik vazektominin komplikasyonlarını en aza indirmesi ve operasyon süresini yarı yarıya azaltması nedeniyle “no-scalpel” vazektomi (insizyonsuz vazektomi) tekniği seçkin bir yöntemdir (52). Genel olarak kullanılan tüm metotlarda vas deferensin devamlılığının bozulması sağlanır. Bu metotlar, vas deferensin bir kısmının kesilip çıkartılması ve uçlarının bağlanması şeklinde olabileceği gibi, ilave olarak lazer veya ısı kullanılarak veya perkütan vazektomide olduğu gibi vas deferens içine fenol-siyanoakrilat verilerek kimyasal tıkanıklık oluşturulması şeklinde uygulanabilir. Genelde geri dönüşümsüz olarak kabul edilen vazektomi tekniği bazı durumlarda hastanın isteğine bağlı olarak geri döndürülebilir. Bunun içinde metot geliştirme çalışmaları içinde, mekanik kapak kullanımı yoğunluk kazanmıştır (14, 24, 38, 39).

Vazektomi uygulamaları içinde en sık uygulanan teknik, insizyonel bağlama tekniğidir. Bu teknikte vas deferens ortaya çıkarılır. Yaklaşık 2-4 cm kesilir ve uçları U şeklinde geriye çevrilir. Bu şekilde kendi üzerinde bağlanır (Şekil 7). Burada önemli olan çıkarılan kısmın uzunluğudur. Çünkü bu işlemde sonra rekanalizasyon (vas deferensin uç uca gelerek kaynaşması ve tekrar kanal oluşturması) riski ortaya çıkabilir. Çıkartılan parça kısa olursa rekanalizasyon riski artar fakat eğer kişi ilerideki hayatında vazovazostomi isterse başarılı bir geri dönüşüm için olanak sağlar. Sadece insizyonel bağlama metodu kullanıldığında, bir süre sonra bağlama dikişlerinden sonraki uçlar nekroze olup dökülebilir. Ardından rekanalizasyon riski artabilir. Eğer rekanalizasyon riskini en aza indirmek istiyorsak bu uygulama esnasında ısı uygulaması da yapmak gerekir (82).

Vazektomi uygulamasında hangi yöntem kullanılırsa kullanılsın, doğum kontrolündeki başarı oranı %97.2–99 arasında değişmektedir. Eğer yapılan cerrahi



Şekil 7. a) Duktus deferensin kesilen uçlarının U şeklinde geriye götürülerek bağlanması. b) Duktus deferensin yan yana iki yerden bağlanıp aradaki parçanın (2-4 cm) çıkarılması (82).

işlemin etkin olup olmadığı görülmek isteniyorsa işlem sonrası 4-6 hafta ara ile ejakülatta sperm araması yapılarak en az iki defa azospermi saptanması gerekmektedir. Üç ay sonrasında ejakülatta hareketli sperme rastlanıyorsa cerrahi işlemin tekrarlanması uygundur. Eğer az sayıda hareketsiz sperme rastlanırsa her 3 ayda tekrarlanması gerekir.

Vazektominin erken dönemde en sık görülen komplikasyonu hematomdur. Diğer sık görülen komplikasyon ise enfeksiyondur. Görülebilecek komplikasyonlar kangren, sifiliz ve endokardit şeklinde sıralanabilir. Görülme sıklığı biraz da cerrahi işlemi uygulayan hekimin deneyimine bağlı olarak değişir. Daha geç dönemde görülebilecek komplikasyon çeşidi ise sperm granüloması oluşumudur. Spermin vas deferensin testiküler ucundan dışarı çıkması, sahip olduğu güçlü antijenik özellik nedeniyle yoğun enflamatuvar reaksiyon başlatmaktadır. Bunun sonucunda sperm granülomaları oluşur. Vazovazostomi işlemi sırasında görüldüğü kadarıyla, insanda %10-30 oranında sperm granülomaları oluşmaktadır. Geçen zamana bağlı olarak vazektomi yaptıran tüm erkeklerde görülebileceği düşünülmektedir. Bu sperm granülomaları vazektomi ucunda, epididimiste ve rete testiste oluşabilmektedir. Eğer vazektomi sonrası sperm granüloması meydana gelirse seminifer tübül hasarı en az

düzeyde izlenmektedir. Nadir olarak granüломaya bağı olarak ağrı yakınması olabilmektedir. Eğer böyle bir durum yaşanır oluş granüломaların çıkartılması gerekmektedir (7, 24, 34, 82).

Vazektominin uzun dönemdeki etkileri şöyledir.

- **Vasitis nodosa:** Vazektomiden sonra sıklıkla görülmekle birlikte ağrı veya herhangi bir bozukluğa neden olmaz.
- **Testiküler fonksiyonda bozulmalar:** İnsanda vazektomi sonrası artan lümen içi basıncın seminifer tübüllere iletilmediği araştırmalarla gösterilmiştir. Vazektomiden 15 yıl sonra yapılan bir çalışmada, ışık mikroskopik olarak normal bulgulara rastlanmasına rağmen, elektron mikroskopik düzeyde bazal laminada kalınlaşma ve spermatogenezisin durduğu bölgeler olduğu bulunmuştur.
- **Kronik testis veya epididimis ağrısı**
- **Antisperm antikorlarında yükselme:** Vazektomi kan-testis bariyerini bozmakta ve yaklaşık olarak %60-80 arası kişide antisperm antikorları yüksek oranda görülmektedir. Bazı araştırmacılar antikor yüksekliğinin 2 yıl sonra düştüğünü savunmaktadırlar.
- **Prostat kanseri:** Cerrahi işlemin üzerinden 20 yıl geçmiş insanlarda yapılan çalışmalarda, prostat kanseri riskinde azda olsa artış saptanmıştır. Fakat bu durumun vazektomi yaptırmış insanların daha fazla olarak üroloji muayenesine gitmeleri sebebiyle bu şekilde yükselme olduğu düşünülmektedir. Ayrıca yapılan kohort çalışmalarında vazektomi ile prostat kanseri arasında ilişki olmadığı saptanmıştır (17, 24, 74).

Vazektomili erkeklerin yaklaşık %2-6'sının geriye çevirme işlemi olan vazovazostomi operasyonu talepleri olmaktadır. Cerrahi işlemden önce kişiye ürolojik muayene ve bunun yanı sıra semen analizi, serum antisperm antikor, serum FSH bakılması ile kişinin prognozu hakkında bilgi edinilir. En az 2 yıl geçtikten sonra % 63 civarında gebelik oluşma şansı vardır (19, 24, 28, 76).

#### 4.4. Akım Sitometresi (Flow Cytometry)

Akım sitometresi, floresan renk veren maddelerle (fluorokromlarla) işaretli süspansiyon halindeki hücrelerin ışık kaynağı önünden tek tek geçerken verdikleri floresan yoğunluğu ölçümüne dayalı bir analiz yöntemidir (36, 62). Üç ana kullanım alanı vardır. Bunlardan ilki, hücre içi ve hücre yüzeyinde bulunan antikor oluşturabilmiş proteinlerin değerlendirilmesi yanında belli bir yüzey antijen proteini taşıyan hücre topluluklarının spesifik antikorlarla diğerlerinden ayırt edilmesidir. İkincisi fonksiyonel çalışmalarda oksidatif burst, fagositoz, hücre içi  $Ca^{+2}$  ölçümü vs'dir. Üçüncüsü de hücre siklus analizi ve DNA ploidi değerlendirmeleridir (62).

DNA miktarının nicel ölçülmesinde propidyum iodid, ethidyum bromid, mitramisin gibi fluorokrom boyaların çift sarmallı DNA'ya rastgele bağlanması ile elde edilen floresans yoğunluğu hücredeki DNA yoğunluğuyla doğru orantılı olduğundan, bilgisayar ekranına yansıyan değerler hücrelerin siklus içindeki dağılımını verir. G0/G1 deki hücreler X miktar DNA'ları ile belli X miktar floresan alırlarken teorik olarak G2+M fazındaki hücreler 2X boyanır. Her iki zirve arasında yayılan hücreler ise S fazını verir (29, 50).

Flow sitometri ile sayılan binlerce hücrenin dağılımı bir histogram ile görülür. Dağılım önceden tanımlanmış bir matematiksel fonksiyona oturtmaya çalışılarak değerlendirilir. Hücre siklus analizlerinde incelenen sentez fazı (S) ve hücre büyüme fazı (S+ G2/M) proliferatif aktivitenin kantitatif olarak tanımlanmasında kullanılır.

Flow sitometrik yöntem taze dokulara veya fikse edilmiş parafine gömülü dokulardan elde edilen kesitlere uygulanabilir. Günümüzde onkolojik bilimlerde tümör tipini ve evresini tanımlamada sıklıkla kullanılmaktadır (10).

#### 4.5. TUNEL Metodu

Apoptozis, gereksiz ya da uyuşmayan hücreleri elimine eden programlanmış hücre ölümü formudur. Ölüm faktörleri, yaşam devamlılığı, eksternal büyüme gibi aktif cevaplardan kökenlenen efektör yolaklar veya çoklu sinyaller tarafından kontrol edilirler.

Apoptozisin tanımlanan karakteristiği hücrel morfolojinin tamamen değişmesidir. Elektron mikroskopik incelemelerde, hücrenin büzüşmesi, kromatin marjinasyonu, membran kabarcıklaşması, nükleer kondensasyon ve sonra segmentasyon ve apoptotik cisimlere bölünmesi ki bazen fagosite edilebilmesiyle karakterizedir. Apoptoziste DNA fragmentasyonu, hücrel morfolojideki ultrastrüktürel değişikliklerle ilişkilidir. Apoptoziste ortaya çıkan DNA fragmentasyonunu göstermenin bir yolu da TUNEL (*Terminal deoxynucleotidyl transpherase-mediated deoxyuridine triphosphate (dUTP) nick-end labelling*) metodudur.

Apoptozis hasar indüklü hücre ölümü (nekroz)'nden farklıdır. Apoptozisin nekrotik hücre ölümünden çeşitli morfolojik ve biyokimyasal farklılıkları vardır.

Bu yöntemle, DNA kırıklarının serbest 3'OH uçları modifiye nükleotidlerle enzimatik olarak işaretlenir. DNA fragmentasyonundan kökenlenen bu yeni DNA uçları, morfolojik olarak gözlenebilen çekirdeklerde ve apoptotik cisimciklerde bulunurlar. Bu yöntemle kromatin kondensasyonu oluşmuş ve DNA kırıkları bulunan erken evre apoptozise özgüdür. Daha sonra çekirdekte major morfolojik değişiklikler oluşmaya başlar (6, 13).

TUNEL metodu, kimyasal olarak işaretlenmiş ve işaretlenmemiş nükleotidler kullanılarak serbest 3'OH uçlarının işaretlenmesi prensibine dayanır. Reaksiyon tamponuna eklenmiş olan nükleotidler, terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) kullanılarak enzimatik olarak DNA'ya bağlanması sağlanır. TdT tek sarmallı ya da çift sarmallı DNA'nın 3'OH uçlarına serbest olarak eklenen nükleotid trifosfatları katalizler. Serbest olarak bulunan nükleotidler digoksinin-konjugat eklenmesiyle bir oligomer oluştururlar. Daha sonra digoksinin ile konjuge olan nükleotidler peroksidaz reaksiyonu verebilen anti-digoksinin antikoru ile bağlanması sağlanır. Böylece bağlanmış peroksidaz antikoru, immunohistokimya ve immunositokimya hassas görünüm sağlayan kromojenik substratlarla bağlanması sağlanır. Sonuç olarak apoptotik cisimciklerde çok yüksek oranda bulunan 3'OH uçlarının hassas ve spesifik boyanması sağlanır (Şekil 8) (67).



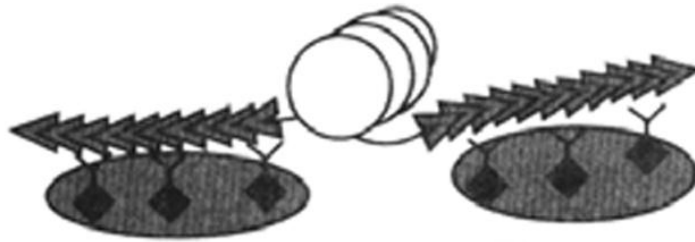
**Apoptosis sonucu  
DNA fragmanlarının ortaya çıkması**



**Digoksigenin-dNTP ile kuyruk oluşması**



**Antikor konjugatıyla bağlanması**



**Kromojen ile boyanması**

Şekil 8. TUNEL methodunun prensibinin şematik gösterimi (4).

## 5. GEREÇ VE YÖNTEM

### 5.1. Deney Hayvanları

Çalışmanın yapılabilmesi için Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (31.05.2006- 22.2006.mar). Bu çalışmada kullanılmak üzere Marmara Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvarından alınan 350-500 gr ağırlığında toplam 36 adet Wistar-albino ırkı erkek sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar uygun kafesler içinde, 12 saat ışık-karanlık ortamda, standart sıçan yemi ile beslenmişler ve musluk suyu içmişlerdir.

### 5.2. Deney Grupları

**Kontrol Grubu:** (n=18) sıçanlara kontrol grubu olarak kullanılmak üzere, genel anestezi altında batının açılıp kapatılması şeklinde sham operasyonu uygulanmıştır. Kontrol grubundaki hayvanlar vazektomi grubu ile birlikte 1 ay, 3 ay ve 6 ay sonra sakrifiye edilerek testis dokuları incelenmiştir.

**Vazektomi Grubu:** (n=18) sıçanlara bilateral vazektomi uygulanmıştır. Her bir grupta 6 adet hayvan olmak üzere 1 ay, 3 ay ve 6 ay sonra sakrifiye edilmiştir.

### 5.3. Sıçanlara Vazektomi Operasyonunun Yapılması

Sıçanları derin anesteziye sokmak için 0.15 ml Rompun (%2) ve 0.30 ml ketasol (%10) intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Sırt üstü yatar pozisyonda olan hayvanların karın bölgesi % 70 alkol ile temizlenmiştir. Yaklaşık olarak penisin 2 cm üst kısmından 2 cm uzunluğunda transvers kesi yapılmıştır. Deri ve karın duvarı açılarak karın boşluğuna ulaşılmıştır. İlk önce bir taraftaki yağ dokusu pensle tutulup çekilmiştir. Testis, vas deferens ve epididimis bu doku ile beraber gelmiş ve dışarı alınmıştır. Vas deferensin altına pens konulmuştur. Pensin uçları arasında kalan kanalın her iki başına yaklaşık 1 cm ara ile ipek iplik (5.0) ile düğüm atılmıştır. Arada kalan kısım kesilerek çıkartılmıştır. Aynı uygulama diğer testis için de yapılmıştır. Organlar karın içine yerleştirilerek karın duvarı ve deri, katküt (3.0) ile dikilmiştir (78). İşlemin ardından dikiş atılan bölge antiseptik sıvı ile temizlenmiştir.

Olası sıvı kaybı için sırt bölgesinden 10 ml serum fizyolojik verilmiştir. Operasyonu takip eden 2 gün yakın takipleri yapılmıştır. Testis kontrolü günlük yapılırken bir hafta içinde testislerin skrotuma indiği gözlenmiştir.

#### 5.4. Işık mikroskopik Preparasyon ve Histolojik Skorlama

Tüm gruplardan alınan sağ testisler ışık mikroskopik incelemeler için hazırlanmıştır. Dokular Bouin fiksatifinde 24 saat fikse edilmiştir. Distile suda hazırlanmış % 1 lityum karbonat içeren solüsyonda sarı renk gidene kadar tutulduktan sonra yükselen alkol serilerinden (%70, %90, %96, %100) geçirilerek dehidrate edilmiş, toluen ile şeffaflaştırılmış, 60°C'lik etüvde parafinde gece boyunca bekletildikten sonra oda ısısında parafin içine gömülerek bloklanmıştır. Parafin bloklardan yaklaşık 5 µm kalınlığında alınan her 5 kesitte biri toplam 5 kesit genel morfolojik değerlendirme ve kantitatif analiz yapabilmek için Hematoksilin-Eosin (H&E) boyası ile boyanmıştır. Bağ dokusundaki değişiklikleri göstermek için Masson trikrom boyasıyla, bazal membrandaki değişiklikleri göstermek için periyodik asit Schiff (PAS) reaksiyonu ile boyanmışlardır (16). H&E boyalı kesitlerden imaj programı (NIH Image Analysis) kullanılarak testis alanı ölçülmüştür. Her kesit saat yönünde kaydırılarak rastgele seçilen 5 benzer alandaki seminifer tübüllerde histolojik hasar skorlaması x 200 büyütmede Rex A. Hess (1988)'in çalışmasından modifiye edilerek aşağıdaki gibi yapılmıştır (41).

- 1) **Normal:** Normal spermatogenezis ve hücreler arası bağlantı
- 2) **Regresif:** Seminifer tübüllerin bir veya birden fazla bozukluk içermesi: hücreler arası bağlantı normal olmakla birlikte gevşek hücrel organizasyon, hücrel dejenerasyon (piknotik çekirdek, granüler eozinofilik sitoplazma, karyolizis)
- 3) **Dejeneratif:** Düzensiz yerleşimli ve hücreler arası bağlantısı olmayan az sayıda germ hücreleri ve Sertoli hücreleri.
- 4) **Atrofik:** Sadece Sertoli hücreleri, ya nadiren germ hücreleri ve Sertoli hücreleri ya da az sayıda hücrel bağlantıları olmayan germ hücreleri ve Sertoli hücreleri.



## 5.5. Okludin İmmunohistokimyası

Deney gruplarından alınan sol testisler immunohistokimya için %4 paraformaldehid içerisinde 72 saat fikse edilmişlerdir. Pozitif şarjlı lamlara alınan 5 µm kalınlığında parafin kesitler 1 gece boyunca 56 °C'lik etüvde bekletilmiş, deparafinize etmek amacıyla toluende 30 dakika tutulmuş, saf alkol ve %96'lık alkolde 15 dakika bekletildikten sonra distile suya alınmıştır. Kesitler proteaz (1mg/ml, Sigma) enziminde 10 dakika inkübe edilmiştir, PBS ile yıkandıktan sonra %3 hidrojen peroksitte 10 dakika, PBS'de yıkama işleminden sonra bloklama solüsyonunda (Scy Tek Ultra Tek HRP, anti-polivalent, UHP 125) 15 dakika bekletilmiştir. Tavşan anti-okludin (1:100, Zymed laboratories) primer antikorunda 6 saat +4 °C'de bekletilmiştir. Kesitler 3 kere 5'er dakika PBS'de yıkandıktan sonra keçi anti tavşan sekonder antikorunda 25 dakika, PBS ile yıkamadan sonra, streptoavidin peroksidazda (Scy Tek Ultra Tek HRP, anti-polivalent, UHP 125) 25 dakika, PBS ile yıkandıktan sonra, AEC kromojeninde (20 µl AEC kromojen + 1 ml AEC substrat tamponu) (Scy Tek ACJ 125 AEC Chromogen/substrate Bulb Pack, USA) 15 dakika beklemiş, distile suda yıkama işleminden sonra, kesitler Keiser gliserin jel (Merck) ile kapatılmıştır.

## 5.6. TUNEL Yöntemi

Pozitif şarjlı lamlara alınan 4 µm kalınlığında kesitler ksilen ile deparafinize edilmiş, inen alkol serilerinden geçirilerek rehidrate edilmiş ve PBS ile yıkanmıştır. TUNEL metodu üretici firmanın (Apoptag Plus Peroksidaz *In situ* apoptosis Kiti, Chemicon International, S7101) verdiği kullanım kılavuzundaki yönteme göre yapılmıştır. Yapılan işlemler aşağıdaki gibidir: Proteinaz K'da (20 µg/ml, Sigma) 15 dakika tutulmuş, distile su ile yıkamadan sonra, kesitler PBS'de hazırlanmış %3'lük hidrojen peroksitte 5 dakika bırakılmış, PBS ile yıkanmış, dengeleme tamponunda 30 dakika bırakılmıştır. Daha sonra tüm kesitler 37°C'lik etüvde terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) enziminde 1 saat tutulduktan sonra, oda ısısında yıkama tamponunda 15 saniye ajite edildikten sonra 10 dakika inkübe edilmiş, PBS'de 3 kere 1'er dakika yıkamadan sonra, antidigoksigenin konjugatta 30 dakika bekletilmiş, PBS'de 2'şer dakikadan 4 kez yıkanmıştır. Kesitler boyama için peroksidaz substratında 6 dakika bekletildikten sonra, 3 kez 1'er dakika distile suda

yıkanmış, sonra Mayer Hematoksilin ile boyanmış ve entellan ile kapatılmıştır (4). Boyalı kesitler saat yönünde kaydırılarak benzer 5 alanda x200 büyütmede TUNEL pozitif hücreler sayılmıştır. Sayılan hücreler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Tüm ışık mikroskopik preparatlar Olympus BX51 fotomikroskop ile incelenerek değerlendirilmiş ve fotograflanmıştır.

### **5.7. Geçirimli Elektron Mikroskobu Preparasyonu**

Sol testislerden alınan doku örnekleri %2,5 'luk 0.1 M PBS tamponlu (pH 7.2) glutaraldehit fiksatifinde 4°C'de 4 saat fiksasyonu yapılmış, tamponda yıkamadan sonra, %1'lik osmiyum tetroksitle 1 saat postfiksasyon yapılmıştır. Yükselen alkol serilerinden (%70, %90, %96, %100) geçirilerek suyu alınmış, propilen oksitten geçirilerek 60°C'deki etüvde epon 812'ye gömülmüştür. Ultramikrotomda (Reichert, Supernova ultramicrotome) alınan yarı ince kesitler (1 µm) toluidin mavisi boyası ile boyanmıştır. Yarı ince kesitlerde yer tayini yapıldıktan sonra bakır gridler üzerine alınan yaklaşık 60 nm kalınlığındaki ince kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlanmıştır (11). İnce kesitler, JEOL 1200 SX TEM ile incelenmiş ve fotoğraflanmıştır.

### **5.8. Akım Sitometresi Yöntemi**

DNA ploidi miktarındaki değişiklikleri ölçmek amacıyla, parafine gömülü dokulardan 40 µm kalınlıkta alınan kesitler, toluen ile deparafinize ve inen alkol serilerinden geçirilerek (%100, %96, %90, %70) rehidrate edilmişlerdir. Proteinaz K, PBS tampon içerisinde (1/10) 37°C'de 30 dakika bekletilen doku kesitleri PBS tampon ile yıkandıktan sonra filtre edilmiş, PBS içerisinde 1500 rpm de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj tüpündeki tampon atıldıktan sonra doku kesitleri üzerine propidyum iodid solüsyonu konularak 15 dakika karanlıkta +4°C'de DNA metaryalinin boyanması sağlanmıştır. Örnekler FacScan cihazıyla incelenmiştir.

## 5.9. Western Blot Analizi

Testisten taze doku örnekleri alınarak -80°C de saklanmıştır. Alınan dokulara proteaz inhibitörü içeren Tris-HCl (pH 7.4) tamponu eklenerek doku ekstraktları hazırlanmıştır. Protein miktarları standart olarak sığır serum albuminin (BSA) kullanıldığı Lowry yöntemi (43) ile belirlenmiştir. %1.25 2-merkaptoetanol ilave edilmiş örnek tamponu ile karıştırılan protein örnekleri kaynayan su içinde 5 dk denature edilmiştir. Örnekler ve protein standardı (MBI-Fermentas) mini-jel elektroforez düzeneğinde hazırlanan SDS-PAGE (% 5 yükleme jeli, % 10'luk ayırma jeli) jeline yüklenerek elektroforez çözeltisi içinde, 150 volt' ta yürütülmüştür. 11x8 cm boyutlarında filtre ve jelin büyüklüğüne uygun olarak nitroselüloz membran kesilmiştir. Elektroforezden sonra jeller çıkarılarak üst jel kesilmiştir. Jel ve nitroselüloz membran 15 dk, filtre kağıtları ve süngerler 5 dk aktarma tamponu içinde bekletilmiştir. Jel kasetindeki gri panelin (katot) üzerine sırasıyla sünger, 3 mm filtre kağıdı, jel, nitroselüloz membran, 3 mm filtre kağıdı ve sünger konularak kaset dikkatlice kapatılmıştır. Kaset aktarma tankına yerleştirilerek tank aktarma tamponu ile doldurulmuştur ve 25 volt'ta, 1.5 saat süresince aktarma yapılmıştır.

Aktarmanın gerçekleşip gerçekleşmediğini anlamak için membranlar Ponso-S boyama çözeltisi ile boyanarak protein bantları gözlemlendikten sonra Tris-Buffered Saline Tween-20 (TBST) tamponu ile yıkanarak, Western emdirimi analizine geçilmiştir. Ayrıca jeller sırasıyla boyama çözeltisi (Coomassie Mavisı) ve boya çıkarma çözeltisi ile çalkalayıcı üzerinde 45 dk oda sıcaklığında ve %10 asetik asit ile 1-1.5 saat, %5 asetik asitte gece boyu yıkanarak da transferin ne kadar gerçekleştiği gözlenmiştir. Özgün olmayan bağlamayı engellemek için membranlar %1 BSA ve %0.05 Tween 20 içeren TBST blok tamponunda gece boyu +4°C'de inkübe edilmiştir.

Okludin protein miktarını saptamak için proteinlerin aktarıldığı nitroselüloz membran tavşan anti-okludin monoklonal antikor (1:250) ile 3 saat etkileştirilmiştir. Sonrasında 3 kez 10'ar dakika TBST tamponuyla yıkama yapılmıştır. Daha sonra membran görüntüleme için alkalin fosfataz anti-tavşan IgG ile 2 saat etkileştirilmiştir. Renklenme reaksiyonu öncesi 3 kez 10'ar dakika TBST tamponuyla

yıkama yapılmıştır. Renklenme reaksiyonu Alkalen Fosfataz Kromojen (BCIP/NBT) renk geliştirici tampon ile gerçekleştirilmiştir.

#### **5.10. İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel analiz Graph- Pad Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) programı kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel analizler için ANOVA testi kullanılmıştır.  $P < 0.05$  anlamlı olarak kabul edilmiştir.

## 6. BULGULAR

### 6.1.Sıçan Ağırlığı

Kontrol grubunda sıçan ağırlığı  $404 \pm 3$  gr iken vazektomi 1 ay grubunda  $385 \pm 4$  gr, vazektomi 3 ay grubunda  $418 \pm 3$  gr, vazektomi 6 ay grubunda  $453.5 \pm 4$  gr'dır. Kontrol grubu ile vazektomi grupları kıyaslandığında sıçan ağırlığında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 1).

### 6.2.Testis Ağırlığı

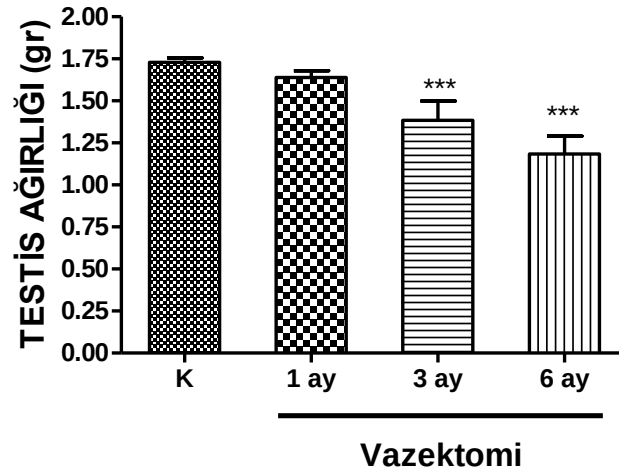
Kontrol grubunda testis ağırlığı  $1.72 \pm 0.02$  gr iken vazektomi 1 ay grubunda  $1.64 \pm 0.006$  gr, vazektomi 3 ay grubunda  $1.39 \pm 0.01$  gr ve vazektomi 6 ay grubunda  $1.19 \pm 0.02$  gr'dır. Kontrol grubu ile kıyaslandığında vazektomi 1 ay grubundaki hayvanların testis ağırlıklarında anlamlı bir düşüş gözlenmezken vazektomi 3 ay ve 6 ay gruplarında kontrol grubuna göre testis ağırlıklarında anlamlı bir şekilde düşüş ( $p<0.001$ ) gözlenmiştir (Tablo 1) (Şekil 1).

### 6.3.Testis Alanı

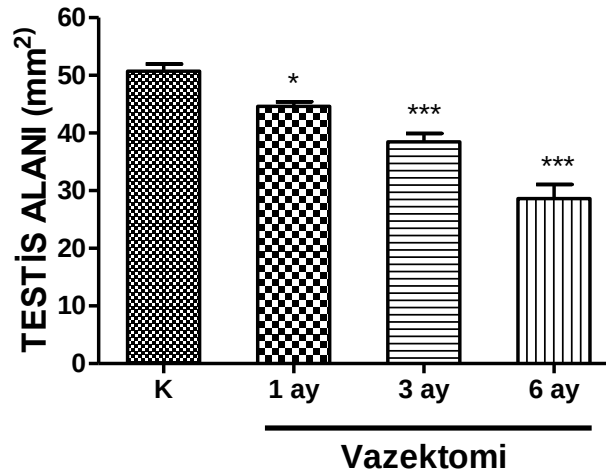
Kontrol grubunda testis alanı  $50.94 \pm 0.5$  mm<sup>2</sup> iken vazektomi 1ay grubunda  $44.61 \pm 1$  mm<sup>2</sup>, vazektomi 3 ay grubunda  $38.48 \pm 0.6$  mm<sup>2</sup>, vazektomi 6 ay grubunda  $28.62$  mm<sup>2</sup> dir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında vazektomi 1 ay grubunda testis alanında anlamlı bir şekilde azalma ( $p<0.05$ ) görülmüştür, vazektomi 3 ve 6 ay gruplarında ise testis alanındaki azalma istatistiksel olarak ( $p<0.001$ ) daha anlamlıdır (Tablo 1) (Şekil 2).

**Tablo 1.** Kontrol grubu ile vazektomi gruplarının sıçan ağırlığı, testis ağırlığı ve testis alanı bakımından karşılaştırılması. (\*)  $p<0.05$  kontrol grubu ile vazektomi 1 ay grubu kıyaslandığında, (\*\*\*)  $p<0.001$  kontrol grubu ile vazektomi 3 ve 6 ay grupları kıyaslandığında.

|                             | Kontrol grubu | Vazektomi 1 ay grubu | Vazektomi 3 ay grubu | Vazektomi 6 ay grubu |
|-----------------------------|---------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Sıçan ağırlıkları ort. (gr) | 404           | 385                  | 418                  | 453                  |
| Testis ağırlıkları ort (gr) | 1.72          | 1.64                 | 1.39 (***)           | 1.18 (***)           |
| Testis alanı $\text{mm}^2$  | 50.94         | 44.61 (*)            | 38.48 (***)          | 28.62 (***)          |



**Şekil 1:** Gruplar arasında istatistiksel analiz yapılmış testiküler ağırlık grafiği. (\*\*\*)  $p<0.001$  kontrol (K) grubu ile vazektomi 3 ve 6 ay grupları kıyaslandığında.



**Şekil 2:** Gruplar arasında istatistiksel analiz yapılmış testiküler alan grafiği. (\*)  $p<0.05$  Kontrol grubu (K) ile vazektomi 1 ay grubu kıyaslandığında, (\*\*\*)  $p<0.001$  kontrol grubu ile vazektomi 3 ve 6 ay grupları kıyaslandığında.

## **6.4. Morfolojik Bulgular**

### **6.4.1. Kontrol grubu**

Işık mikroskopik incelemelerde sham operasyonu uygulanan grupta normal morfolojik yapı gözlenmiştir. Seminifer tübüllerde bulunan spermatogenik seriyi oluşturan, bazalden lümene doğru sırası ile spermatogonyum, primer spermatosit, sekonder spermatosit ve spermatidler gözlenmiştir. Seminifer tübüllerin çoğunluğunda lümende spermatozoa görülmüştür. Sertoli hücreleri normal görünümündedir. Tübüllerin etrafında düzgün görünümde interstisyel bağ dokusu ve bazal membran gözlenmiştir (Resim 1).

### **6.4.2. Vazektomi grubu**

Vazektomi uygulamasından 1 ay sonra, bazı alanlarda dejeneratif seminifer tübüllerin yer aldığı gözlenmiştir. Seminifer tübüllerde spermatogenik hücrelerin bazılarında vakuol görülmüştür. Bir kısım tübüllerde ise spermatogenik serideki hücrelerde kısmi azalma dikkati çekmiştir. Hücreler arası alanlarda yer yer genişlemeler olmakla birlikte genel olarak tübül organizasyonunun düzgün olduğu görülmüştür (Resim 2).

Vazektomi uygulamasından 3 ay sonra, dejeneratif tübüllerin sayısının arttığı gözlenirken atrofik tübüllerin de bulunduğu gözlenmiştir. Seminifer tübüllerde spermatogenik serideki hücrelerde bariz bir azalma dikkati çekmiştir. Çoğu seminifer tübülün lümeninde döküntü hücrelere rastlanmıştır. Spermatogenik serideki hücreler arasında vakuol oluşumu çoğalmıştır. Seminifer tübüllerin kontürlerinin bozulduğu ve bazal membranda orta seviyede kalınlaşma ile interstisyel alanda bağ doku artışı gözlenmiştir (Resim 3).

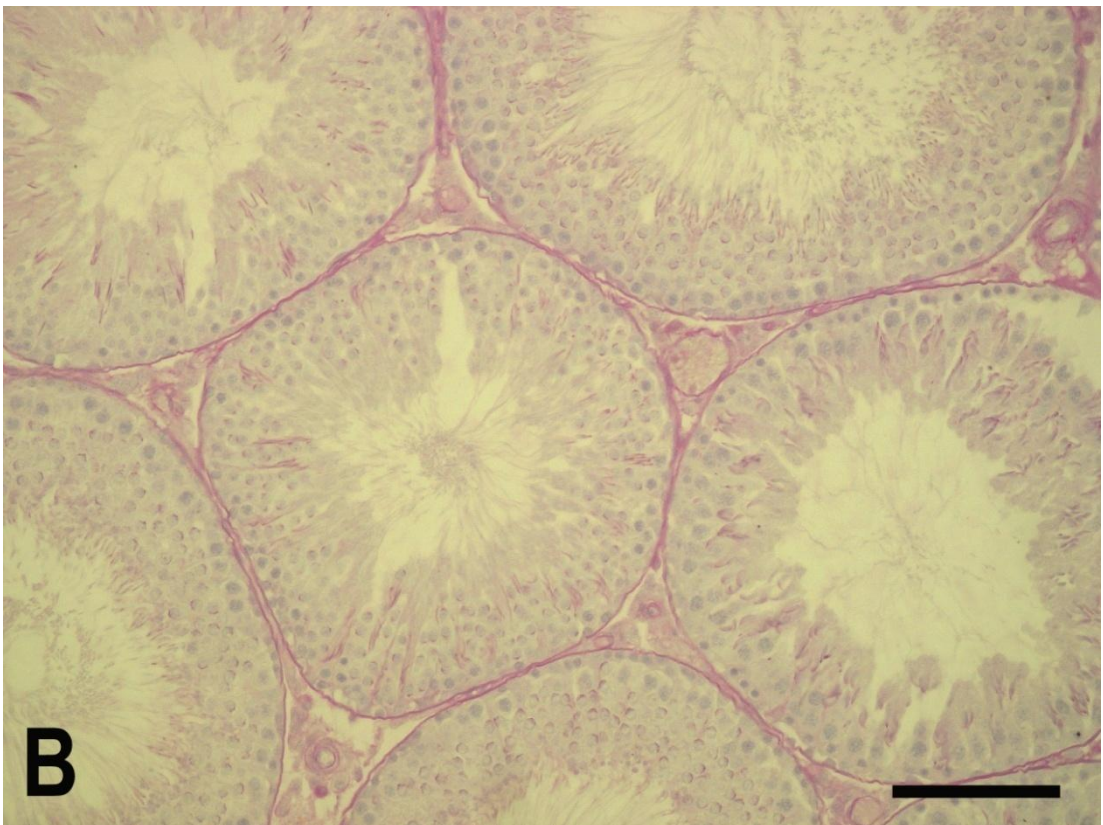
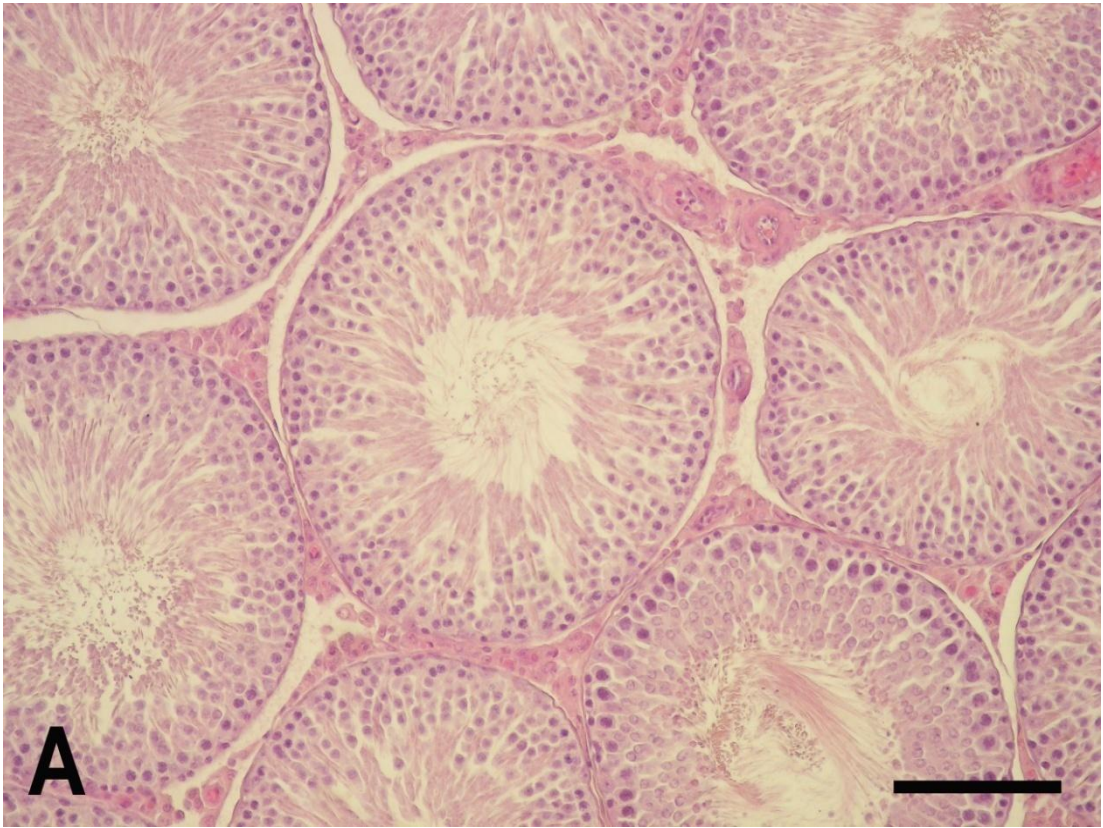
Vazektomi uygulamasından 6 ay sonra, yoğun derecede seminifer tübül dejenerasyonu gözlenmiştir. Atrofik tübül sayısında ciddi artış gözlenmiştir. Atrofik tübüllerde spermatogenik serideki hücreler neredeyse tamamen ortadan kalkmış durumdadır. Seminifer tübül dejenerasyonu ile birlikte spermatogenik hücrelerin sayısında da oldukça azalma görülmüştür. İnterstisyel alanda bağ doku artışının yanında seminifer tübüllerin kontürlerinin oldukça bozulduğu ve bazal membranda ileri derecede kalınlaşma olduğu görülmüştür (Resim 4).

**Resim 1 A, B: Kontrol grubunda,** germinal epiteldeki spermatogonyumların, primer spermatositlerin, sekonder spermatositlerin, spermatidlerin, spermatozoanın, Sertoli hücrelerinin, Leydig hücrelerinin ve seminifer tübül kontürlerinin düzenli yapısı görülmektedir **(A)**. Seminifer tübül duvarı ve bazal membran normal görünümde **(B)**.

**A:** H&E boyası, bar= 100 µm

**B:** PAS reaksiyonu, bar= 100 µm



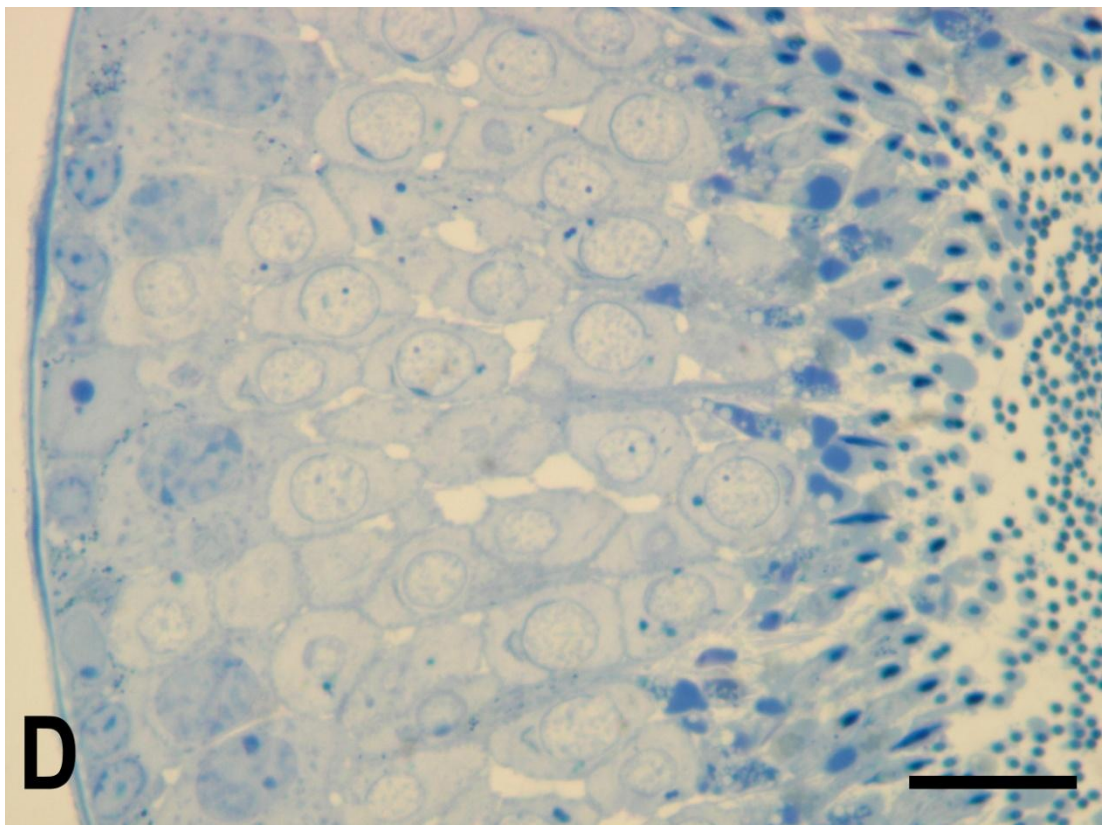
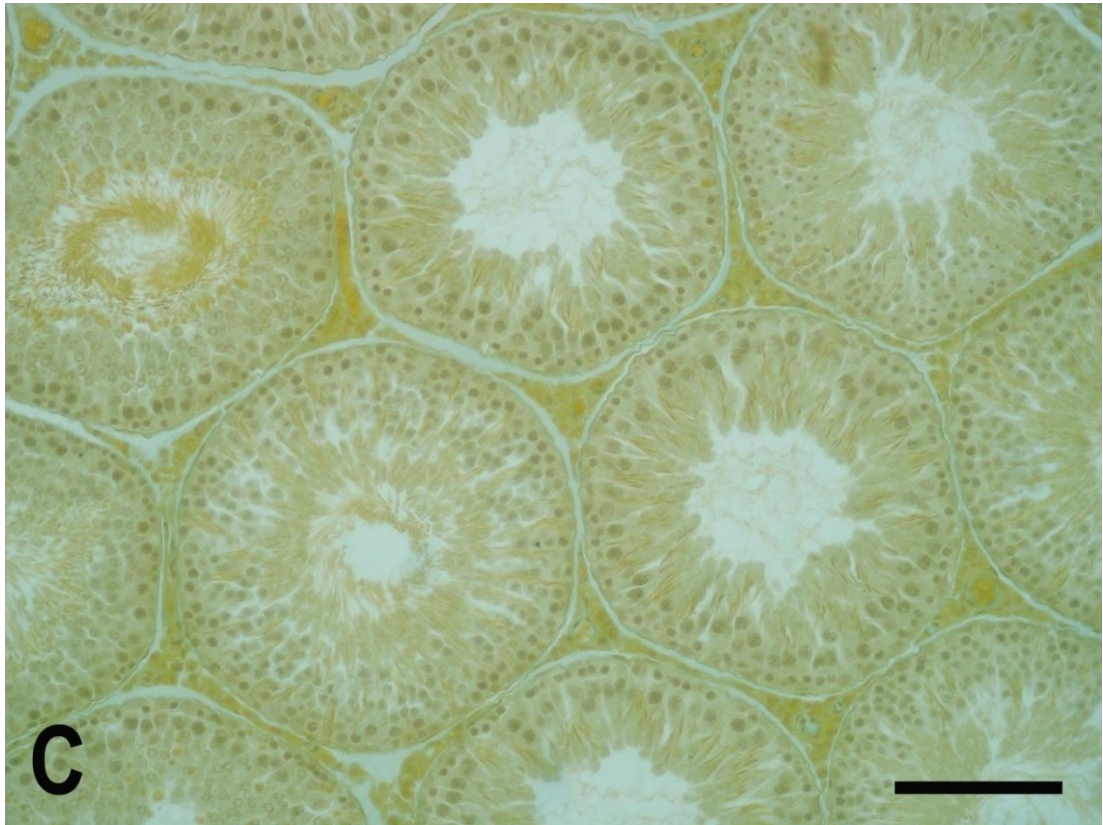


**Resim 1 C, D: Kontrol grubunda;** seminifer tübüller arasındaki interstisyel alanda bağ doku elemanlarının dağılımı normal görünümdedir **(C)**. Spermatogenik seriye ait spermatogonyumların, primer spermatositlerin, sekonder spermatositlerin, spermatidlerin, spermatozoonların ve Sertoli hücrelerinin düzenli yapısı görülmektedir **(D)**.

**C:** Masson trikrom boyası, bar=100  m

**D:** Toluidin mavisi boyası, bar=20  m



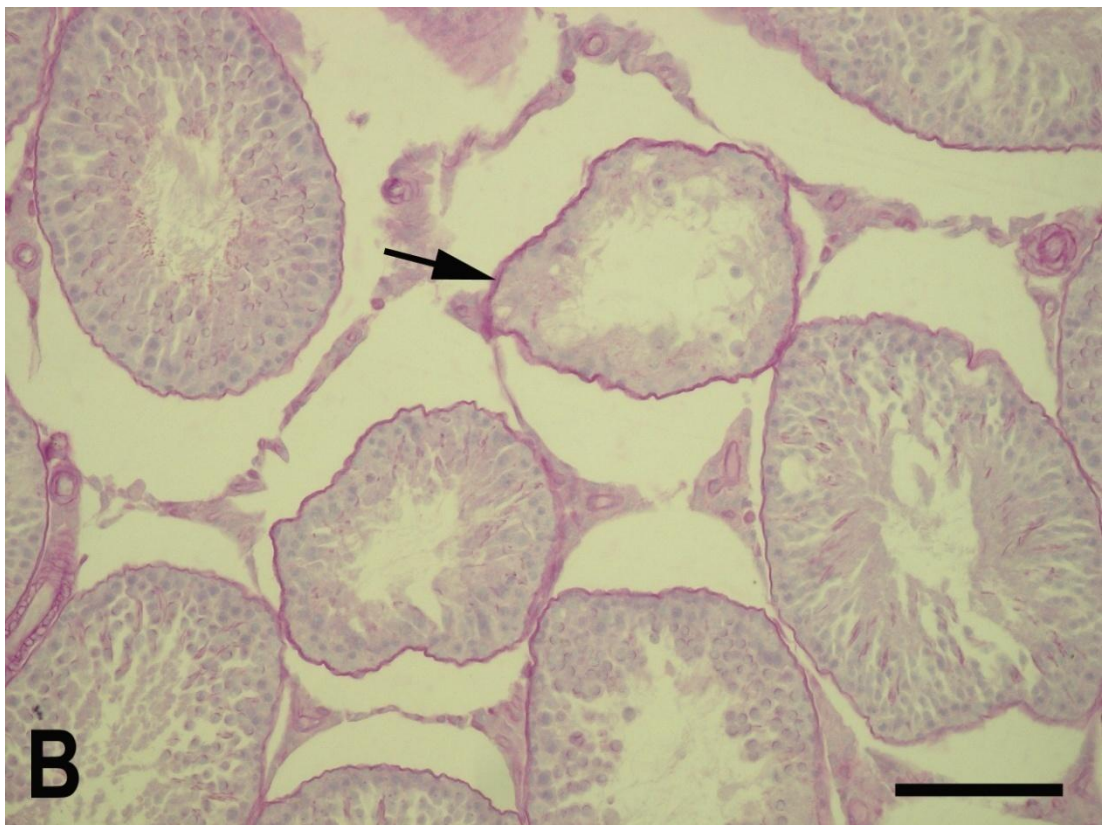
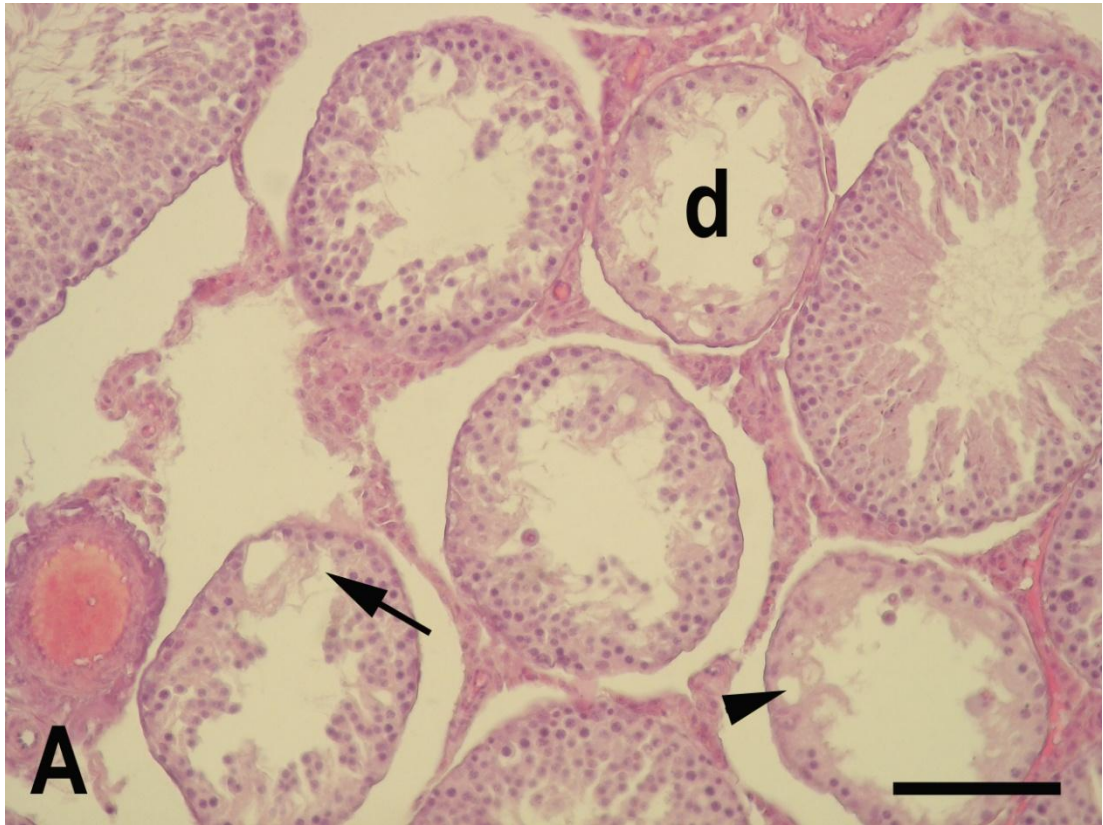


**Resim 2 A, B: Vazektomi 1 ay grubunda;** bazı seminifer tübüllerde dejenerasyon (d), spermatogenik hücrelerde vakuol (►) ve hücreler arası alanlarda ayrılmalar (→) görülmektedir **(A)**. Seminifer tübül duvarında hafif kalınlaşma (→) görülmektedir **(B)**.

**A:** H&E boyası, bar= 100 µm

**B:** PAS reaksiyonu, bar= 100 µm



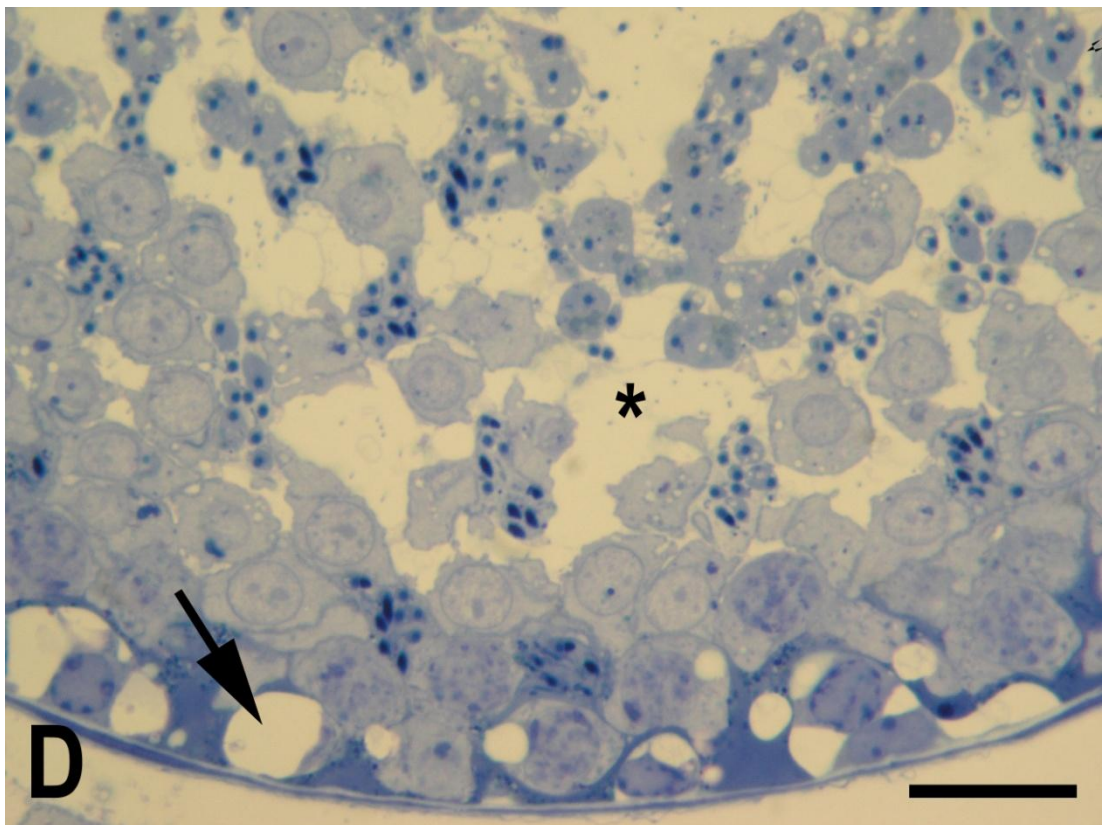
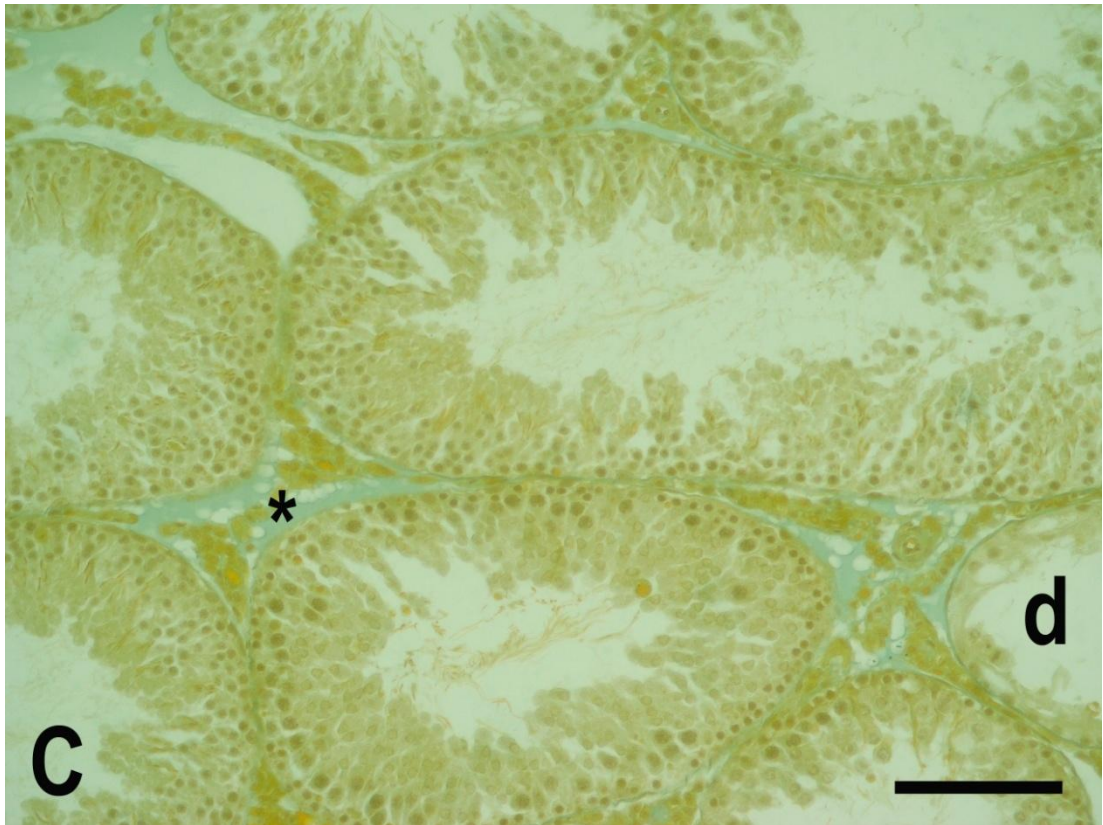


**Resim 2 C, D: Vazektomi 1 ay grubunda;** dejeneratif (d) t b  llere rastlanırken t b  ller arası b  lgede kısmi fibrozis (\*) görülmektedir **(C)**. Spermatogenik hücrelerde vakuolizasyon (→) ve hücreler arası alanda açılmalar (\*) görülmektedir **(D)**.

**C:** Masson trikrom boyası, bar= 100  m

**D:** Toluidin mavisi boyası, bar= 20  m



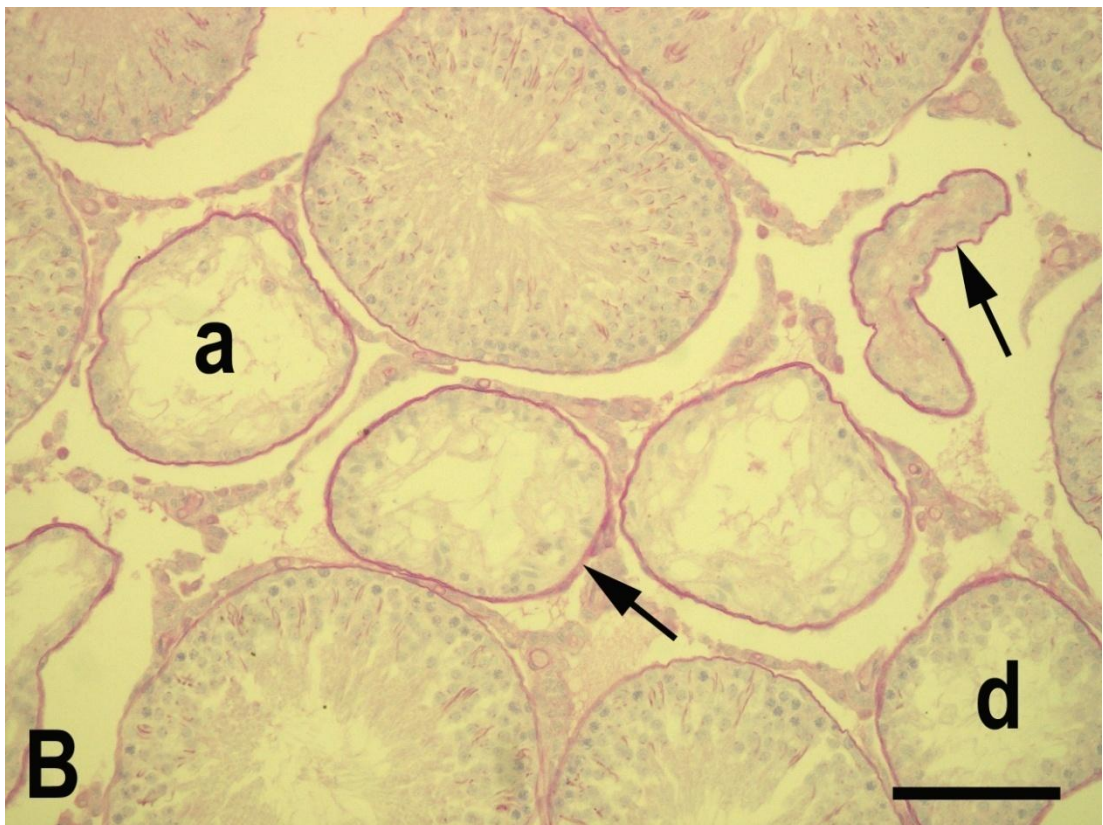


**Resim 3 A, B: Vazektomi 3 ay grubunda;** dejeneratif (d) tübüller yanında atrofik (a) tübüllerde görülmektedir. Spermatogenik hücrelerde vakuol (►) gözlenirken interstisyel bölgede doku artışı (\*) görülmektedir **(A)**. PAS yapılmış kesitlerde seminifer tübül duvarında kalınlaşmalar (→) görülmektedir. Ayrıca dejeneratif (d) ve atrofik (a) tübüllerde yer almaktadır **(B)**.

**A:** H&E boyası, bar= 100 µm

**B:** PAS reaksiyonu, bar= 100 µm



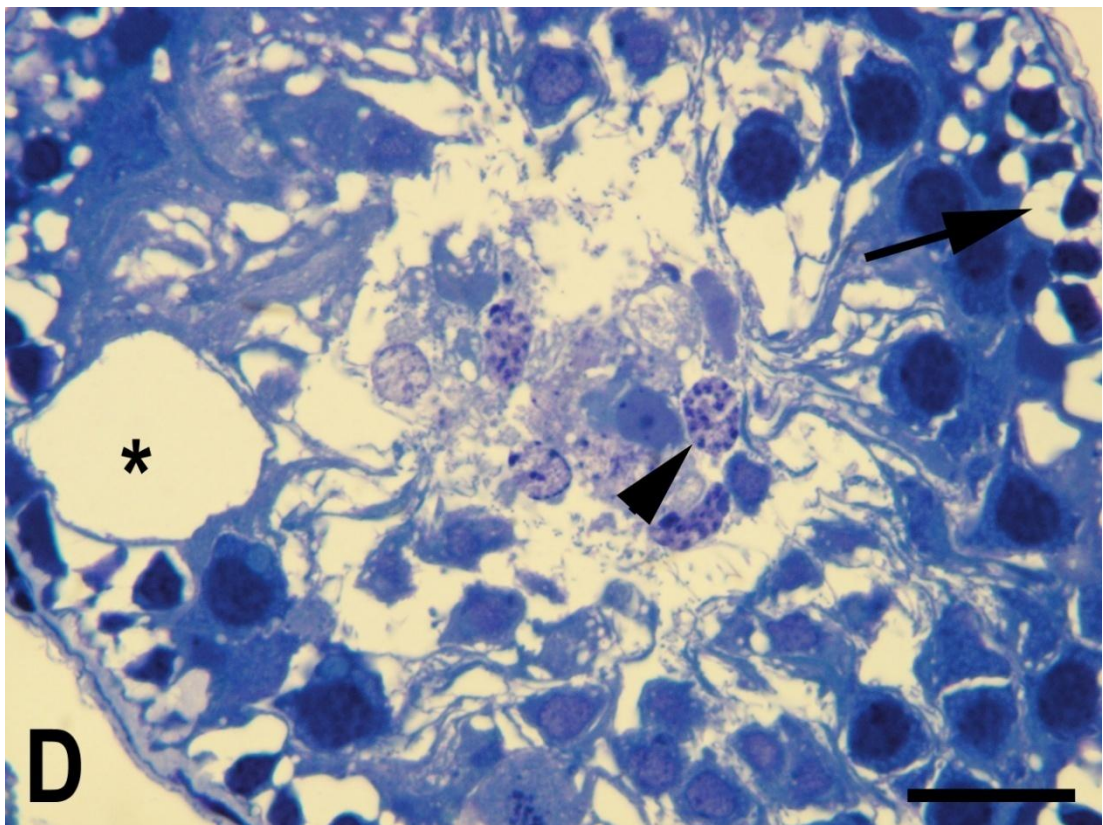
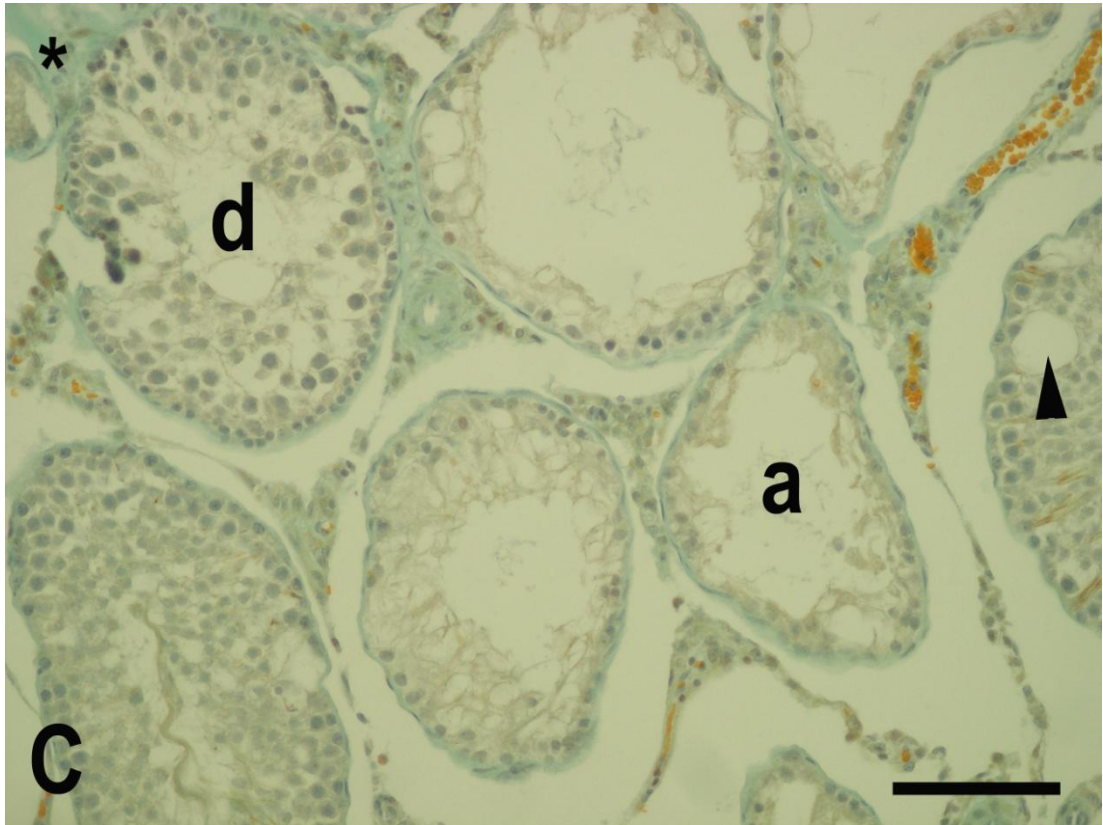


**Resim 3 C, D: Vazektomi 3 ay grubunda;** dejeneratif (d) ve atrofik (a) túbüllere rastlanırken interstisyel alanda bağ doku artışı (\*) görülmektedir. Ayrıca spermatogenik serideki hücrelerde vakuol (►) gözlenmiştir (C). Yarı ince kesitlerde spermatogenik hücrelerde vakuolizasyon (→) ve hücreler arası alanda açılmalar (\*) görülmektedir. Seminifer túbül lümeninde spermatogenik hücre döküntülerine (►) rastlanmıştır.

**C:** Masson trikrom boyası, bar= 100 µm

**D:** Toluidin mavisi boyası, bar= 20 µm

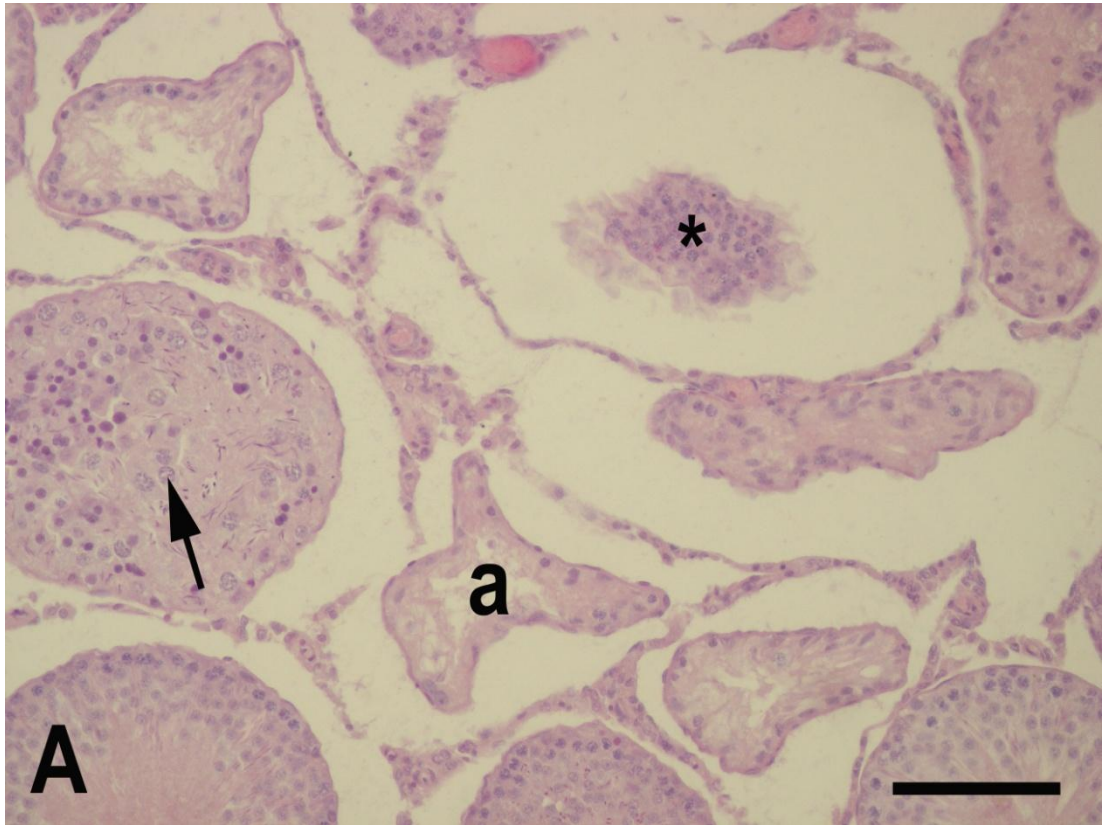




**Resim 4 A, B: Vazektomi 6 ay grubunda;** çok sayıda atrofik (a) túbüle rastlanırken lümende hücre döküntüleri (\*) gözlenmiştir. Spermatogenik hücre dizilimi bozulmuş túbüllere (→) rastlanmıştır (**A**). PAS yapılmış kesitlerde seminifer túbül duvarında oldukça artmış kalınlaşmalar (→), dejeneratif (d) ve atrofik (a) túbüller görülmektedir (**B**).

**A:** H&E boyası, bar= 100 µm

**B:** PAS reaksiyonu, bar= 100 µm

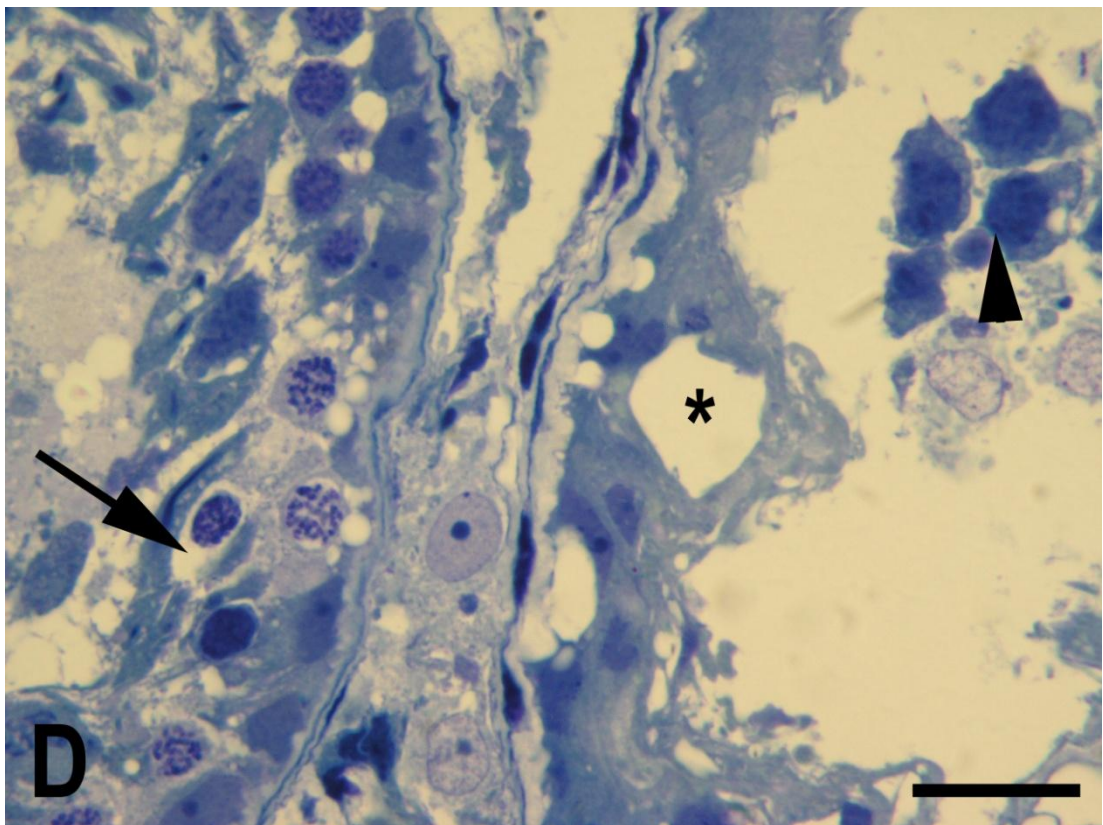
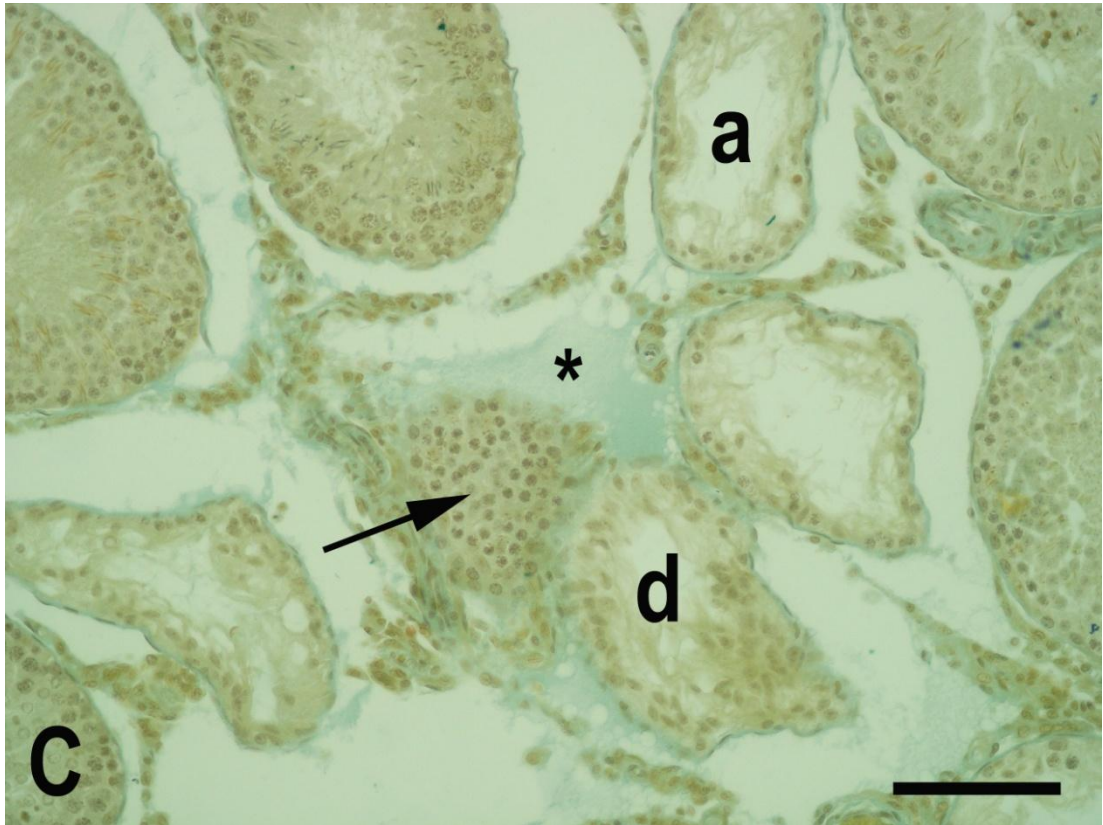




**Resim 4 C, D: Vazektomi 6 ay grubunda;** çok sayıda dejeneratif (d) ve atrofik (a) tübüller ve interstisyel alanda bağ doku oranında artış (\*) görülmektedir (**C**). Yarı ince kesitlerde spermatogenik hücrelerde vakuolizasyon (→) ve hücreler arası alanda açılmalar (\*) görülmektedir. Seminifer tübül lümeninde spermatogenik hücre döküntülerine (►) rastlanılmıştır (**D**).

**C:** Masson trikrom boyası, bar= 100 µm

**D:** Toluidin mavisi boyası, bar= 20 µm

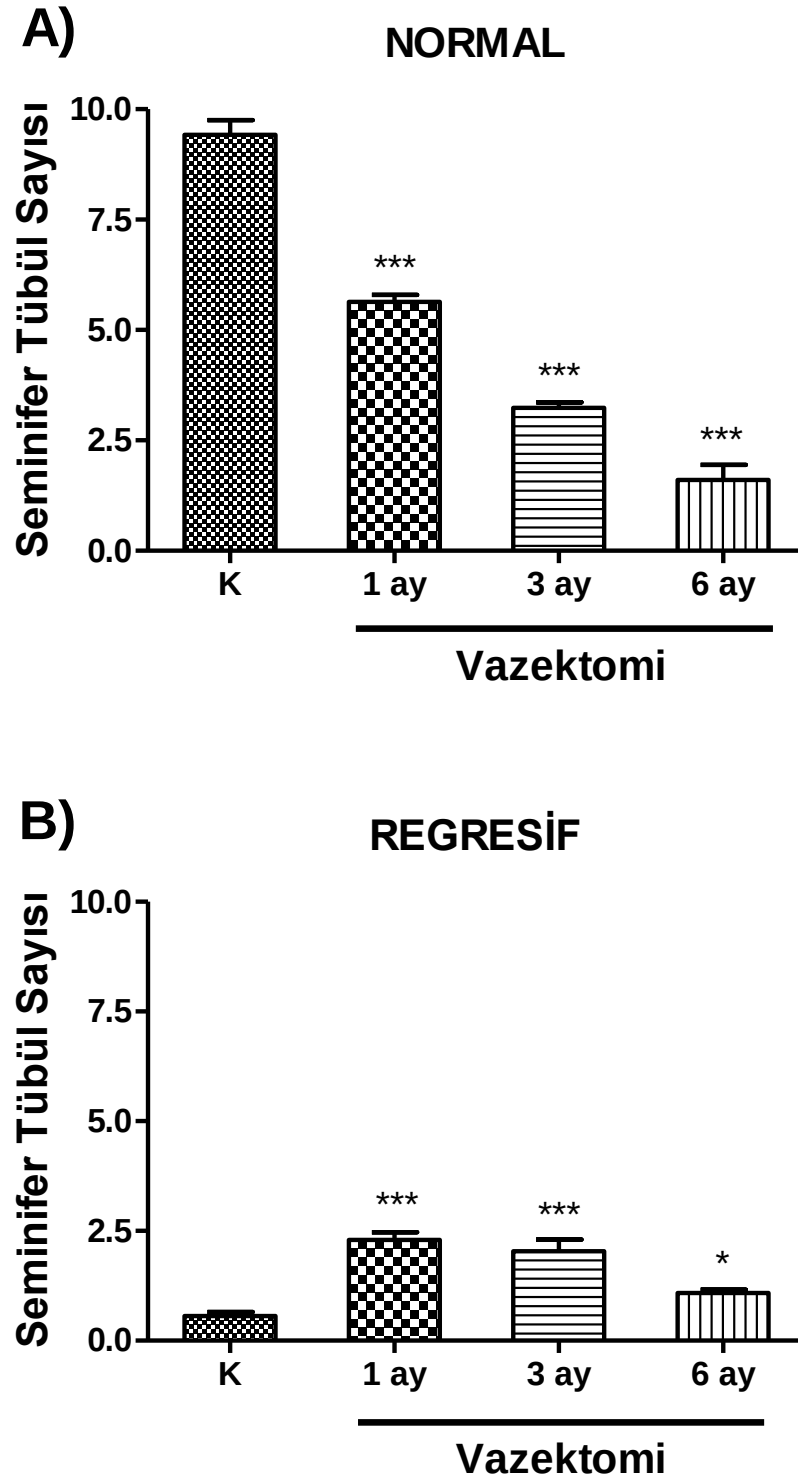


### **6.5. Seminifer Tübül Hasarı Histopatolojik Skolama Bulguları**

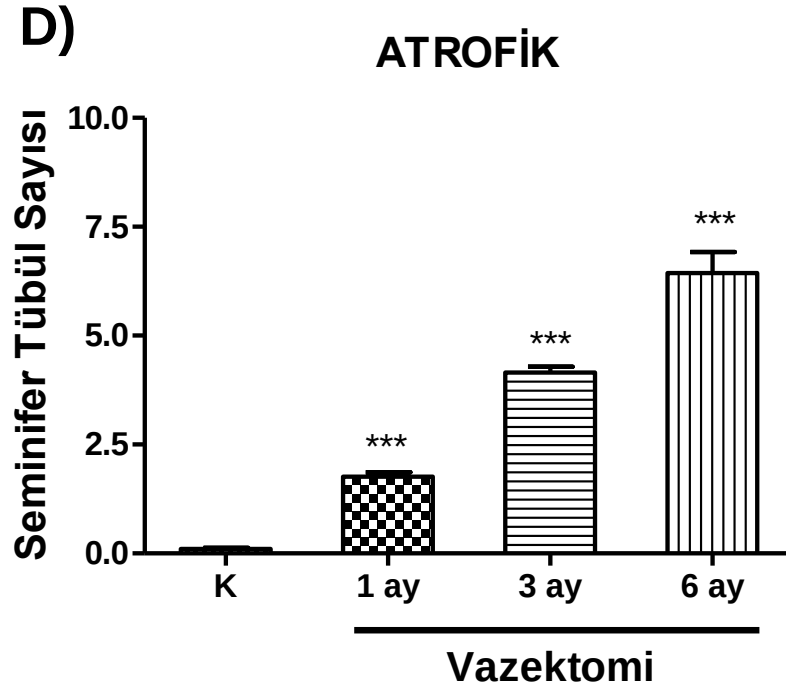
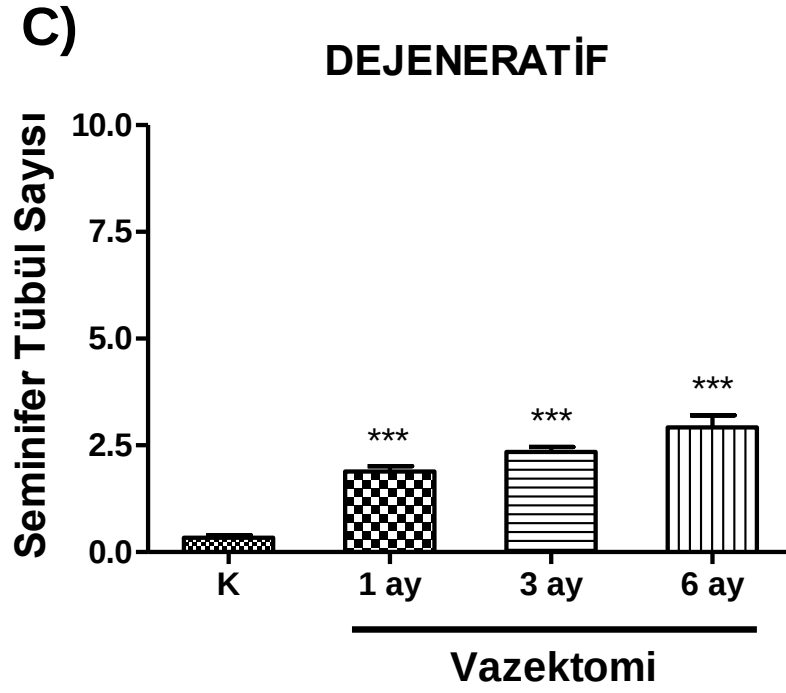
Tüm deney gruplarındaki seminifer tübüllerdeki histopatolojik değerdendirmeler Şekil 3 de gösterilmiştir. Buna göre kontrol grubunda normal seminifer tübül yapısı gözlenirken vazektomi 1 ay grubunda regresif ve dejeneratif tübüllerin sayısının arttığı gözlenmiştir. Vazektomi 3 ay grubunda normal tübül sayısında azalma görülürken dejeneratif tübül sayısında artış görölmüştür. Aynı zamanda atrofik tübüllerinde bulunduğu görölmüştür. Vazektomi 6 ay grubunda ise normal tübül sayısında oldukça düşüş görülürken atrofik tübül sayısında belirgin bir artış göze çarpmaktadır.

Kontrol grubu ile kıyaslandığında vazektomi uygulamasından sonra 1, 3 ve 6 ay gruplarında normal tübül sayısında (Şekil 3A) anlamlı düşüş gözlenirken, regresif (Şekil 3B), dejeneratif (Şekil 3C) ve atrofik (Şekil 3D) tübül sayısında anlamlı artış gözlenmiştir.





**Şekil 3:** Deney gruplarında seminifer tübüllerde histopatolojik skorlama grafiği. A) normal, B) regresif, C) dejeneratif, D) atrofik tübül sayısının gruplar arasındaki dağılımı. (\*)  $p < 0.05$  Kontrol (K) grubu ile vazektomi 6 ay grubu kıyaslandığında, (\*\*\*)  $p < 0.001$  kontrol grubu ile vazektomi 1, 3 ve 6 ay grupları kıyaslandığında.



**Şekil 3:** Deney gruplarında seminifer tübüllerde histopatolojik skora grafiği. A) normal, B) regresif, C) dejeneratif, D) atrofik tübül sayısının gruplar arasındaki dağılımı. (\*)  $p < 0.05$  Kontrol (K) grubu ile vazektomi 6 ay grubu kıyaslandığında, (\*\*\*)  $p < 0.001$  kontrol grubu ile vazektomi 1, 3 ve 6 ay grupları kıyaslandığında.

## **6.6. Okludin İmmunohistokimyası Bulguları**

### **6.6.1. Kontrol Grubu**

Okludin immunohistokimyasını doğrulamak amacıyla primer antikoru çıkarıp diğer immunohistokimya tekniği aynı olacak şekilde yapılan negatif kontrollerde herhangi bir boyanma gözlenmemiştir (Resim 5A). Okludin immunohistokimyası yapılmış seminifer tübüllerdeki Sertoli hücrelerinin interstisyel alana yakın olan bazal kısımlarında ve Sertoli hücreleri arasında kırmızı olarak boyanmış Okludin immunoreaktivitesi görülmüştür (Resim 5B).

### **6.6.2. Vazektomi Grubu**

Vazektomi uygulanmasından 1 ay sonraki değişikliklere bakıldığında testiste bazı seminifer tübüllerdeki Sertoli hücrelerinin interstisyel dokuya yakın olan bazal kısımlarında okludin immunoreaktivitesine rastlanmıştır (Resim 6).

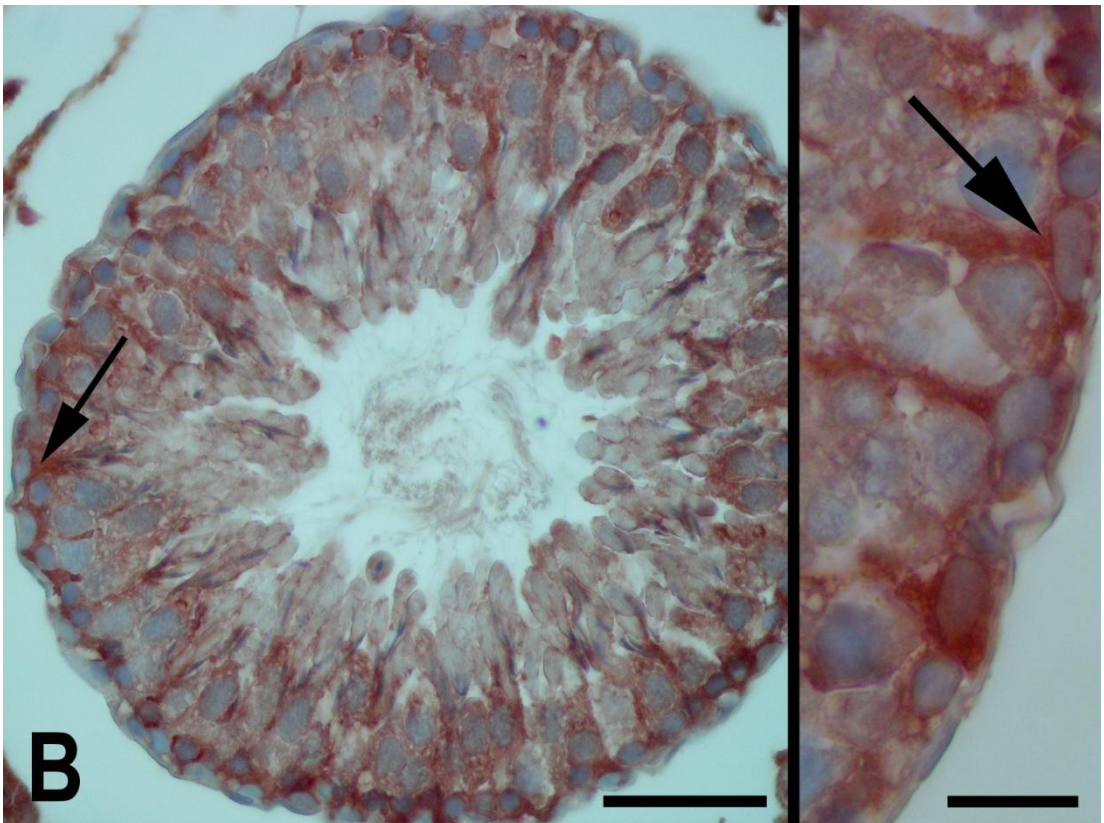
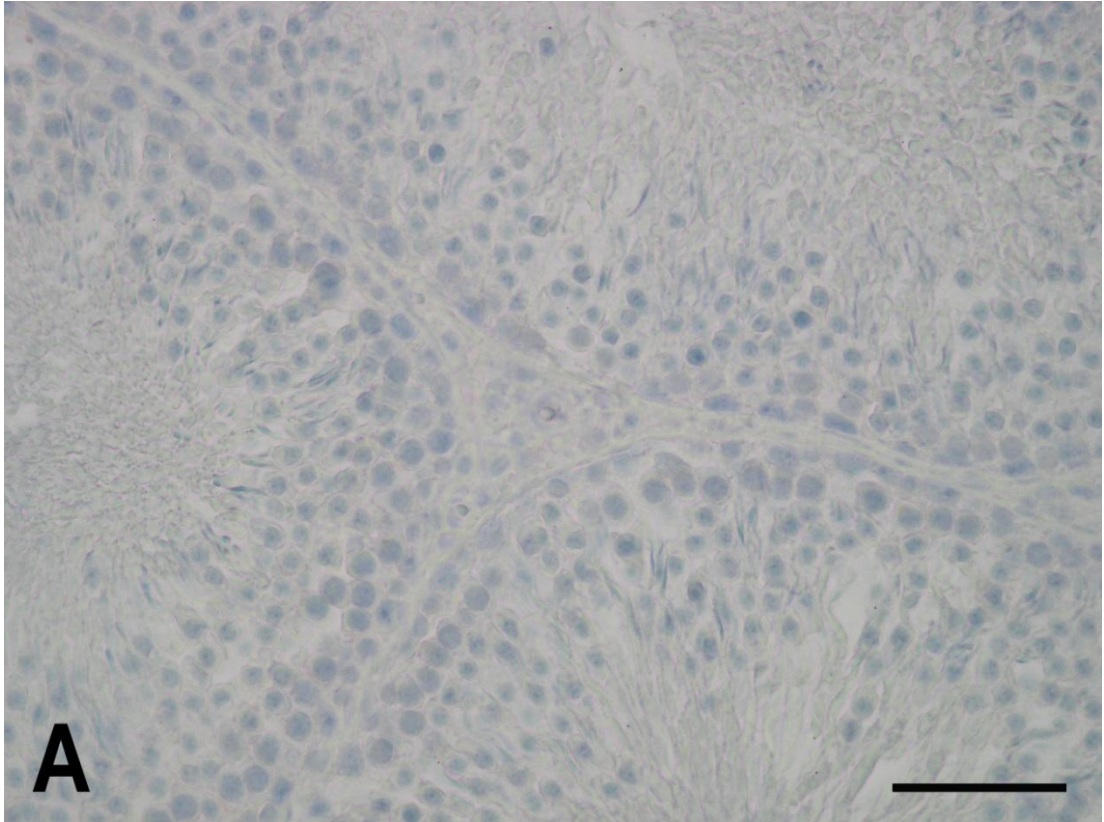
Vazektomi uygulanmasından 3 ay sonraki grupta hücreler arası bölgede görülmesi gereken okludin immunreaktivitesi sayıca azalmış spermatogenik hücrelerden dolayı dağılmış bir şekilde görülmüştür. Sertoli hücreleri arasında yoğun bir şekilde görmeyi beklediğimiz okludin atrofiye uğramış seminifer tübüllerden dolayı dağınık ve zayıf bir boyanma göstermiştir (Resim 7).

Vazektomi uygulanmasından 6 ay sonraki değişikliklere bakıldığında diğer gruplara göre oldukça zayıf ve dağınık bir okludin immunreaktivitesi görülmüştür. Özellikle spermatogenik serideki hücrelerin dökülmesi nedeniyle geride kalan Sertoli hücreleri arasında oldukça zayıf ve dağınık bir boyanma gözlenmiştir (Resim 8).

Kontrol ve vazektomi uygulamasından 1, 3 ve 6 ay sonra sırasıyla okludin immunreaktivitesinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir (Tablo 2).

**Resim 5 A, B: Kontrol grubunda,** Okludin immunohistokimyası negatif kontrolünde boyanma gözlenmemektedir (**A**). Sertoli hücrelerinin interstisyel alana yakın olan bazal kısımlarında kırmızı olarak boyanmış Okludin immunreaktivitesi (→) görülmektedir (**B**).

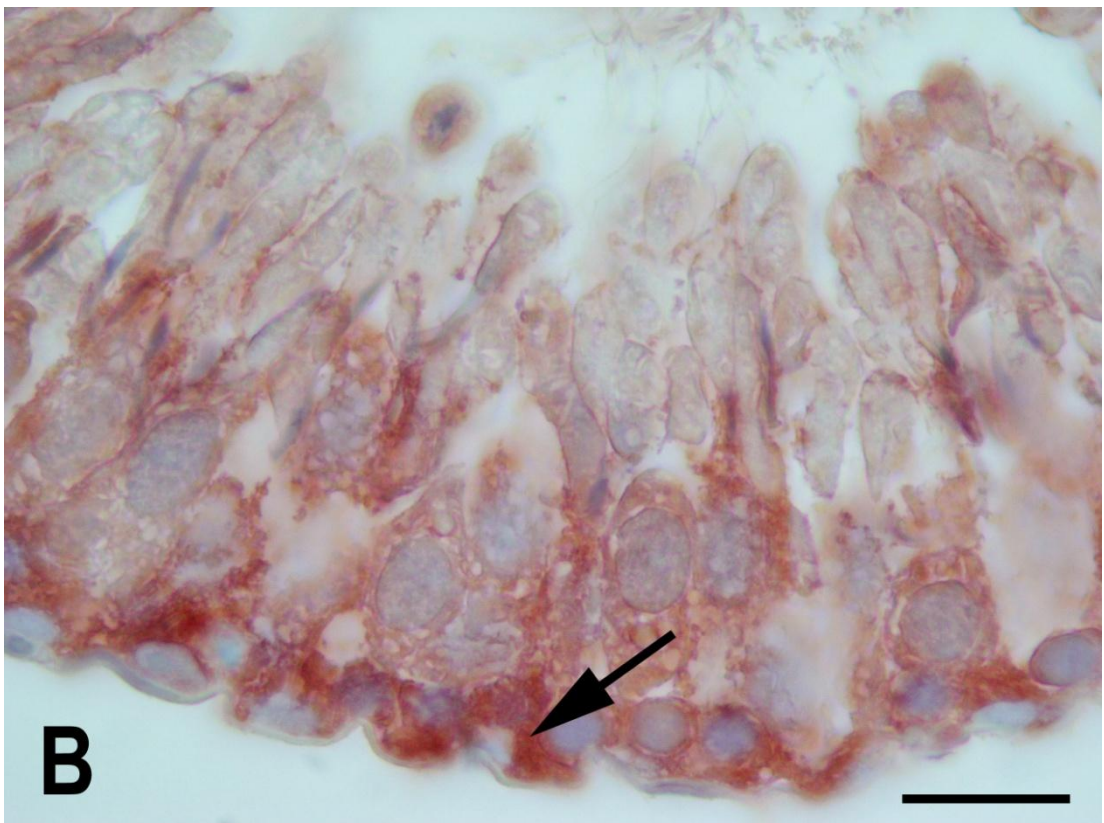
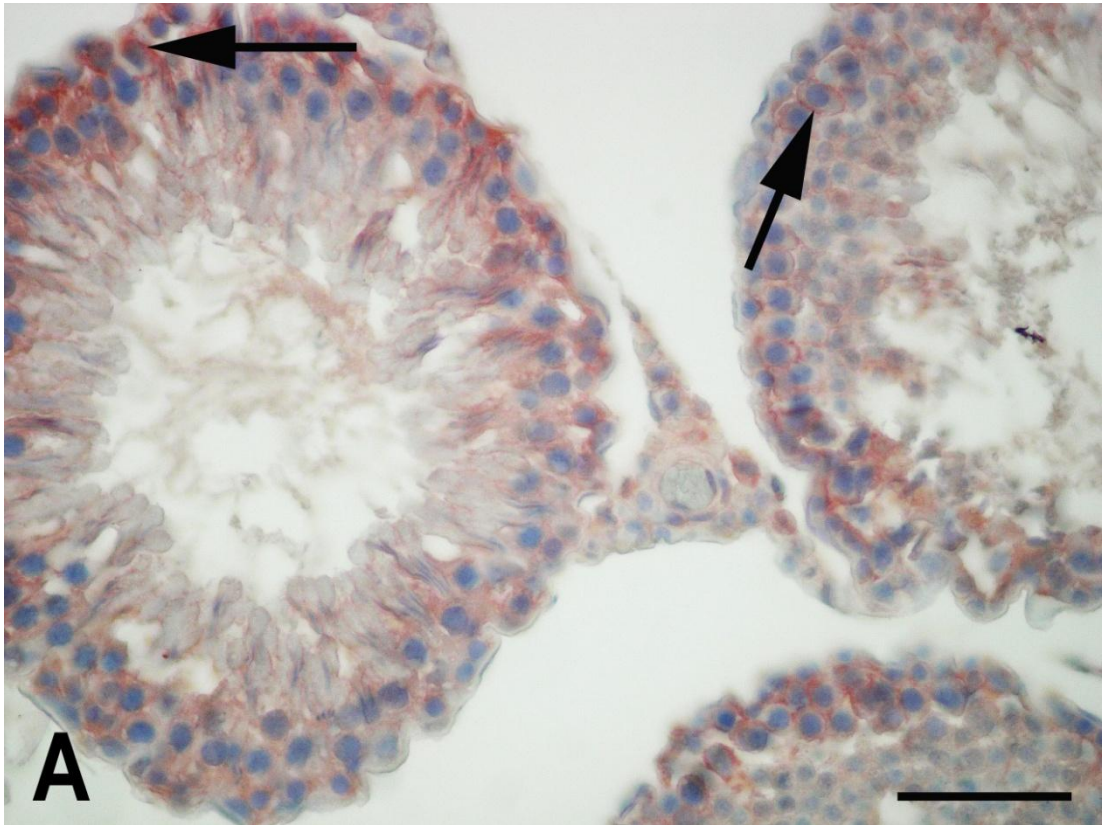
**A** bar=50  $\mu\text{m}$ , **B** bar=50  $\mu\text{m}$ , küçük resim; bar=20  $\mu\text{m}$



**Resim 6 A, B: Vazektomi 1 ay grubunda,** Sertoli hücrelerinin interstisyel alana yakın olan bazal kısımlarında azalmış Okludin immunreaktivitesi (→) görülmektedir.

**A** bar=50 µm, **B** bar=20 µm

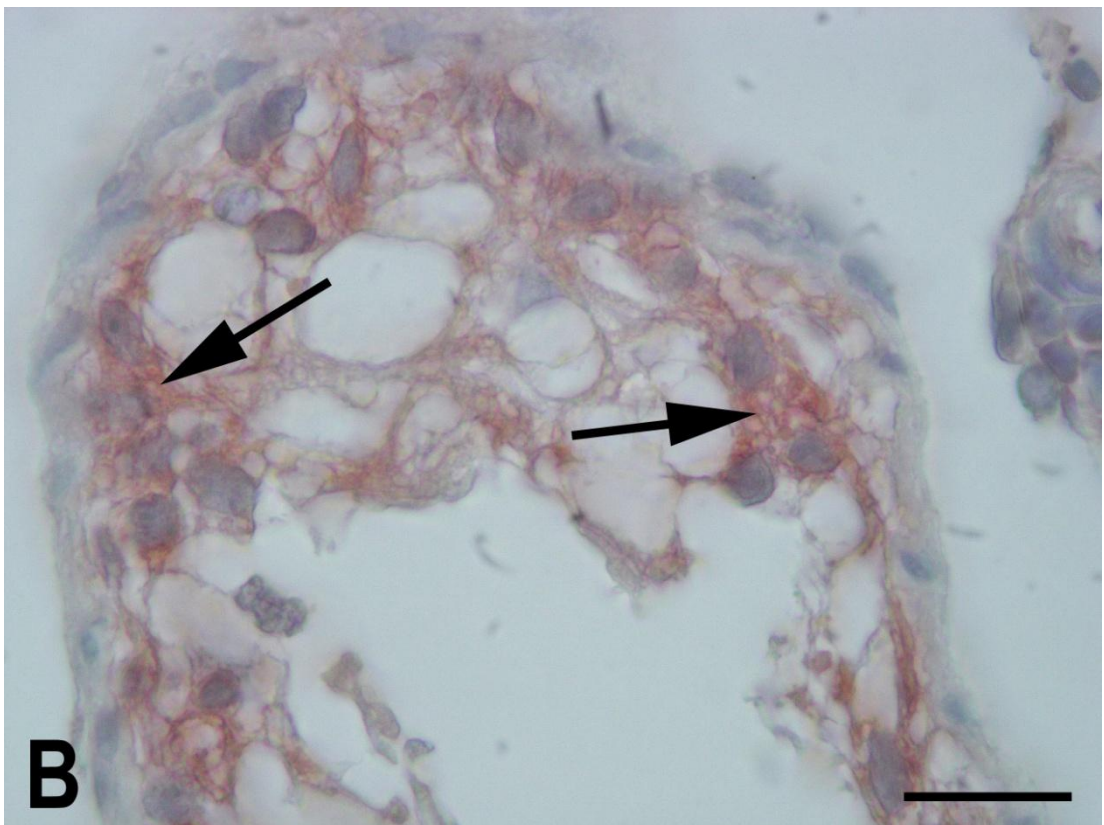
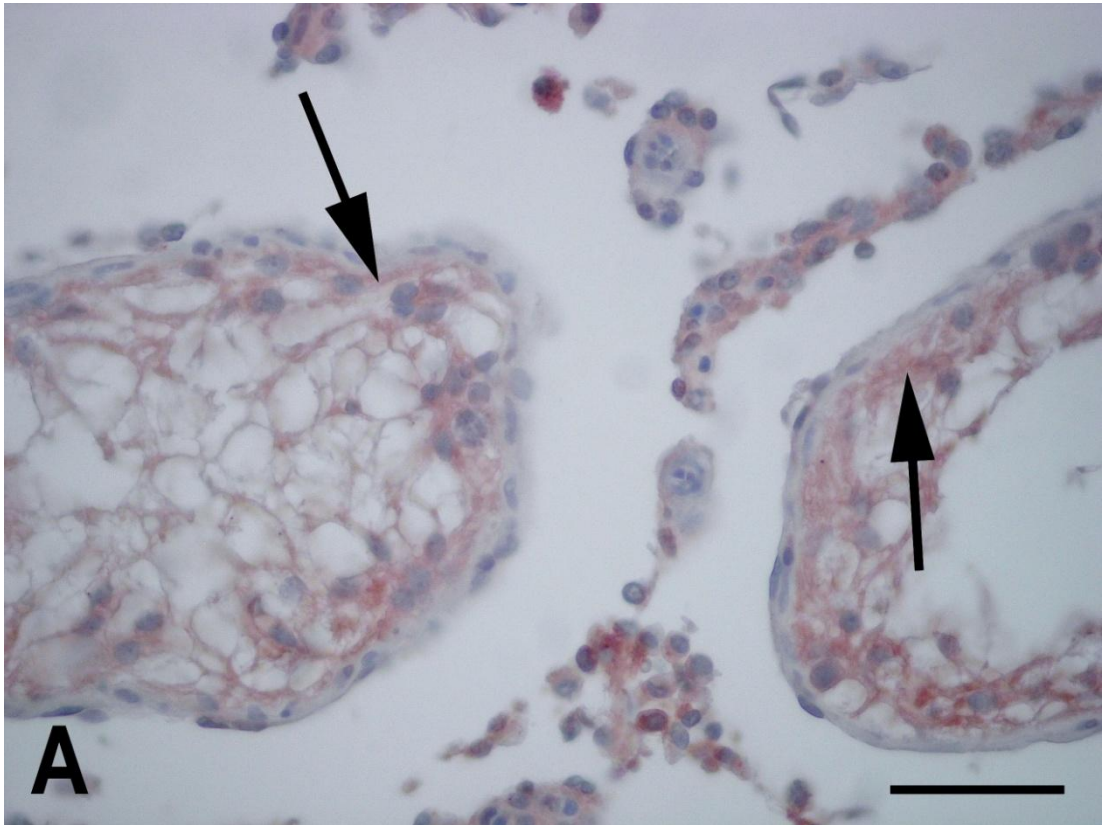




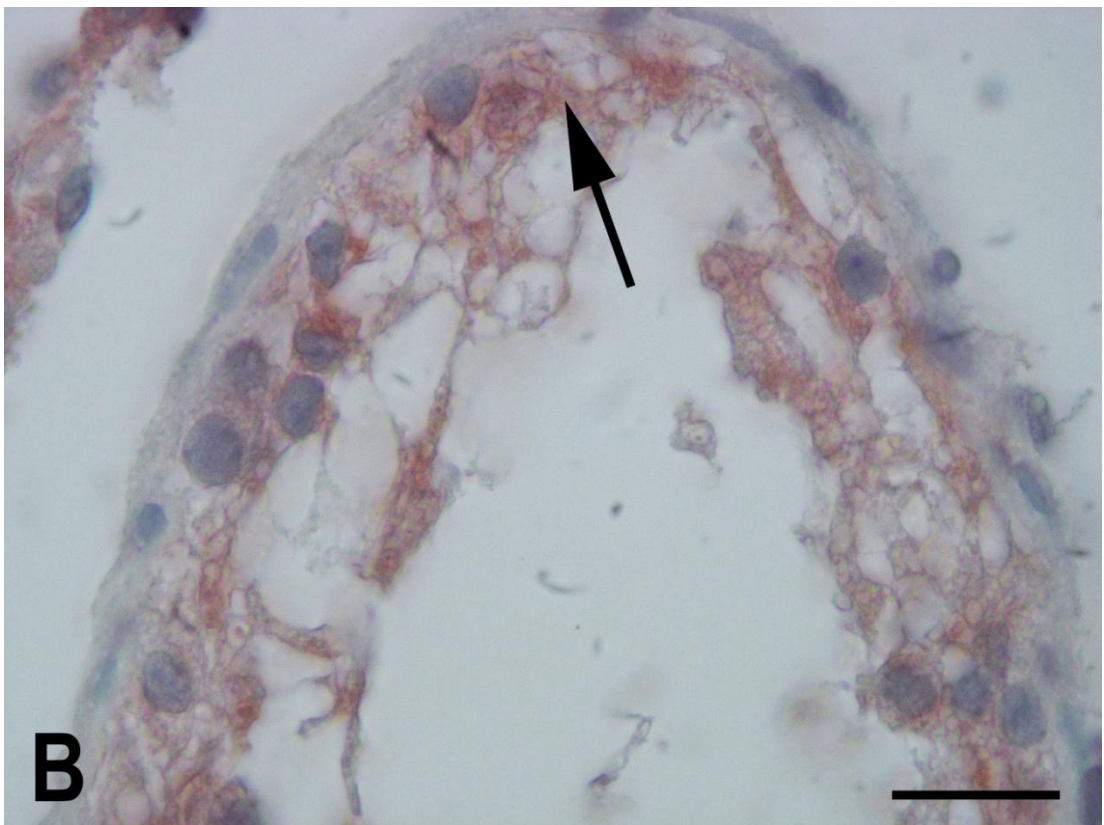
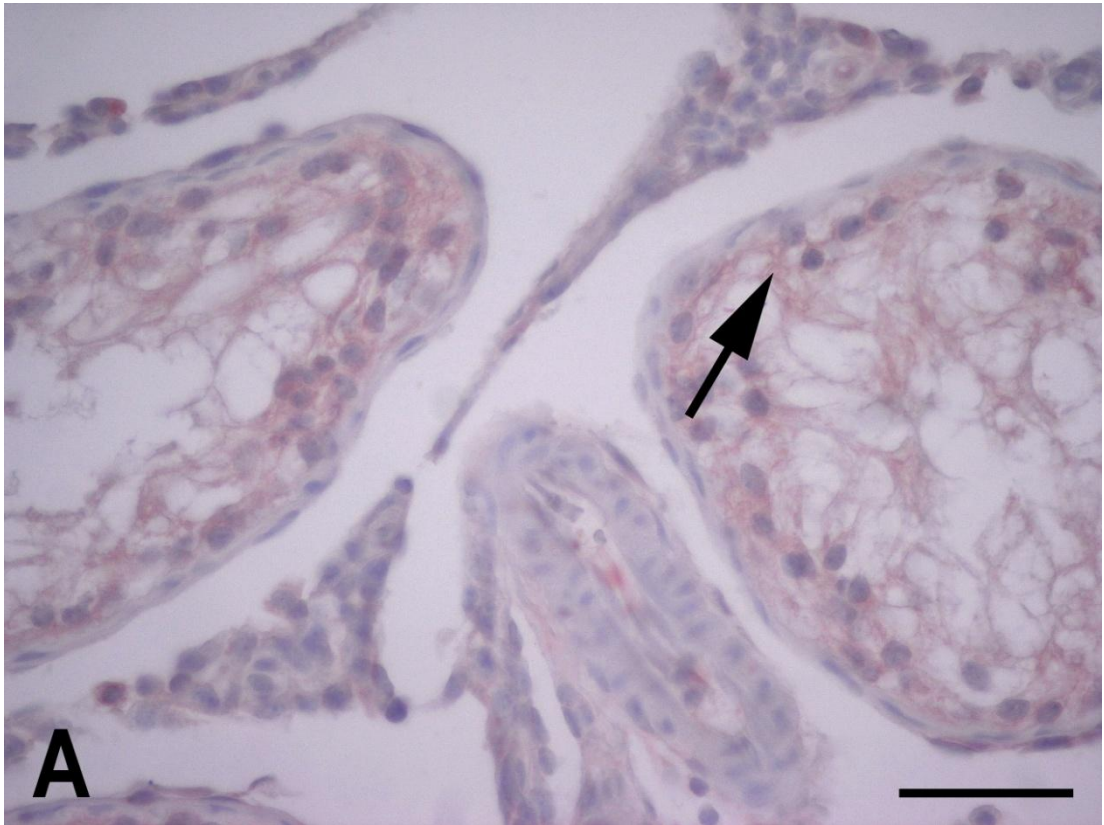
**Resim 7 A, B: Vazektomi 3 ay grubunda,** Atrofiye uğramış tübüllerde zayıf ve dağınık okludin immunreaktivitesi (→) görülmektedir.

**A:** bar=50 µm, **B:** bar=20 µm





**Resim 8 A, B: Vazektomi 6 ay grubunda;** ileri derecede hasar görmüş tübüllerde oldukça zayıf ve dağınık Okludin immunreaktivitesi (→) görülmektedir.  
**A** bar=50  m, **B** bar=20  m



**Tablo 2:** Kontrol grubu ile deney gruplarındaki seminifer tübüllerde okludin immunreaktivitesindeki boyanma derecesi.

|                                                                | <b>Kontrol grubu</b> | <b>Vazektomi grubu</b> |             |             |
|----------------------------------------------------------------|----------------------|------------------------|-------------|-------------|
|                                                                |                      | <b>1 ay</b>            | <b>3 ay</b> | <b>6 ay</b> |
| <b>Okludin immunreaktivitesi</b>                               | <b>+++</b>           | <b>++</b>              | <b>+</b>    | <b>+/-</b>  |
| +++ : yoğun, ++ : orta derecede, + : az, +/- : çok az, - : yok |                      |                        |             |             |

## **6.7. TUNEL Bulguları**

### **6.7.1. Kontrol grubu**

Tiroid bezine ait kesit ile yapılan pozitif kontrolde TUNEL pozitif hücrelerin koyu kahverengi olarak boyandığı görülmüştür (Resim 9A). Kontrol grubuna ait testis dokusunda seminifer tübüllerde bulunan hücrelerde çok az sayıda TUNEL pozitif işaretlenmiş hücrelere rastlanmıştır (Resim 9B).

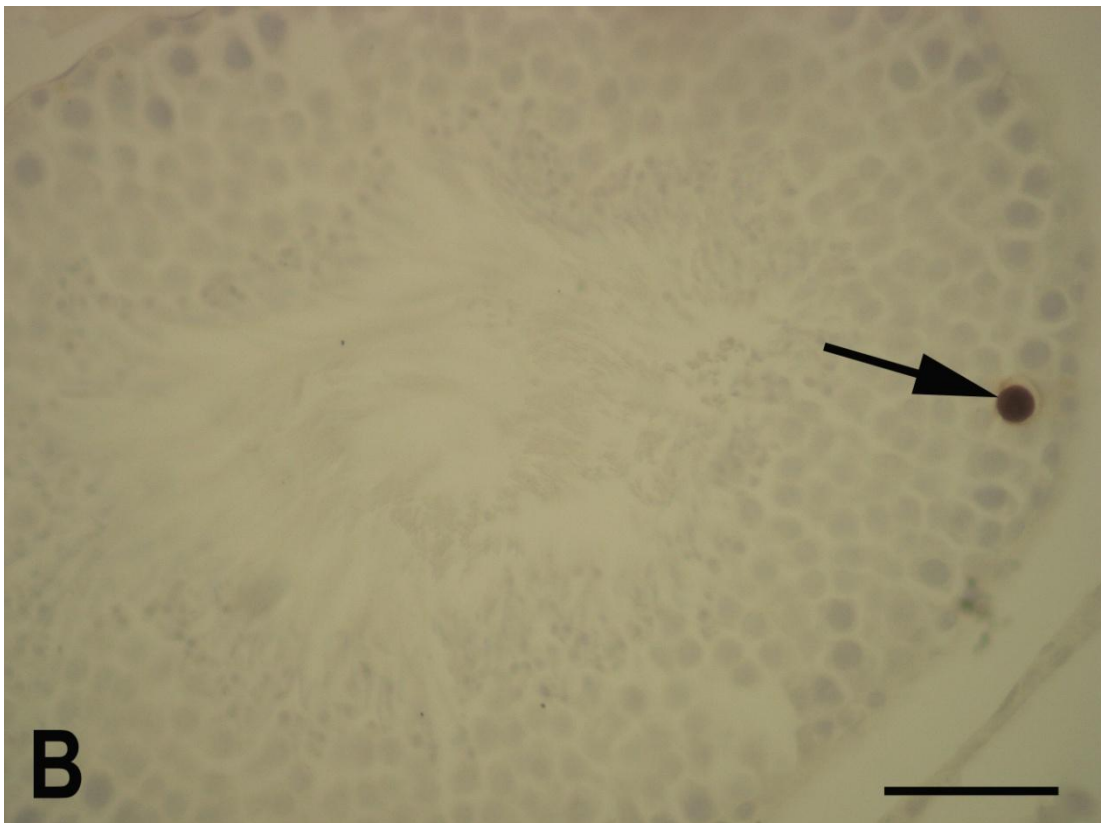
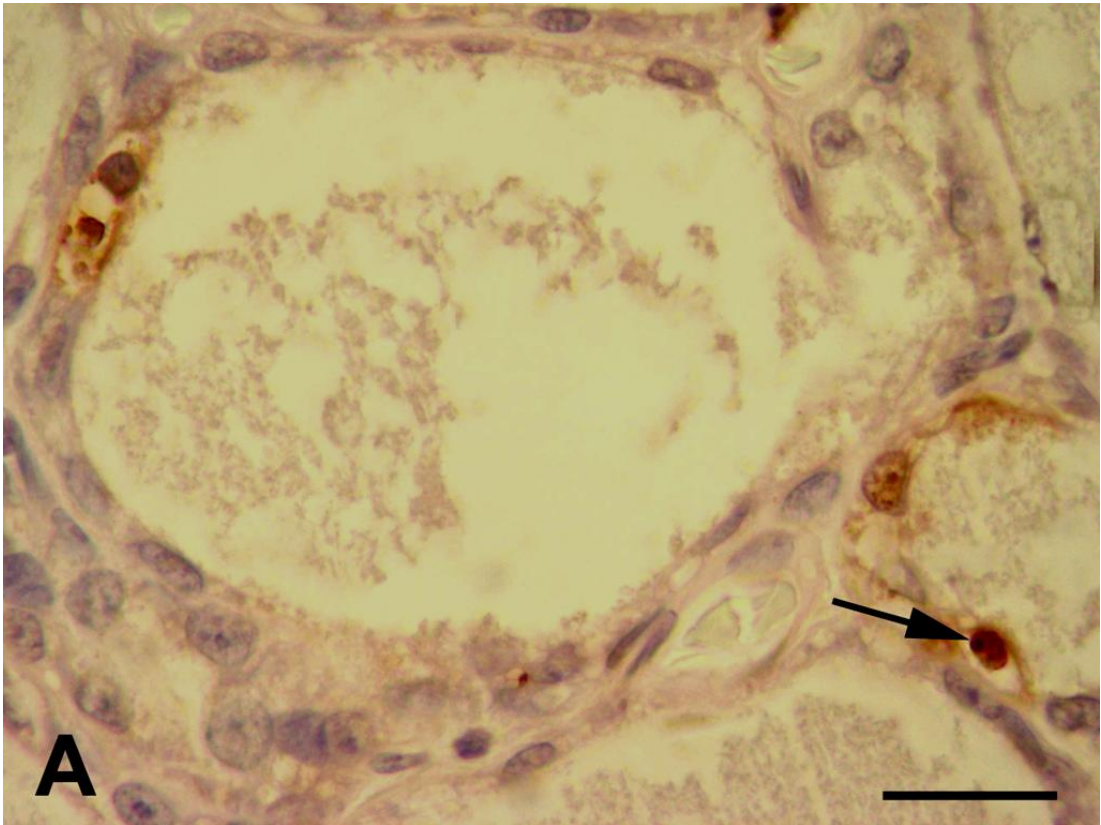
### **6.7.2. Vazektomi grubu**

Vazektomi 1 ay grubunda, kontrol grubuna göre TUNEL pozitif işaretlenmiş hücre sayısında artış görülmüştür (Resim 10A). Vazektomi 3 ay grubunda TUNEL pozitif hücrelerin kontrole ve vazektomi 1 ay grubuna göre daha fazla artmış olduğu görülmüştür (Resim 10B). Vazektomi 6 ay grubunda ise pozitif işaretlenmenin diğer gruplara göre en fazla olduğu dikkati çekmiştir (Resim 10C).

**Resim 9 A, B:** Tiroid bezine ait pozitif kontrolde TUNEL pozitif hücreler (→) görülmektedir **(A)**. Kontrol grubuna ait testis kesitinde çok az sayıda hücrede TUNEL pozitif işaretleme (→) görülmektedir **(B)**.

**A, B:** TUNEL boyası, bar=50 µm

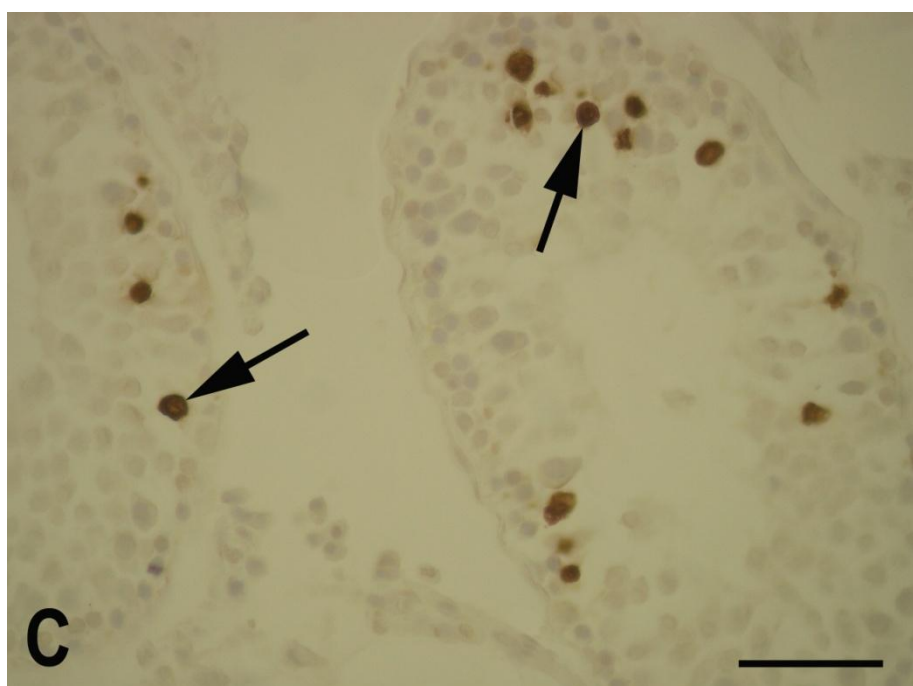
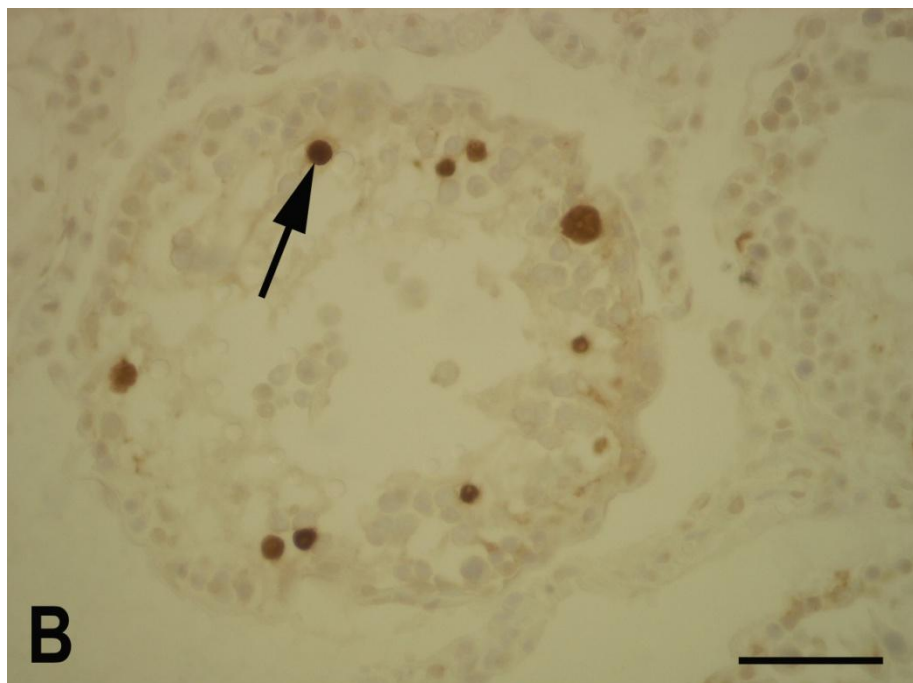
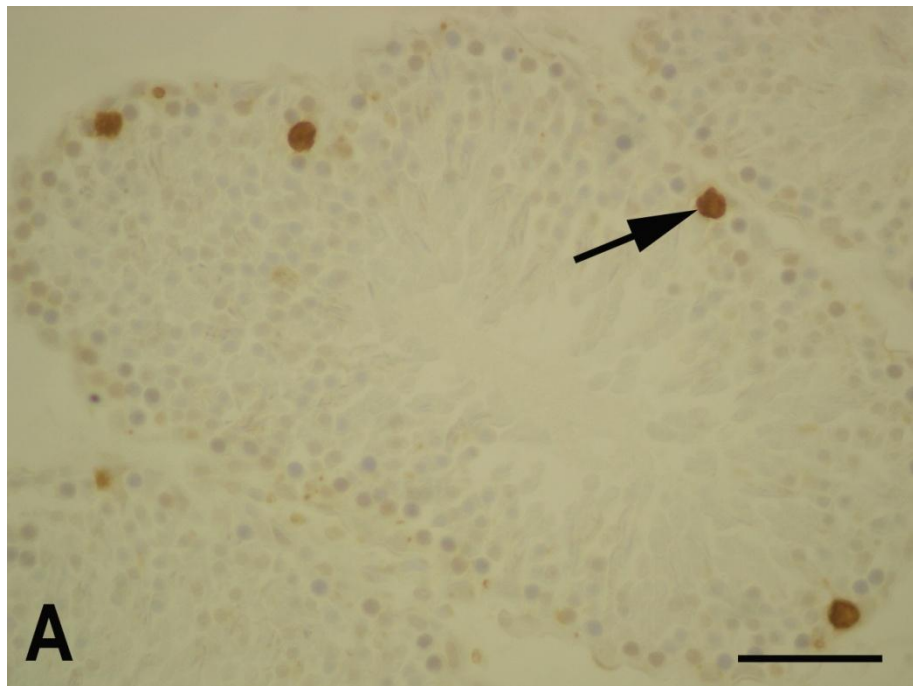






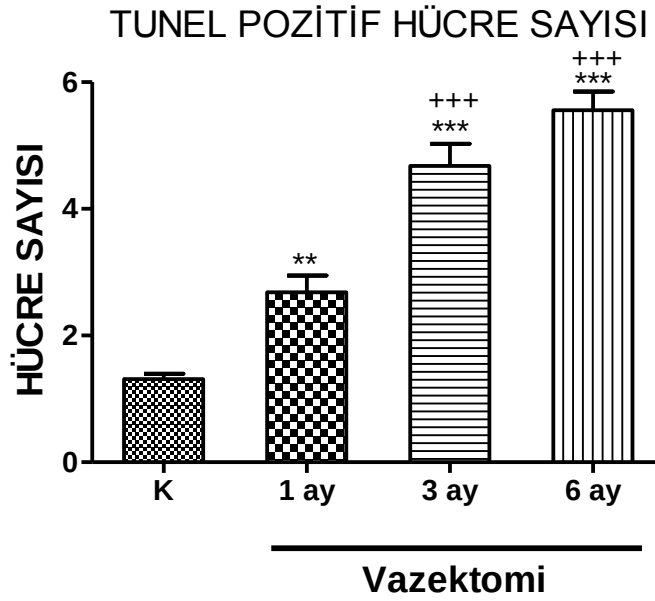
**Resim 10 A, B, C: Vazektomi 1 ay grubuna** ait testis kesitinde TUNEL pozitif işaretlenme (→) görülen hücrelerde artış görülmektedir **(A)**. **Vazektomi 3 ay grubunda** TUNEL pozitif işaretlenme (→) gösteren hücrelerde artış görülmektedir **(B)**. **Vazektomi 6 ay grubunda** TUNEL pozitif hücrelerde (→) artış görülmektedir **(C)**.

**A, B, C:** TUNEL boyası, bar=50 µm



### 6.8. TUNEL Pozitif Hücrelerin Sayısal Analizi

TUNEL pozitif işaretlenmiş hücre sayısı kontrol grubunda ortalama  $1.31 \pm 0.09$  iken vazektomi 1 ay grubunda  $2.68 \pm 0.12$  ( $p < 0.01$ ), vazektomi 3 ay grubunda  $4.68 \pm 0.15$  ( $p < 0.001$ ), vazektomi 6 ay grubunda  $5.56 \pm 1.01$  ( $p < 0.001$ )' dir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında tüm deney gruplarında TUNEL pozitif hücre sayısının anlamlı bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Vazektomi 1 ay grubu ile vazektomi 3 ve 6 ay grupları karşılaştırıldığında ( $p < 0.001$ ) TUNEL pozitif hücre sayısındaki artış anlamlıdır (Şekil 4).



**Şekil 4:** Kontrol ve vazektomi gruplarında TUNEL pozitif hücre sayısı grafiği. (\*\*)  $p < 0.01$  kontrol (K) grubu ile vazektomi 1 ay grubu kıyaslandığında; (\*\*\*)  $p < 0.001$  kontrol grubu ile vazektomi 3 ve 6 ay grupları kıyaslandığında; (+++)  $p < 0.001$  vazektomi 1 ay ile 3 ve 6 ay grupları kıyaslandığında

## **6.9. Elektron Mikroskop Bulguları**

### **6.9.1. Kontrol grubu**

Kontrol grubunda düzenli morfolojide, normal kalınlıkta bazal lamina üzerine oturan Sertoli hücreleri ve spermatogonyumlar gözlenmiştir. Sertoli hücreleri arasında düzenli morfolojide sıkı bağlantılar bulunmaktadır. Spermatogenik hücrelerin bazaldan lumene doğru organizasyonları normal gözlenmiştir (Resim 11).

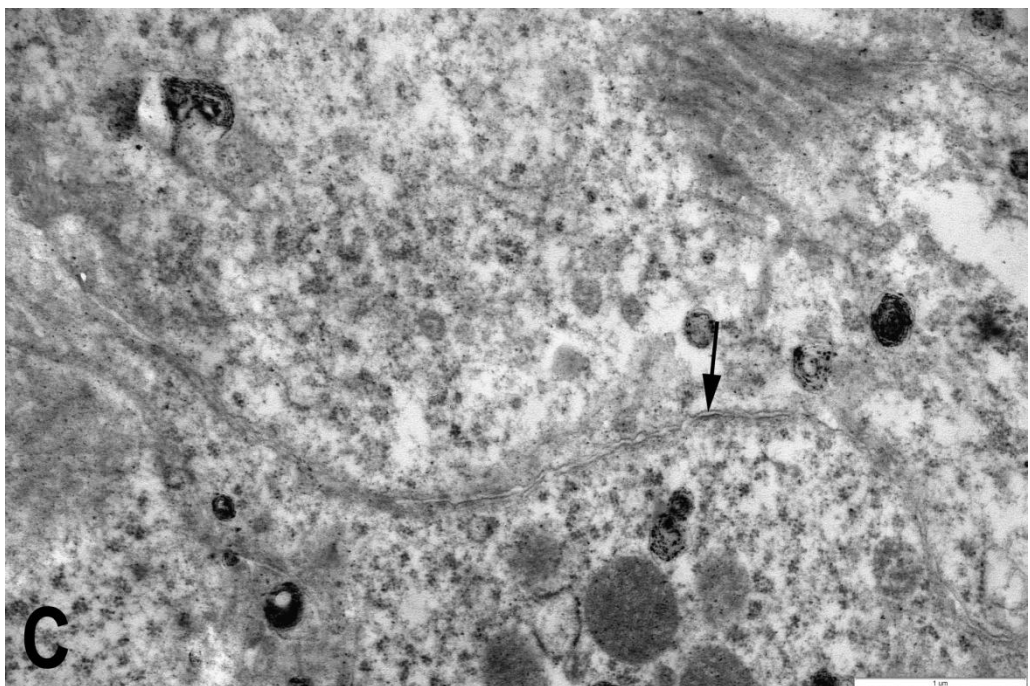
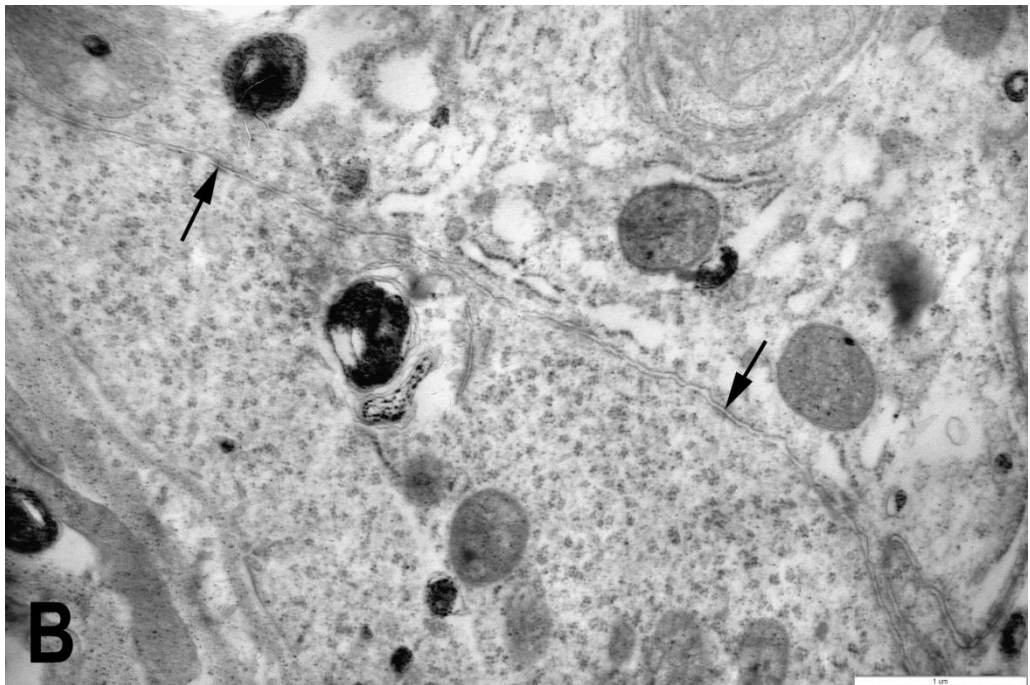
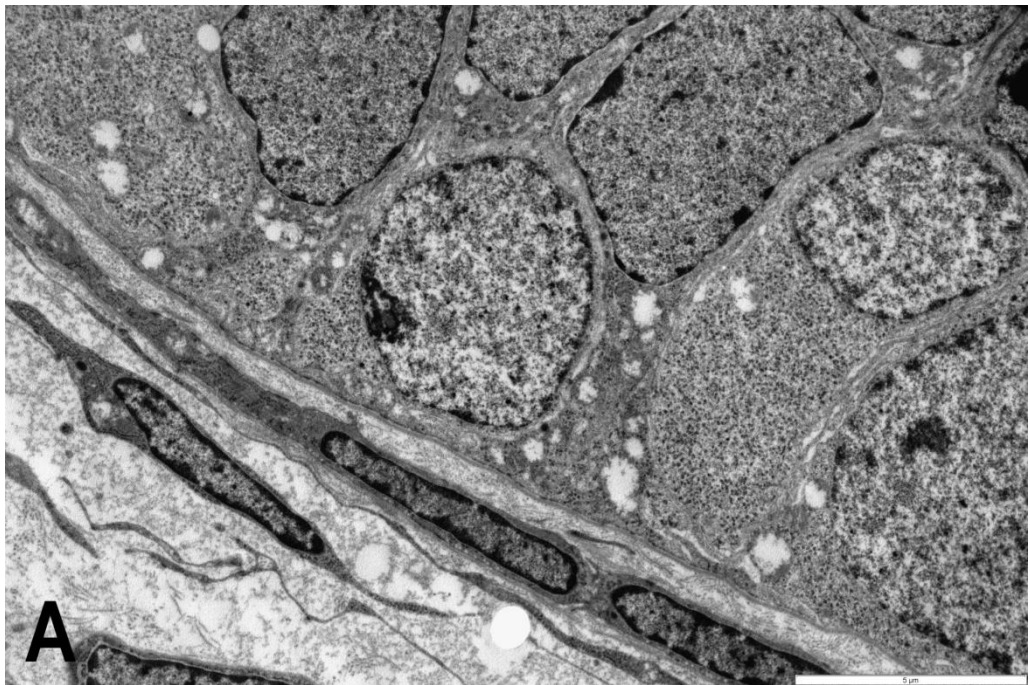
### **6.9.2. Vazektomi Grubu**

Vazektomi uygulamasından bir ay sonraki grupta bazal lamina üzerinde bulunan birçok alanda düzenli morfolojide spermatogonyumlara, Sertoli hücrelerine ve sıkı bağlantılara rastlanmıştır. Bazı tübüllerin bazal bölümlerinde hücre içinde ve sıkı bağlantıların etrafındaki sitoplazmik alanlarda vakuol oluşumlarına ve hücreler arası alanlarda lokal açılmalara rastlanmıştır. Birçok tübülde bazal lamina düzgün morfolojide iken bazı alanlarda hafif kalınlaşmalar gözlenmiştir (Resim 12).

Vazektomi uygulamasından 3 ay sonraki grupta birçok alanda hem Sertoli hücresinde hem de spermatogenik seriye ait hücrelerde organel bozuklukları gözlenmiştir. Bazale yakın bölgelerde hücreler arasında ileri derecede büyük açılmaların olduğu gözlenmiştir. Spermatogenik seriye ait hücrelerin bazaldan lumene doğru dizilimlerinde kayıplar olduğu gözlenmiştir. Ayrıca birçok alanda bazal laminada kalınlaşmaya ve parmaklı uzantılar şeklinde düzensiz yapılara rastlanmıştır (Resim 13).

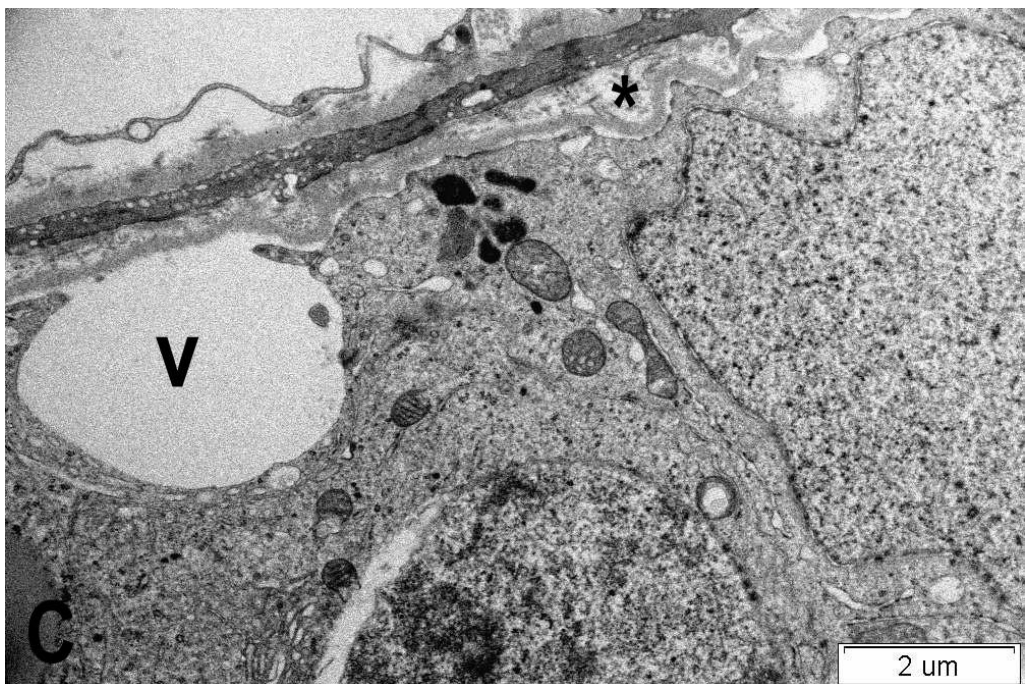
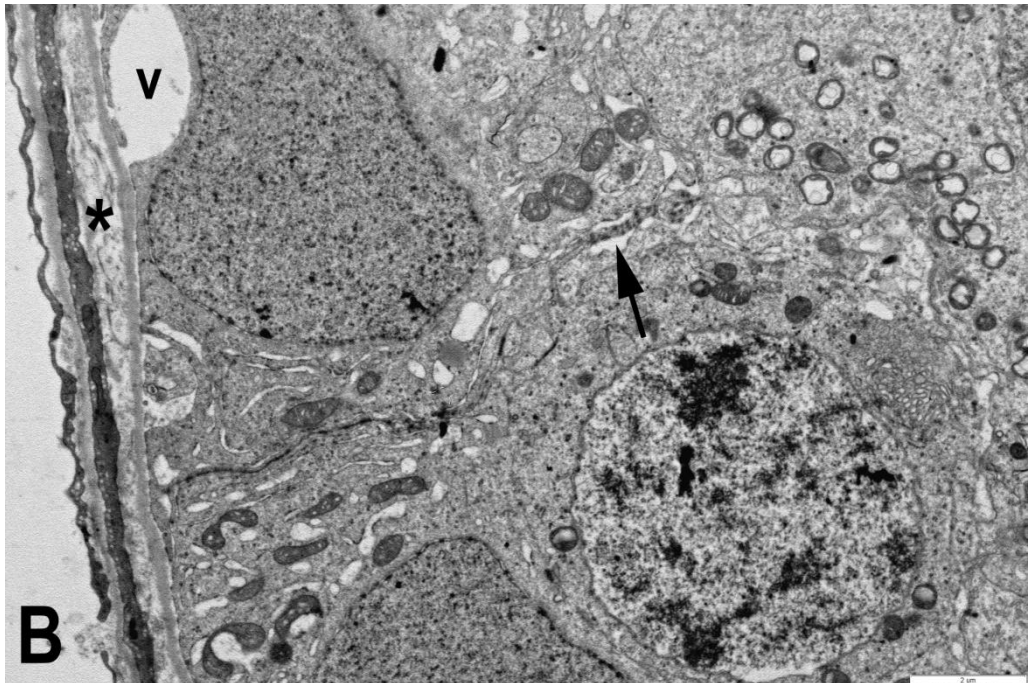
Vazektomi uygulamasından 6 ay sonraki grupta seminifer tübül hasarı oldukça belirgindir. Seminifer tübül duvarındaki hücre sırası 1-2 hücreye kadar gerilemiştir. Sertoli hücrelerinin ve spermatogenik seriye ait hücrelerin morfolojileri bozulmuş ve hücreler arası alanlarda büyük boşlukların olduğu gözlenmiştir. Tübül lümeninde köpüksü hücre artıklarının olduğu görülmüştür. Bazal lamina ileri derecede kalınlaşmış ve ondülasyon tarzında düzensizliklere rastlanmıştır. Hücreler arasındaki açılmalardan dolayı sıkı bağlantılar gözlenememiştir (Resim 14).

**Resim 11 A, B, C: Kontrol grubunda,** düzenli morfolojide bazal laminanın, Sertoli hücrelerinin, spermatogonyumların, primer spermatositlerin ve hücreler arasındaki sıkı bağlantıların (→) düzenli morfolojisi görülmektedir.

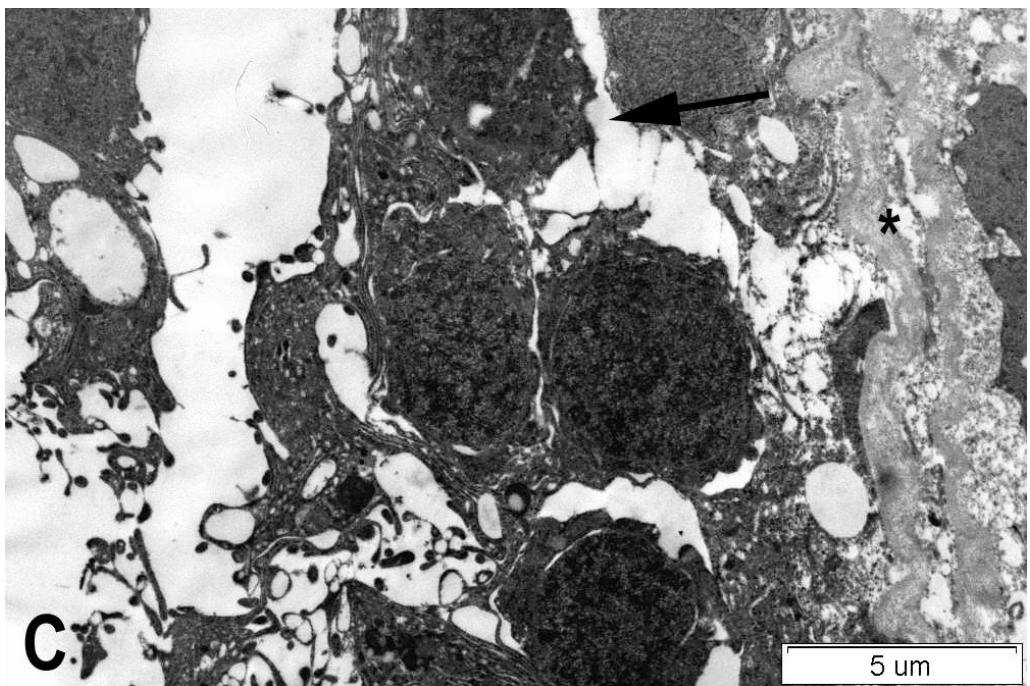
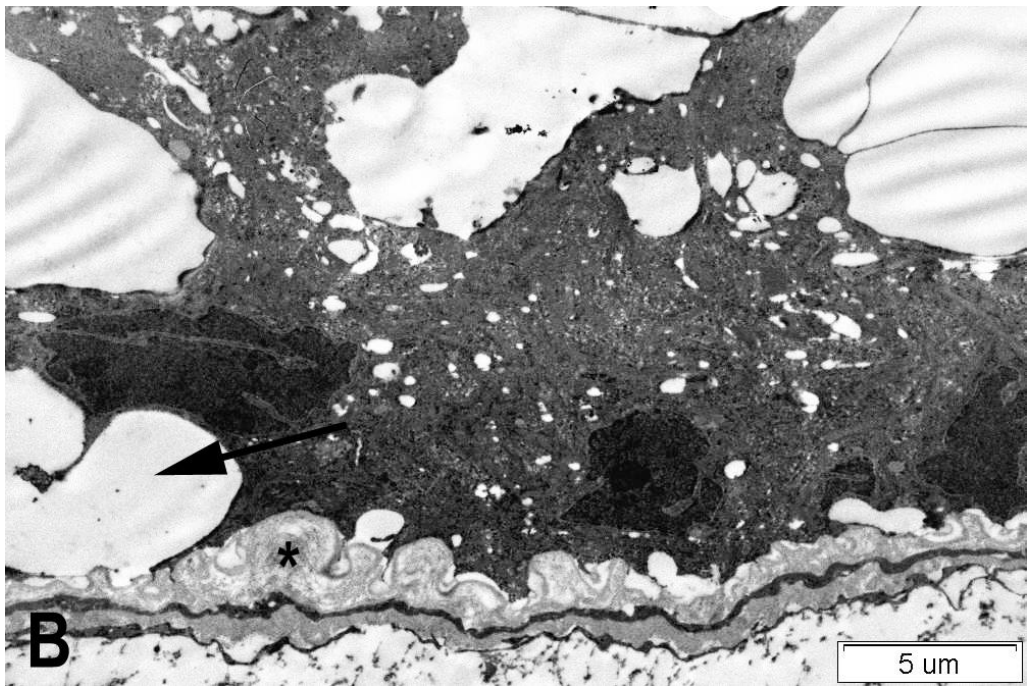
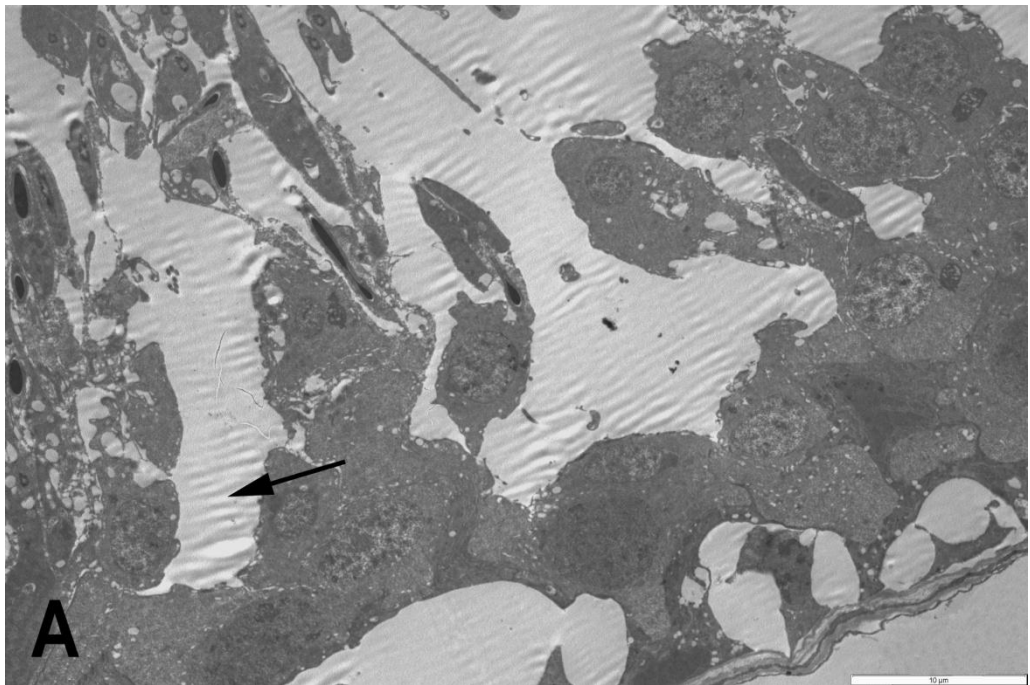


**Resim 12 A, B, C: Vazektomi 1 ay grubunda,** bazı tübüllerin bazal bölümlerinde hücre içinde (v) ve sıkı bağlantıların etrafındaki sitoplazmik alanlarda (→) vakuol oluşumlarına rastlanmıştır. Birçok tübülde bazal lamina düzgün morfolojide iken, bazı alanlarda lokal bazal lamina kalınla malarına (\*) rastlanmıştır.



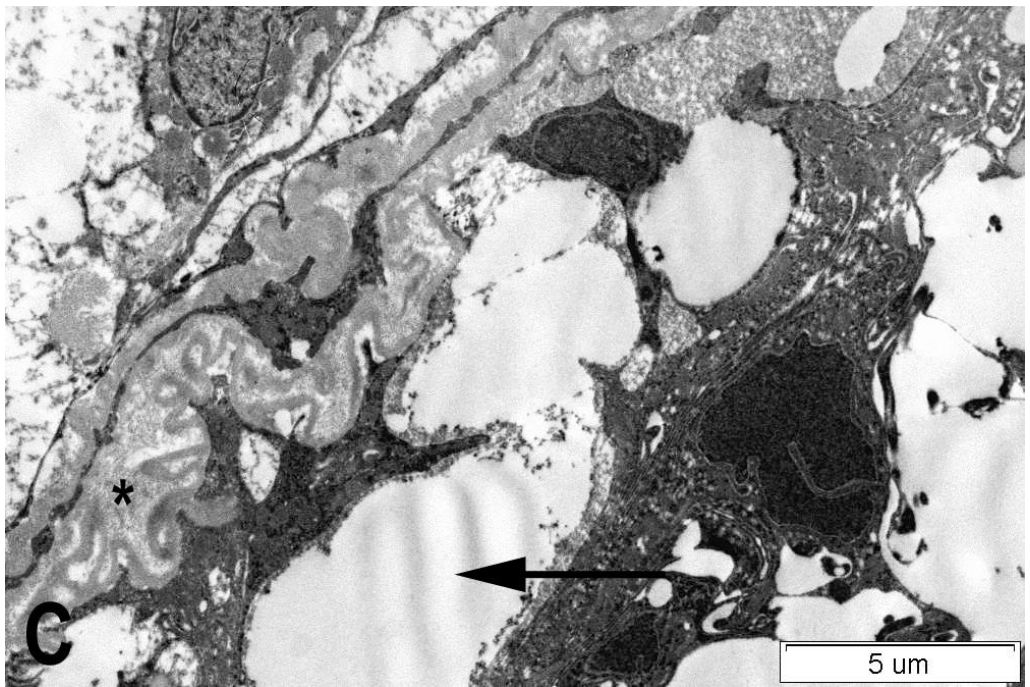
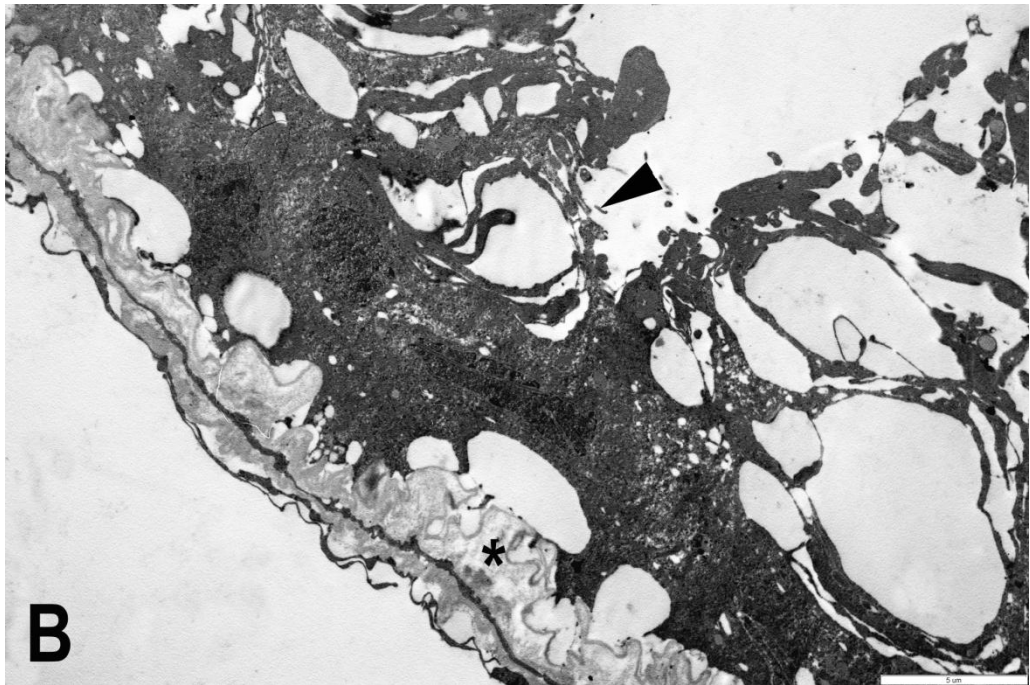
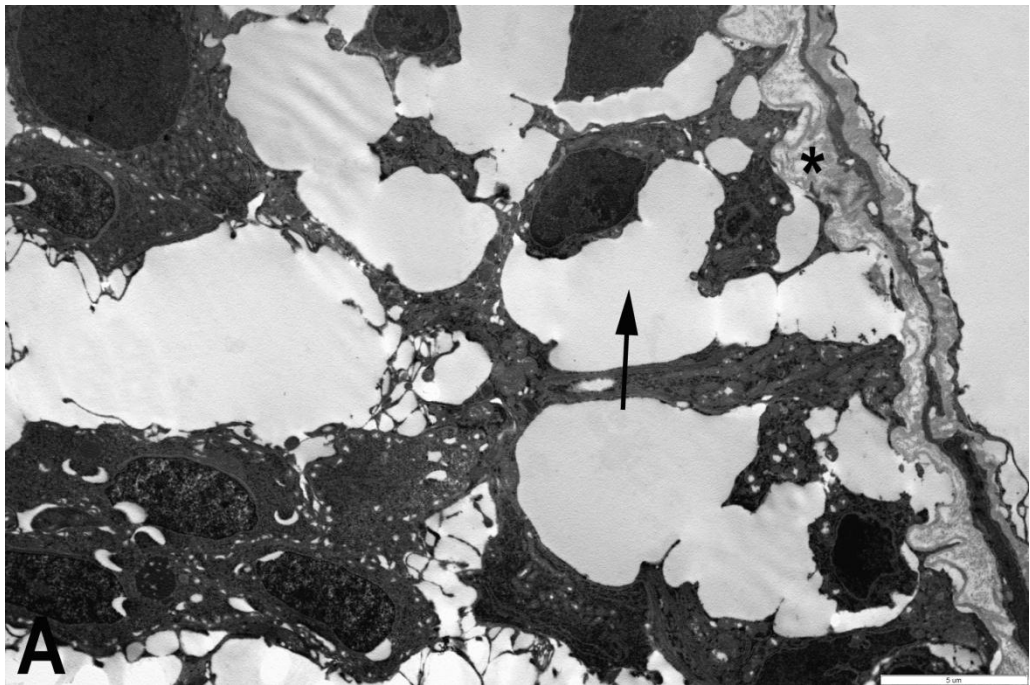


**Resim 13 A, B, C: Vazektomi 3 ay grubunda,** bazale yakın bölgelerde hücreler arasında ileri derecede büyük açılmaların (→) olduğu gözlenmiştir. Spermatogenik seriye ait hücrelerin bazaldan lumene doğru dizilimlerinde kayıplar olduğu gözlenmiştir. Ayrıca birçok alanda bazal laminada (\*) kalınlaşmaya ve parmaklı uzantılar şeklinde düzensiz yapılara rastlanmıştır.



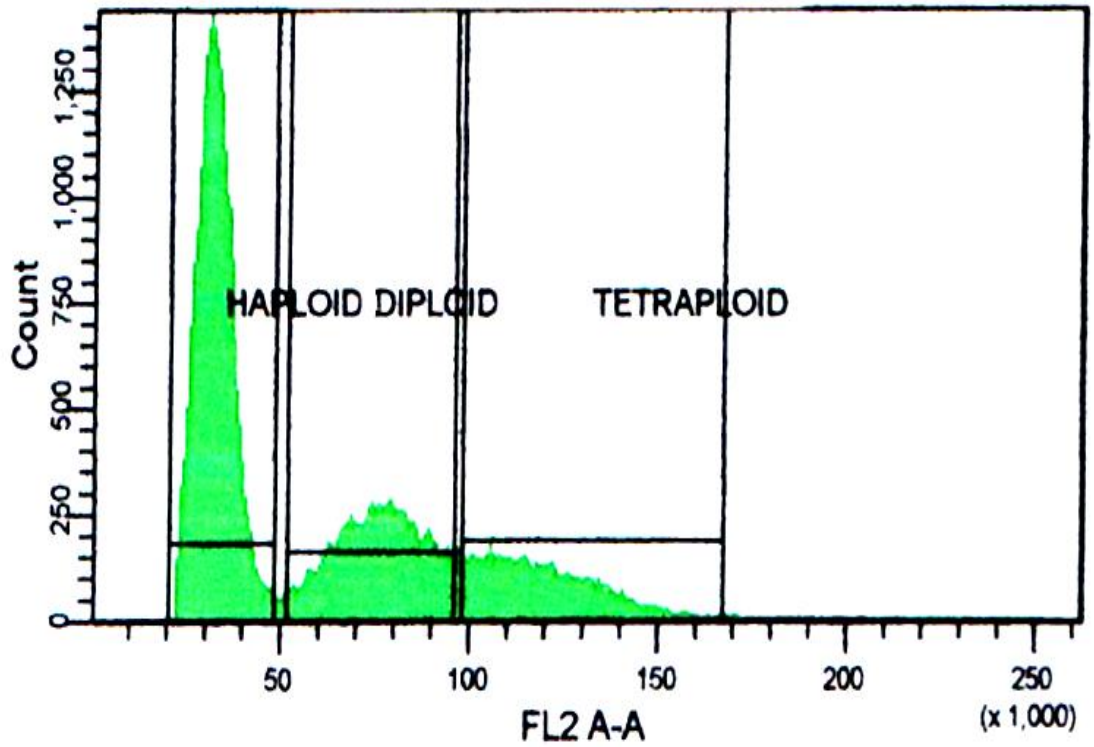
**Resim 14 A, B, C: Vazektomi 6 ay grubunda,** Seminifer tübül duvarındaki hücre sırası 1-2 hücreye kadar gerilemiştir. Sertoli hücrelerinin ve spermatogenik seriye ait hücrelerin morfolojileri bozulmuş, organelleri hasar görmüş ve hücreler arası alanlarda (→) büyük boşlukların olduğu gözlenmiştir. Tübül lümeninde köpüksü hücre artıklarının (►) olduğu g r lm ştir. Bazal lamina (\*) ileri derecede kalınlaşmış ve ondülasyon tarzında düzensizliklere rastlanmıştır.



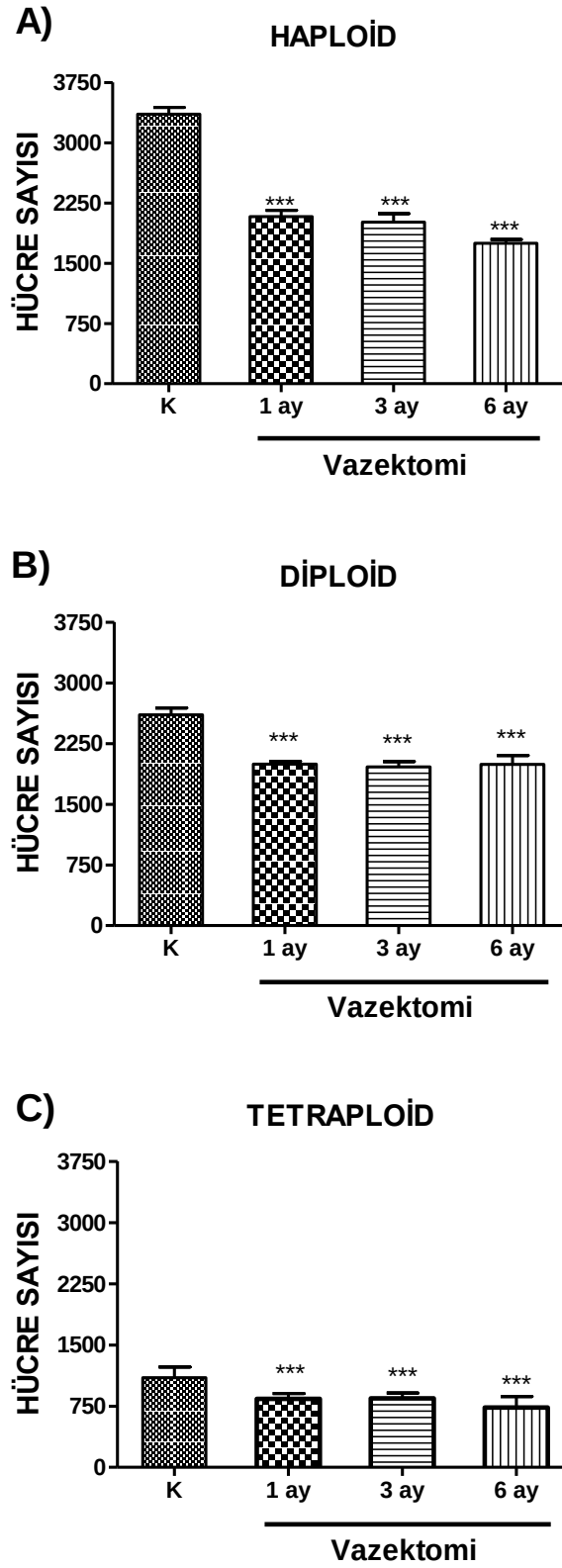


#### 6.10. Akım Sitometresi Bulguları

Kontrol grubu ile kıyaslandığında, vazektomi 1, 3 ve 6 aylık gruplarda sırasıyla haploid (1 ay:  $p<0,001$ ; 3 ay:  $p<0,001$ ; 6 ay:  $p<0,001$ ), diploid (1 ay:  $p<0,001$ ; 3 ay:  $p<0,001$ ; 6 ay:  $p<0,001$ ) ve tetraploid (1 ay:  $p<0,001$ ; 3 ay:  $p<0,001$ ; 6 ay:  $p<0,001$ ) hücre sayısında anlamlı bir şekilde düşüş gözlenmiştir (Şekil 5, 6).



**Şekil 5:** Akım sitometrisi ölçüm sonuçlarına göre kontrol grubunda haploid, diploid ve tetraploid hücrelerin dağılımı.

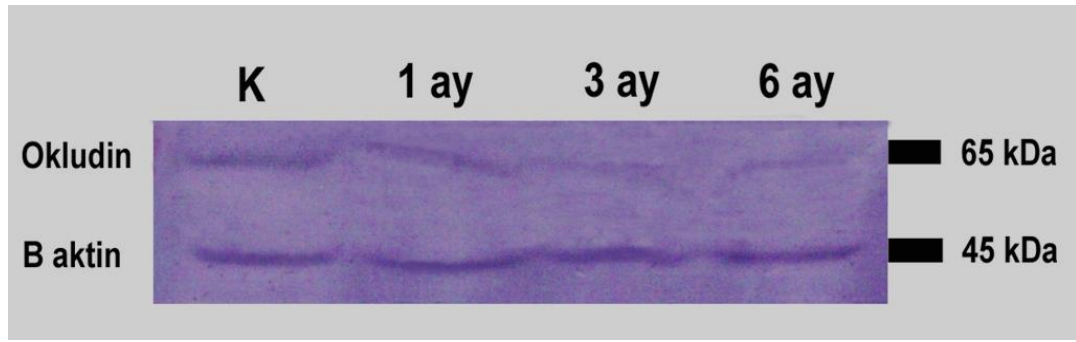


**Şekil 6:** Akım sitometresi ölçüm sonuçlarına göre haploid (A), diploid (B) ve tetraploid (C) hücrelerin gruplara göre dağılımı. (\*\*\*)  $p < 0.001$  kontrol grubu ile vazektomi 1, 3 ve 6 ay grupları kıyaslandığında.

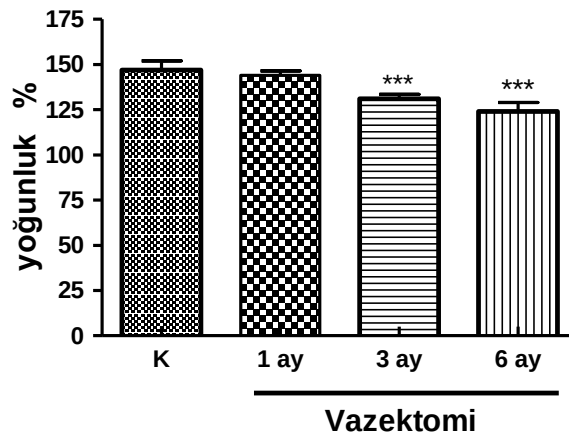


### 6.11. Western Blot Analizi

Deney gruplarında molekül ağırlığı 65 kDa olan okludin proteini miktarı Western blot tekniğiyle değerlendirilmiştir. Protein miktarı kontrolü beta aktin kullanılarak yapılmıştır. Okludinin Western blot analizi dansitometrik olarak değerlendirilmiştir. Kontrol grubunda okludin immunoreaktivitesi koyu bir bant şeklinde gözlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 1 ay grubunda okludin immunoreaktivitesinde bir değişiklik görülmezken, 3 ve 6 aylık vazektomi gruplarında, okludin immunoreaktivitesi zayıf bantlar şeklinde gözlenmiştir (Şekil 7A). Kontrol grubu ile kıyaslandığında okludin proteinin yoğunluğu 1 ay grubunda anlamlı değişmezken, 3 ve 6 ay gruplarında anlamlı bir şekilde ( $p<0.001$ ) düşmüştür (Şekil 7B).



A)



B)

Şekil 7: Kontrol ve deney gruplarındaki Okludin proteininin Western blot analiz resmi (A). Okludin Western blot verilerinin dansitometrik analiz grafiği. \*\*\*  $p<0.001$  Kontrol grubuyla (K) vazektomi 3 ay ve 6 ay grupları kıyaslandığında (B).

## 7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Vazektomi, erkek sterilitesinde giderek artan sıklıkta kullanılan etkili ve güvenilir bir aile planlaması yöntemidir. Tarihte ilk rapor edilen vazektomi vakası 1897 yılında yapılmıştır (33). O zamandan günümüze uygulama sıklığı oldukça artmıştır. Kullanılma sıklığının artışından dolayı insan testisi üzerine olan etkilerinin tam olarak anlaşılabilmesi için çalışmalar yapılmaktadır. İnsan dokusu üzerine araştırma yapmak oldukça zor olduğundan birçok araştırmacı deney hayvanları üzerinde yaptıkları vazektomi uygulaması sonrası meydana gelen değişiklikler üzerinden insanda olabilecek değişiklikleri açıklamaya çalışmışlardır. Vazektomi uygulaması sonrası meydana gelen değişiklikler sıçan, kobay, köpek, hamster, tavşan ve maymun gibi hayvanlar üzerinde gösterilmiştir (2, 42, 44, 61, 65, 77, 85).

Vazektomi sonrası testis ağırlığında geçen zamana bağlı olarak düşüş görülmüştür. Bu çalışmalarda testislerde belirgin atrofi rapor edilmiştir (9, 48, 58, 65, 69). Bir çalışmada vazektomiden 6 hafta sonra testis ağırlığında minimal azalma saptanmış, süre ilerledikçe azalmanın devam ettiği görülmüştür. Vazektomiden 12 hafta ve 1 yıl sonra belirgin makroskopik testis atrofisi izlenmiştir (58). Çift taraflı vazektomiden 4 hafta sonra testis ağırlığında azalma saptanan başka bir çalışmada, 6 ay sonra ağırlıktaki azalmanın sürdüğü ve sıçanlarda belirgin testis atrofisinin olduğu görülmüştür. Apoptotik hücre sayısında da artış tespit edilmiştir (69). Vas deferensin bağlı olmasından dolayı lümen içinde gelişen basınç artışı olabileceği bunda önce apoptozise ve dejenerasyona neden olacağı daha sonra da atrofi gelişebileceği düşünülmüştür. Tek taraflı yapılan vazektomiden 4 hafta sonra vazektomi yapılan tarafta ağırlıkta düşüş görülmüş ve sebep olarak interstisyel alanda bulunan miyoid hücrelerinin fibronektin ve kollajen I salgılaması olduğu ileri sürülmüştür (9). Vazektomiden 1 ay ve 12 ay sonra, sıçan ve köpekleri karşılaştıran bir çalışmada oluşan atrofının nedeni olarak operasyon tekniği, hayvan türleri ve operasyon sonrası geçen süre olduğu görülmüştür (65). Yine tek taraflı vazektomiden 6 ay sonra yarı yarıya testis atrofisine rastlanmış ve bazı sıçanlarda atrofının çift taraflı olduğu görülmüştür. Tek taraflı vazektomi sonrası çift tarafta atrofi oluşmasının nedeni olarak immunolojik sebepler düşünülmüştür (48). Farelerde yapılan bir çalışmada

vazektomi sonrası 4., 6., 9. ve 12. aylarda vücut ağırlıkları ölçülmüş fakat kontrol grupları ile vazektomi grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Aynı çalışmada testis ağırlıkları da ölçülmüş vazektomi gruplarında testis ağırlığı bakımından düşüş görülmüştür (72).

Bizim çalışmamızda da testis ağırlığı olarak vazektomi 1 aylık grupta anlamlı bir değişiklik görülmezken, vazektomi 3 ve 6 aylık gruplarda belirgin bir düşüş görülmüştür. Makroskopik olarak da izlenen testis atrofisinin nedeni olarak vas deferensin bağlanması sonucu meydana gelen hidrostatik basınç ve artan apoptozis sonucu hücre kaybı olabileceğini düşünmekteyiz. Yaptığımız testis alanı ölçümlerinde kontrol grubu ile vazektomi grupları kıyaslandığında testis alanında anlamlı azalma görülmüştür. Kontrol ve vazektomi gruplarında testis ağırlığı ile testis alanı arasında paralellik gözlenmiştir. Ancak, kontrol grubu ile vazektomi grupları arasında sıçan ağırlığı bakımından anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bulgularımız literatürle uyumlu olup, vazektomi testis ağırlığını ve testis alanını zamana bağlı olarak gittikçe azaltırken, vücut ağırlığı üzerine herhangi bir etki yapmamaktadır.

Vazektomi uygulamasının germ hücrelerinin çoğalması ve farklılaşması süreci olan spermatogenez üzerinde olumsuz etkileri vardır. Vazektomi sonrası yaygın spermatogenik dejenerasyon ilk olarak köpeklerde 3. haftada (80), insanda 1. ayda (25), sıçanlarda 5.-12. haftada (37, 69, 83), tavşanlarda 10. günde (35) ve farelerde 6. ayda (72) gösterilmiştir. Vazektomi sonrası spermatogenik hasar türlere göre değişmektedir. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada tek taraflı vazektomiden 4 hafta sonra her iki testiste de germ hücre azalması ve lamina propria kalınlaşması gözlenmiştir. Aynı çalışmada folikül stimüle eden hormon (FSH), Lüteinizan hormon (LH) ve testosteron seviyelerinde herhangi bir değişiklik bulunmazken malondialdehit seviyesinde anlamlı yükselme görülmüştür (8). Vazektomi sonrası köpekleri ve sıçanları birlikte değerlendiren diğer bir çalışmada vazektomiden 4 ay sonra epiteli destekleyen bazal membranda bariz kalınlaşma görülürken, 6 ay sonra değişiklikler daha net bir şekilde görülmüştür. Bu ayda seminifer tübüller atrofik ve daralmış vaziyette iken bazı seminifer tübüllerde seminifer epiteli ortadan kaybolmuştur. Ara dokuda interlobüler hipertrofi görülürken Leydig hücrelerinin

sayısında anlamlı bir değişiklik bulunmamıştır (65). Başka bir çalışmada vazektomiden 12 hafta sonra seminifer tübüllerde hafif germinal hücre kaybı görülürken 6 ay sonra germinal epitelde yaygın hücre kayıpları ve organizasyon bozukluğu görülmüştür. Bunlara ek olarak tübüller arası bölgede genişleme ve kollajen lif miktarında artma bulunmuştur. Damar yapılarında ise herhangi bir değişiklik saptanmamıştır (83). Kobayda yapılan diğer bir çalışmada vazektomiden 3 yıl sonra, spermatid kaybından başlayıp Sertoli hücreleri de dahil olmak üzere tüm epitelyal yapıların ortadan kaybolmasına varacak kadar dejeneratif değişiklikler gözlenmiştir (1). Sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada vazektomiden 9 ay sonra dejeneratif tübüller gözlenirken spermatogenik seride az hücre kaldığı görülmüştür. Kalan bu hücrelerin Sertoli hücrelerinin genel özelliklerine sahip olduğu gözlenmiştir. Bu hücrelerin çekirdeklerinin dağınık olduğu sitoplazmalarında geniş vakuoller bulunduğu dikkati çekmiştir (18). Sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada vazektomiden 6 hafta sonra spermatogenik hücre diziliminde yer yer düzensizlik, 12 hafta sonra hücre sayılarında azalma ve organizasyon bozukluğu görülmüştür. Vazektomiden 1 yıl sonra germinal epiteldeki dejenerasyonun daha da arttığı görülmüştür. Leydig hücrelerinde değişiklik saptanmazken, zamana bağlı olarak interstisyel alanda kollajen miktarının arttığı görülmüştür (58). İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalar sınırlı olmasına rağmen ilk yapılan çalışmalardan birisinde vazektomiden 1 ay sonra germinal epitelde yaygın dejenerasyon, bazal membranda kalınlaşma ve bazı tübüller arası bölgede fibrozis gözlenmiştir. Spermatogenezisin durduğu görülmüştür (25). Bir diğer çalışmada seminifer tübül duvarında kalınlaşma, enine kesilmiş tübül alanında artma, Sertoli hücreleri ve spermatid sayılarında azalma gözlenmiştir. Örneklerin %23'ünde bölgesel olarak interstisyel alanda fibrozis görülmüştür (31). Bir testis biyopsi çalışmasında vazektomi sonrasında geçen süre belirtilmeden, seminifer tübül duvarı kalınlaşmasında anlamlı bir artış ve bölgesel interstisyel fibrozis görülmüştür. Antisperm antikoruna da bakılmış fakat anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (32). Vazektomi sonrasında vazovazostomi (vazektominin geri dönüşümü) yapılması planlanan kişilerden alınan testis biyopsilerinde interstisyel alanda anlamlı bir bağ doku birikimi görülmüştür (70).

Bizim çalışmamızda vazektomiden 1 ay sonra dejeneratif seminifer tübüller görülürken spermatogenik serideki hücrelerde kısmi azalma görülmüştür.

Spermatogenik hücrelerin bazılarında vakuol yapıları gözlenmiştir. Hücreler arası alanlarda genişlemeler görülürken genel olarak tübül organizasyonun düzgün olduğu görülmüştür. Üç ay sonra dejeneratif tübüllerin yanında atrofik tübüllerde görülmüş ve spermatogenik serideki hücrelerde sayıca düşüş gözlenmiştir. Hücreler arasında vakuol oluşumu çoğalmış ve seminifer tübülün lümeninde döküntü hücreler görülmüştür. Vazektomiden 6 ay sonra yoğun bir şekilde seminifer tübül dejenerasyonu gözlenirken çok sayıda atrofik tübül görülmüştür. Bu atrofik tübüllerde spermatogenik seriye ait hücreler oldukça azalmıştır. Vazektomi 1 ay grubunda dejeneratif tübüllerde hafif kalınlaşma görülürken, vazektomiden 3 ve 6 ay sonra geçen zamana bağlı olarak bazal membranda bariz bir şekilde kalınlaşma görülmüştür. Vazektomi 1 ay grubunda interstisyel alanda kısmi bağ doku artışı görülürken 3 ve 6 aylık vazektomi gruplarında sırasıyla bu artışın daha da belirgin hale geldiği gözlenmiştir. Bağ doku artışı atrofik tübüllerin sayısında artışla paralellik göstermektedir. Diğer bulgulara ek olarak yarı ince kesitlerin incelenmesinde, vazektomiden 1 ay sonra başlayan ve geçen süreye bağlı olarak giderek artan hücreler arası açılmalar ve epitelyum içi vakuoller görülmüştür.

Tek taraflı vazektomi yapılmış sıçanlarda vazektomiden 1 ay sonra, elektron mikroskopik incelemede bazal membranda kalınlaşma, peritübüler alanda kollajen birikimi ve çoğu miyoid hücrede dejeneratif bulgular gözlenmiştir. Sertoli hücrelerinde dejenerasyon olmakla birlikte bu hücreler arasındaki sıkı bağlantılar ortadan kaybolmuştur (9). Köpeklerde yapılan bir çalışmada vazektomi sonrası olgun spermatosit sayısında azalma, germinal hücrelerde dökülme, immature germinal hücreler, multinükleer spermatidler gözlenmiştir. Leydig hücrelerinde ise herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (84). Hamsterde yapılmış bir çalışmada vazektomiden 14 ay sonra spermatogonyum tip A hariç tüm spermatogenik serideki hücrelerde sayıca azalma ve dejenerasyon gözlenmiştir. Sekiz aylık grupta kep fazında bolca çok çekirdekli spermatidler gözlenmiştir (79). Vazektomiden sonra geç dönem değişiklikleri gösteren bir çalışmada Sertoli hücrelerinin çekirdeklerinde derin yarıklar ve periferde kümelenmiş heterokromatin görülmüştür. Miyoid hücreler üçgen şeklinde çekirdeklere sahip olup, seminifer epitelin bazal laminası ile miyoid hücrelerin iç kısmında bulunan bazal lamina arasında açılmalar görülmüştür (18). Diğer bir çalışmada Sertoli hücrelerinin ve spermatogonyumların vazektomiye karşı

dirençli oldukları gözlenmiştir. Aynı çalışmada 12 hafta sonra germinal epitelde açılmalar ve 6 ay sonra bazal membran kalınlaşmasının yanında spermatogenik hücrelerde kromatin yoğunlaşması görülmüştür (83). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada vazektomiden 6 hafta sonra Sertoli hücresi sitoplazmasında az sayıda vakuol ve spermatogenik hücreler arasında minimal ayrılmalar izlenmiş ve geçen zamana bağlı olarak 1 yılın sonunda artış saptanmıştır. Vazektomiden 12 hafta sonra seminifer tübül duvarında kollajen miktarında artış, Sertoli hücre çekirdeğinde artmış heterokromazi ve sitoplazmasında vakuoller gözlenmiştir. Bir yıl sonunda diğer gruplarla kıyaslandığında daha fazla kollajen lif artışı ve vakuoller görülmüştür (58). Tek taraflı vasal ligasyon yapılmış sıçanlarda 3 ay sonra seminifer tübül epitelinde germ hücre kaybından dolayı vakuoller görülmüştür. Spermatositlerde intranükleer vakuolizasyon, Sertoli ve spermatogonyum hücrelerinde sitoplazmik dejenerasyon gözlenmiştir. Aynı çalışmada epididimal ligasyon grubunda spermatogonyal seriye ait hücrelerde mitokondriyal dejenerasyon ve anormal spermatozoa saptanmıştır. Vazektomi yapılmayan taraftaki testiste özellikle peritübüler yerleşmiş spermatositlerde çekirdekte derin yarıklar ve mitokondriyal krista dejenerasyonu görülmüştür. Dejenerasyonlar erken spermatositlerde ve sıklıkla vasal ligasyon grubunda gözlenmiştir (3).

Bizim çalışmamızda vazektomi 1 ay grubunda, bazı bölgelerde özellikle bazale yakın kısımlarda olmak üzere hücreler arasında boşlukların olduğu ve bu bölgelerde sıkı bağlantıların bozulduğu görülmüştür. Birçok alanda bazal lamina düzenli morfolojide izlenmiştir. Vazektomiden 3 ay sonra birçok alanda hücreler arasında büyük boşlukların olduğu ve bu bölgelerde sıkı bağlantıların bozulduğu, spermatogenik hücre sırasının azaldığı görülmüştür. Bazal laminada kalınlaşma ve interstisyel alana doğru parmaklı uzantılar görülmüştür. Vazektomi 6 ay grubunda birçok alanda hücreler arasında büyük boşlukların olduğu ve bu bölgelerde sıkı bağlantıların ciddi olarak bozulduğu, spermatogenik hücre sırasının azaldığı izlenmiştir. Bazal laminada ileri derecede kalınlaşma ve düzensizlik görülmüştür. Spermatogenik serideki hücre sayısında azalmanın miktarına ve hücreler arasındaki organizasyonun bozulmasına paralel olarak bazal lamina yapısında düzensizlik görülmüştür.

Birçok deneysel vazektomi çalışmasında spermatogenik serideki hücrelerde apoptozis incelenmiştir. Hamsterda vazektomiden 3, 6 ve 12 hafta sonra Sertoli ve germ hücrelerinin apoptozisini inceleyen bir çalışmada kontrol ile vazektomi grupları arasında hücre ölümü açısından herhangi bir farklılık bulunmamıştır (44). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada vazektomiden sonra TUNEL ve flow sitometrik açıdan değerlendirilmiş TUNEL pozitif hücre sayısında artış bulunmuştur (68). Sıçanlarda tek taraflı vazektomiden 1, 2, 5 ve 10 hafta sonra apoptotik hücre sayısı olarak yapılan değerlendirmede sadece 5 ve 10 hafta sonraki gruplarda anlamlı artış saptanmıştır (37). Çift taraflı vazektomi uygulanmış sıçanlarda 1, 4, 8, 12 ve 24 hafta sonra TUNEL metoduyla ve flow sitometrik yöntemle inceleme yapılmıştır. TUNEL pozitif hücre sayısında 1 hafta sonra oldukça yüksek bir değer görülürken 4 hafta sonra kontrole göre anlamlı bir fark bulunmamıştır. Sekiz, 12 ve 24 hafta sonra anlamlı bir artış saptanmıştır. Haploid hücre sayısı 8, 12 ve 24 hafta sonra anlamlı olarak düşük bulunmuştur (69). Vazektomi sonrası erken dönemde apoptozu göstermek amacıyla yapılan bir çalışmada 1, 3, 5, 7 ve 9 gün sonra bakılmış, 1 gün sonrası hariç diğer gruplarda TUNEL pozitif hücre sayısında anlamlı artış gözlenmiştir. Özellikle 7 gün sonra artışın en üst seviyeye ulaştığı görülmüştür (71). Vasa obstruksiyon yapılmış sıçanlarda 4 ve 8 hafta sonra haploid hücre sayısında kontrole göre anlamlı düşüş gözlenmiştir (57). Bir diğer çalışmada vazektomi sonrası prostatta apoptotik hücrelere bakılmış ve kontrole göre TUNEL pozitif hücre sayısının anlamlı yüksek olduğu gösterilmiştir (23). Tek taraflı epididimal ve vasal ligasyon yapılmış sıçanlarda 3 ay sonra vasal ligasyon yapılmış sıçanların ipsilateral tarafında TUNEL pozitif hücre sayısında diğer gruplara göre anlamlı artış gözlenmiştir (56).

Bizde çalışmamızda vazektomiden 1, 3, ve 6 ay sonra TUNEL pozitif işaretlenmiş hücrelerin sayısını değerlendirdik. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tüm vazektomi gruplarında anlamlı TUNEL pozitif hücre artışı gözlenmiştir. Geçen zamana bağlı olarak vazektomi 1 ay grubu ile karşılaştırıldığında vazektomi 3 ve 6 ay gruplarında da anlamlı bir artış söz konusudur. Akım sitometrik bulgularımıza göre de vazektomi uygulamasından 1, 3 ve 6 ay sonra haploid, diploid ve tetraploid DNA içeriğinde anlamlı düşüş görülmüştür. En fazla azalma haploid içerikli geç spermatidlerde ve spermatozoonlarda görülmüştür. Vazektomi uygulamasından sonra



meydana gelen basıncın seminifer tübüllerde hasara neden olduğu ve germ hücre kaybı yaşandığı düşünmekteyiz. Spermatogenik serideki hücrelerin kaybindan dolayı seminifer epitelde vakuolizasyon gözlenmiştir. Vazektomiden sonra zamana bağlı olarak dejeneratif ve atrofik tübüllerde sayıca artış ve seminifer epitelde vakuolizasyon, apoptotik hücre sayısındaki artış ve haploid, diploid ve tetraploid hücrelerdeki azalma ile paralellik göstermektedir.

Testiste sıkı bağlantı dinamiklerini araştırmak için birçok çalışma yapılmıştır. İnsan ve deneysel çalışmalarda, kriptorşidizm ve testiste patoloji oluşturularak ve embriyonik dönemde değişik ajanlar kullanılarak oluşturulan testis hasarlarında Sertoli hücreleri arasında yer alan sıkı bağlantıları oluşturan bağlantı proteinleri incelenmiştir. Sıkı bağlantı proteinlerinden olan okludinin ekspresyonu yetişkin tavşan (86) ve köpeklerin (26) testis ve epididimisinde gösterilmiştir. Kan-testis bariyeri kompleksinin henüz morfolojik olarak düzenlenmediği postnatal 14-20 günlük sıçanlarda kan-testis bariyeri ile apoptotik hücre ölümü arasındaki ilişki incelenmiştir. Bu çalışmada zigoten ve pakiten spermatositlerinde görülen artmış programlı hücre ölümünün kan-testis bariyerinin gelişmemesine bağlı olabileceği bildirilmiştir (54). İnsanda testiküler karsinoma in Situ vakalarında sıkı bağlantı proteinlerinden ZO-1 ve ZO-2 gösterilmiştir. Bu çalışmada germ hücresi tümörü içeren testislerde ZO-1 ve ZO-2 proteinlerinin oldukça zayıf ve dağınık bir ekspresyonu görülmüştür (22). Kriptorşid fare, sıçan ve insanda proliferen ve farklılaşan spermatogenik hücrelerde ve Sertoli hücrelerinde hasar ve Sertoli hücreleri arasında bulunan sıkı bağlantı bölgesi proteinlerindeki fonksiyonel hasardan dolayı kan-testis bariyerinde bozulmalar rapor edilmiştir (60). Embriyonik dönemde radyasyon ve postnatal dönemde hipertermi modeli oluşturulmuş sıçanların testislerinde sıkı bağlantı proteinlerinden ZO-1 ve okludin dağılımlarına bakılmıştır. Bu çalışmada kontrolle kıyaslandığında radyasyon ve hipertermi birlikte uygulanmış gruplarda spermatogenik hasara paralel olarak giderek düşen bir ZO-1 ve okludin immunreaktivitesi görülmüş, radyasyon ve hiperterminin birlikte uygulandığı gruplarda ise immunreaktivitenin olmadığı görülmüştür (20). Bir diğer çalışmada ise gebelik döneminde etanol uygulanmış sıçanların testislerinde sıkı bağlantı proteinlerinden ZO-1 ve okludin dağılımında azalma olduğu rapor edilmiştir (15). Tek taraflı vasal ve epididimal ligasyon yapılmış sıçanlarda 3 ay sonra konneksin 43

ve okludin proteinlerinin dağılımına bakılmıştır. Bu çalışmada vasal ligasyon yapılmış grupta testiste okludin immunlokalizasyonunda anlamlı bir düşüş görülmüştür. Epididimal ligasyon uygulanmış sıçanlarda gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (3).

Bizim çalışmamızda vazektomi uygulamasından bir ay sonra sadece bazı alanlarda okludin immunoreaktivitesi gözlenirken 3 ay ve 6 ay gruplarında okludin immunoreaktivitesinin çok zayıf ve dağınık olduğu gözlenmiştir. Okludin immunoreaktivitesinin ve miktarının zamana paralel olarak azalması tübül içi basıncın artmasından dolayı sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunun engellenmesinden veya sıkı bağlantı proteinlerinin birbirleri ile olan etkileşimlerinin değişmesinden dolayı olabilir.

Vazektomi uygulaması zaman bağlı olarak, interstisyel alanda bağ doku artışına, hücre ölümünde artışa, haploid hücre sayısında düşüşe ve sıkı bağlantı proteinlerinden okludinin sentezinde azalmaya sebep olmuştur. Erkeklerde doğum kontrol yöntemi olarak uygulanan vazektomi programlı hücre ölümünü tetikleyerek daha sonrada sıkı bağlantı proteinlerinin miktarını azaltarak tübüllerde sperm üretimini engellemektedir. Vazektomi süresi uzadıkça germinal epiteli oluşturan spermatogenik serideki ve Sertoli hücrelerinde meydana gelen değişikliklerin geri dönüşümünün oldukça zor olduğunu göstermektedir. Detaylı olarak yapmış olduğumuz bu morfolojik çalışma ile vazektomi yönteminin uygulanabilir ve kalıcı bir aile planlaması yöntemi olarak kullanılabileceğini ancak vazektomi geri dönüşümü düşünülecekse süreye dikkat edilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

## 8. KAYNAKLAR

- 1.Aitken H, Kumarakuru S, Orr R, Reid O, Bennett NK, McDonald SW. (1999). Effect of long-term vasectomy on seminiferous tubules in the guinea pig. *Clinical Anatomy*, 12(4):250-63.
- 2.Alexander NJ. (1973). Autoimmune hypospermatogenesis in vasectomized guinea pigs. *Contraception*, Aug;8(2):147-164.
- 3.Altay B, Turna B, Öktem G, Aktuğ H, Semerci B, Bilir A. (2008). İmmunohistochemical expression of connexin 43 and occludin in the rat testis after epididymal and vasal ligation. *Fertility and Sterility*, Jul;90(1):141-147.
- 4.Apoptag Plus Peroksidaz In situ Apoptosis. S7101. Chemicon International. Kiti Kullanım Kitapçığı, syf:1-7, 2005.
- 5.Asan Ç, Ateşçi Y, Gündüz Mİ, Gümüş B, Lekili M. (2004). Doğum kontrol yönteminde ürologların tercihi. *Türk Üroloji Dergisi*, 30 (1):103-105.
- 6.Attanasio A, Schiffer D. (1990). Ultrastructural detection of DNA strand breaks by in situ end-labelling techniques. *The Journal of Pathology*, 176:27-35.
- 7.Awsare NS, Krishnan J, Bustead GB, Hanbury DC, McNicholas TA. (2005). Complications of vasectomy. *Ann. R. Coll. Surg. Engl.*, 87:406–410.
- 8.Aydos K, Kupeli B, Soygur T, Unsal A, Erden E, Tulunay O, Kupeli S. (1998). Analysis of the relationship between histologic alterations and the generation of reactive oxygen species in vasectomized rat testes. *Urology*, 51:510-515.
- 9.Aydos K, Soygür T, Küpeli B, Ünsal A, Tolunay Ö, Erdem E, Güven C, Küpeli S. (1998). Testicular effects of vasectomy in rats: an ultrastructural and immunohistochemical study. *Urology*, 51:1051–1056.
- 10.Bahr GF, Bartes PH, Dytech HE, Koss LG, Wied GL. (2006). Flow cytometry in diagnostic cytology and its histopathologic bases. 5 th Edition, USA. p.1712-1719.
- 11.Bancroft JD, Stevens A. (1996). Theory and practice of histological techniques. Churchill Livingstone, Fourth Edition, New York. p.585-626.

- 12.Bartz D, Greenberg JA. (2008). Sterilization in the United States. *Reviews in Obstetrics and Gynecology*, 1(1):23-32.
- 13.Chapman RS, Chresta CM, Herberg AA, Bere HM, Heer S, Whetton AD, Hickman JA, Dive C. (1995). Further characterization of the in situ terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) assay for the flow cytometric analysis of apoptosis in drug resistant and drug sensitive leukemia cells. *Cytometry*, 20: 245-256.
- 14.Cook LAA, Van Vliet HHAAM, Lopez LM, Pun A, Gallo MF. (2007). Vasectomy occlusion techniques for male sterilization (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue 2. Art. No: CD003991. p.1-10
- 15.Çanilloğlu YE. (2008). İn Utero Etanol Uygulanmasının Sıçan Testis Morfolojisi, Hücre Ölümü ve Kan-Testis Bariyeri Üzerine Etkileri: İnfertilite Açısından Değerlendirme M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, (Danışman, Prof. Dr. Feriha Ercan).
- 16.Demir R. (2001). Histolojik Boyama Teknikleri, Palme Yayıncılık, Ankara. s.285-305.
- 17.Dennis LK, Dawson DV, Resnick MI. (2002). Vasectomy and the risk of prostate cancer: a meta-analysis examining vasectomy status, age at vasectomy, and time since vasectomy. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, 5:193–203.
- 18.Dobson CC, Reid O, Bennett NK, McDonald SW. (2000). Effect of vasectomy on the seminiferous tubule boundary zone in the Albino Swiss rat. *Clinical Anatomy*, 13(4):277-286.
- 19.Dohle GR, Weidner W, Jungwirth A. (2006). Guidelines on male infertility. *European association of Urology Guidelines, Arnhem Netherlands*, 1- 64.
- 20.Erkanlı G. (2008). Radyasyon ve Yüksek Isı Uygulamasının Sıçan Testis Morfolojisi, Hücre Ölümü ve Kan Testis Bariyeri Üzerine Etkileri: İnfertilite Açısından Değerlendirme. M.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, (Danışman, Prof. Dr. Feriha Ercan).
- 21.Feldman GJ, Mullinb JM, Ryan MP. (2005). Occludin: structure, function and regulation. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57:883–917.

- 22.Fink C, Weigel R, Hembes T, Wettwery HL, Kliesch S, Bergmann M, Brehm RH. (2006). Altered expression of ZO-1 and ZO-2 in Sertoli cells and loss of blood–testis barrier integrity in testicular carcinoma. in situ *Neoplasia*, Vol. 8, No. 12, December, pp. 1019-1027.
- 23.Gao DJ, Wu JS, Pan LJ, Feng F. (2006). Effects of vasectomy on prostatic histomorphology and cell apoptosis in rats. *Zhonghua Nan Ke Xue*. Nov;12(11):1007-1009.
- 24.Goldstein M, Walsh PC, Retik A, Vaughan DE, Wein AJ. (2002). Surgical management of male infertility and other scrotal disorders. Ed: Campbell's Urology. Vol.2. Eighth Edition, Saunders Company. p.1541-1556
- 25.Gupta AS, Kothari LK, Bapna RB. (1975). Surgical sterilization by vasectomy and its effects on the structure and function of the testis in man. *The British Journal of Surgery*, Jan;62(1):59-63.
- 26.Gye MC. (2004). Expression of occludin in canine testis and epididymis. *Reprod Dom Anim*, 39:43–47.
- 27.Harhaj NS, Antonetti DA. (2004). Regulation of tight junctions and loss of barrier function in pathophysiology. *The Int. J. of Bio Cell Bio.*, 36:1206–1237
- 28.Hendry WF. (1994). Vasectomy and vasectomy reversal. *The Br. J. of Surgery*, 73(4):337-344.
- 29.Herman CJ. (1992). Cytometric DNA analysis in the management of cancer. *Cancer*, 69:1553-1556.
- 30.Jangueria LC, Carneiro J, Kelley OR. (1998). Temel histoloji (Çev: Aytekin Y., Solakoğlu S., Ahışhalı B.), Barış kitabevi. s.407-422
- 31.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. *The New England Journal of Medicine*, 313,1252–1256.
- 32.Jarow JP, Goluboff ET, Chang TS, Marshall FF. (1994). Relationship between antisperm antibodies and testicular histologic changes in humans after vasectomy. *Urology*. Apr;43(4):521-524.

- 33.Jhaver PS. (1954) Clinical Studies in Men and Histological Studies in Sterilized Experimental Animals. Thesis Submitted to Agra University India.
- 34.Kendrick JS, Gonzales B, Huber DH, Grubb GS, Rubin GL. (1987). Complications of vasectomies in the United States. *The Journal of family practice*, 25:245–248.
- 35.Kong L, Huang A, Deng X, Yang Z. (2004). Quantitative (stereological) study of the effects of vasectomy on spermatogenesis in rabbits. *J. of Anat*, 205:147–156.
- 36.Koss LG, Lipincott JP. (1992). Chapter 36. pp. 1613-1657.
- 37.Kubota Y, Sasaki S, Kubota H, Tatsura H, Kohri KA. (2001). Study on the mechanism of the spermatogenic damage after vasectomy in rats. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi*, Jan;92(1):13-22.
- 38.Labrecque M, Dufresne C, Barone MA, Hilaire K. (2004). Vasectomy surgical techniques: a systematic review. *BMC Medicine*, 2:21.
- 39.Labrecque M, Pile J, Sokal D, Kaza CM, Rahman M, Bodh SS, Bhattarai J, Bhatt GD, Vaidya TM. (2005). Vasectomy surgical techniques in South and South East Asia. *BMC Urology*, 5:10.
- 40.Larsen WJ. (1997). Human Embryology. Churchill Livingstone, Second Edition, New York. s.373-388.
- 41.Linder R, Hess RA, Perreault SD, Strader LF, Barbee RR. (1988). Acute effects and long-term sequelae of 1,3-Dinitrobenzene on male reproduction in the rat I. sperm quality, quantity, and fertilizing ability. *J. of Andr.*, Vol.9,No.5, 317-326.
- 42.Lohiya NK, Tiwary SN, Ansari AS, Watts N. (1987). Long-term vasectomy effects on testis and accessory sex organ function in langur monkey. *Acta Europaea fertilitatis*, 18(3):207-211.
- 43.Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *The J. of Bio. Chemistry*, Nov;193(1):265-275.
- 44.Lue Y, Hikim APS, Wang C, Jonavera JJ, Baravarian S, Leung A, Swerdloff RS. (1997). Early effects of vasectomy on testicular structure and on germ cell and macrophage apoptosis in the hamster. *J. of Andrology*, Vol. 18. No. 2. 166-173.

- 45.Lui W, Mruk D, Lee WM, Cheng CY. (2003). Sertoli cell tight junction dynamics: Their regulation during spermatogenesis. *Biology of Reproduction*, 68:1087–1097.
- 46.Marieb EN. (2001). Human Anatomy and Physiology, 5th edition, Benjamin Cummings, San Francisco. s.567-588.
- 47.McDonald SW. (1996). Vasectomy review: sequelae in the human epididymis and ductus deferens. *Clinical Anatomy*, 9(5):337-342.
- 48.McDonald SW, Lockhart A, Gormal D, Bennett NK. (1996). Changes in the testes following vasectomy in the rat. *Clinical Anatomy*, 9(5):296-301.
- 49.McDonald SW, Scothorne RJ. (1988). A quantitative study of the effects of vasectomy on spermatogenesis in rats. *Journal of Anatomy*, 159:219-225.
- 50.McGee JOD, Isaacson PG, Wright NA. (1992). Oxford Textbook of Pathology, Vol 2b Pathology of systems Oxford University Press P: 2333-2337.
- 51.McGinn JS, Sim I, Bennett NK, McDonald SW. (2000). Observations on multiple sperm granulomas in the rat epididymis following vasectomy. *Clin. Anat.*, 13:185–194.
- 52.Memiş A. (1992). Vazektomide yeni bir teknik "İnsizyonsuz Vazektomi". *T Klin. Tıp Bilimleri*, 12:91-94.
- 53.Moore K, Persaud TVN. (2002). (Çeviri Editörleri: Yıldırım M., Okar İ., Dalçık H.), İnsan Embriyolojisi, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara. s.323-333
- 54.Morales A, Mohamed F, Cavicchia JC. (2007). Apoptosis and blood-testis barrier during the first spermatogenic wave in the pubertal rat. *The Anat. Rec.* 290:206–214.
- 55.Moroi S, Saitou M, Fujimoto K, Sakakibara A, Furuse M, Yoshida O, Tsukita S. (1998). Occludin is concentrated at tight junctions of mouse/rat but not human/guinea pig Sertoli cells in testes. *The American journal of physiology*, 274 (Cell Physiol. 43): p.1708–C1717.



- 56.Oktem G, Altay B, Turna B, Aktug H, Yavasoglu A, Yilmaz O, Semerci B. (2009). Determination of nitric oxide synthase activity and apoptosis of germ cells in different obstruction models. *Acta histochemica*, 111:119-126.
- 57.Otçu S, Karnak I, Okur HD, Tanyel FC. (2004). The effects of orchidopexy and orchidectomy on testes of rats subjected to ipsilateral abdominal testis with vas deferens obstruction. *Pediatr Surg Int*, Aug;20(8):614-617.
- 58.Özçınar E. (2002). Sıçanlarda Vazektomi Sonrası Testiste Meydana Gelen Değişiklerin Histokimyasal İncelenmesi ve Doku Çinko içeriğinin Kalitatif Analizi. M.Ü. Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, İstanbul, (Danışman Yrd. Doç. Dr. Şule Çetinel).
59. Park JM. (2007). Wein: Campbell-Walsh Urology, 9th ed. Section XVII–Pediatric Urology, Chapter 106–Normal Development of the Urogenital System. p. 657-684.
- 60.Pelletier RM, Okawara Y, Vitale ML, Anderson JM. (1997). Differential distribution of the tight-junction-associated protein ZO-1 isoforms a+ and a- in Guinea Pig Sertoli Cells: A Possible Association with F-Actin and G-Actin. *Biology of reproduction*, 57, 367-376.
- 61.Peng B, Zhang RD, Dai XS, Deng XZ, Wan Y, Yang ZW. (2002). Quantitative (stereological) study of the effects of vasectomy on spermatogenesis in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Reproduction*. Dec;124(6):847-856.
- 62.Quirke P, Dyson JED. (1986). Flow cytometry: methodology and applications in pathology. *Journal of Pathology*, 149; 79-87.
- 63.Ross HM, Romrell JL. (2006). Histology: a text and atlas. Section 21: Male reproductive system. 2nd edition. p.603-625.
- 64.Sadler TW. (2005). Langman Medikal Embriyoloji, Palme Yayıncılık, Ankara.
- 65.Sarrat R, Whyte J, Torres A, Lostalé F, Diaz MP. (1996). Experimental vasectomy and testicular structure. *Histology and Histopathology*, Jan;11(1):1-6.
- 66.Schwingl PJ, Guess HA. (2000). Safety and effectiveness of vasectomy. *Fertility and Sterility*, vol. 73:923-936.

- 67.Sgonc R, Wick G. (1994). Methods for the detection of apoptosis. *International Archives of Allergy and Immunology*, 105: 327.
- 68.Shen K, Yang Y, Tang X, Huang M, Li H, Shen H, Lei S, Wei Y, Zhang H. (1998). Effect of vasectomy on apoptosis in spermatogenic cells of the male rat. *Hua Xi Yi Ke Da Xue Xue Bao*, Dec;29(4):402-406.
- 69.Shiraishi K, Naito K, Yoshida K. (2001). Vasectomy impairs spermatogenesis through germ cell apoptosis mediated by the p53-Bax pathway in rats. *Journal of Urology*, Oct;166(4):1565-1571.
- 70.Shiraishi K, Takihara H, Naito K. (2003). Quantitative analysis of testicular interstitial fibrosis after vasectomy in humans. *Aktuelle Urol*, Jul;34(4):262-264.
- 71.Shiraishi K, Yoshida K, Fujimiya T, Naito K. (2002). Activation of mitogen activated protein kinases and apoptosis of germ cells after vasectomy in the rat. *Journal of Urology*, Sep., 168(3):1273-1278.
- 72.Singh SK, Chakravarty S. (2000). Histologic changes in the mouse testis after bilateral vasectomy. *Asian Journal of Andrology*, Jun; 2:115-120.
- 73.Siu MKY, Cheng CY. (2004). Extracellular matrix: recent advances on its role in junction dynamics in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. *Biology of reproduction*, 71:375–391.
- 74.Stanford JL, Wicklund KG, McKnight B, Daling JR, Brawer MK. (1999). Vasectomy and risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, Vol. 8, 881–886.
- 75.Tait CM, McGinn JS, Milne EW, Bennett NK, McDonald SW. (2000). Macrophages of the sperm granuloma 3 months after vasectomy in the albino swiss rat. *Clinical Anatomy*, 13:267–276.
- 76.Tezer HM, Güven S, Ersay A, Erol B, Kadioğlu A. (2006). Erkek infertilitesinde rekonstrüktif cerrahi: teknik ve prediktif ölçütler. *Türk Ür. Der.*, 32 (3):319-326.
- 77.Tung KSK, Alexander NJ. (1977). Immunopathologic studies on vasectomized guinea pigs. *Biology of reproduction*, 17, 241-254.

- 78.TÜBİTAK MAM transgen ve Deney Hayvanları Laboratuvarı. Fare Embriyolarında Uygulamalı Mikroenjeksiyon ve Transgenik Manipulasyonlar, Uygulamalı Eğitim Kurs Kitabı, (2000).
- 79.Urena F, Malavasi J. (1980). Ultrastructural study of the vasectomized hamster testis (*Mesocricetus auratus*). *Revista de biología tropical*, Jul;28(1):41-59.
- 80.Urry RL, Dougherty KA, Cockett AT. (1976). Vasectomy and vasovasostomy. 1. Timing of histologic changes in immature and mature dog testis after vasectomy Source. *Fertility and Sterility*. August;27(8):937-944.
- 81.Vicar CM, O'Neill DA, Clure N, Clements B, Cullough S, Lewis SEM. (2005). Effects of vasectomy on spermatogenesis and fertility outcome after testicular sperm extraction combined with ICSI. *Human Reproduction*, Vol.20, No.10:2795-2800.
- 82.Weiske WH. (2001). Vasectomy. *Andrologia*, 33:125-134.
- 83.Whyte J, Sarrat R, Cisneros AI, Whyte A, Mazo R, Torres A, Lázaro J. (2000). The vasectomized testis. *International surgery*, 85(2):167-174.
- 84.Whyte J, Sarrat R, Díaz P, Mazo R, Whyte A, Torres A, Lostalé F, Cisneros A. (1999). Effects of experimental vasectomy on testicular structure: ultrastructural study. *Actas Urologicas Españolas*, Apr; 23(4):309-315.
- 85.Whyte J, Sarrat R, Torres A, Díaz P, Ortiz PP, Whyte A, Mazo R. (1997). Effects of vasectomy on the testicular structure of the dog. *Actas Urologicas Españolas*, May;21(5):446-452.
- 86.Yoon SI, Park CJ, Nah WH, Gye MC. (2008). Expression of occludin in testis and epididymis of wild rabbits, *Lepus sinensis coreanus*. *Reproduction in domestic animals*, Sep 10.:1-6.

## 9. ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

|            |                        |              |               |
|------------|------------------------|--------------|---------------|
| Adı        | Gazi                   | Soyadı       | Contuk        |
| Doğum Yeri | Çardak                 | Doğum Tarihi | 15.04.1977    |
| Uyruğu     | TC                     | TC Kimlik No | 18280818062   |
| E-mail     | gazicontuk@hotmail.com | Tel          | 0 505 7001690 |

### Eğitim Düzeyi

|                  | Mezun Olduğu Kurumun Adı                                     | Mezuniyet Yılı |
|------------------|--------------------------------------------------------------|----------------|
| Doktora/Uzmanlık |                                                              |                |
| Yüksek Lisans    | Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri, Enstitüsü Biyoloji A.D. | 2002           |
| Lisans           | İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü    | 2000           |
| Lise             | Rize Sağlık Meslek Lisesi                                    | 1995           |

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

|    | Görevi   | Kurum                                | Süre (Yıl - Yıl) |
|----|----------|--------------------------------------|------------------|
| 1. | Asistan  | M.Ü. Tıp Fak. Histoloji ve Emb. A.D. | 2008-...         |
| 2. | Laborant | M.Ü. Hastanesi                       | 2000-2008        |
| 3. |          |                                      | -                |

| Yabancı Dilleri | Okuduğunu Anlama* | Konuşma* | Yazma* |
|-----------------|-------------------|----------|--------|
| ingilizce       | İyi               | orta     | iyi    |
|                 |                   |          |        |

\* Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

| Yabancı Dil Sınav Notu # |       |       |           |           |           |     |     |     |
|--------------------------|-------|-------|-----------|-----------|-----------|-----|-----|-----|
| KPDS                     | ÜDS   | IELTS | TOEFL IBT | TOEFL PBT | TOEFL CBT | FCE | CAE | CPE |
|                          | 66.25 |       |           |           |           |     |     |     |

# Başarılmış birden fazla sınav varsa, tüm sonuçlar yazılmalıdır

# KPDS: Kamu Personeli Yabancı Dil Sınavı; ÜDS: Üniversitelerarası Kurul Yabancı Dil Sınavı; IELTS:

International English Language Testing System; TOEFL IBT: Test of English as a Foreign Language-Internet-Based Test TOEFL PBT: Test of English as a Foreign Language-Paper-Based Test; TOEFL CBT: Test of English as a Foreign Language-Computer-Based Test; FCE: First Certificate in English; CAE: Certificate in Advanced English; CPE: Certificate of Proficiency in English

|               | Sayısal | Eşit Ağırlık | Sözel |
|---------------|---------|--------------|-------|
| LES Puanı     | 75      | 76           | 78    |
| (Diğer) Puanı |         |              |       |

### Bilgisayar Bilgisi

| Program   | Kullanma becerisi |
|-----------|-------------------|
| Office    | İyi               |
| Photoshop | İyi               |
|           |                   |

\*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

## **SERTİFİKALAR VE KURSLAR**

1. Mikroskopi Teknikleri ve Uygulamaları Kursu Katılımı, İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, 07 Mayıs 2008
2. Uluslar arası Katılımlı 10. Ulusal Stereoloji Kursu Katılımı, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AbD. 25-29 Haziran 2007
3. İleri Işık Mikroskopi Kursu Katılımı, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, 13-14 Mayıs 2006
4. İmmünohistokimya Boyama Yöntemleri I Kursu Katılımı, Marmara Üniversitesi Sürekli Eğitim Merkezi MÜSEM, 15 Ocak 2005
5. Sperm Hazırlama ve İnseminasyon Kursu Katılımı, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tüp Bebek Ünitesi Laboratuvarı, 9 Nisan 2005
6. Uygulamalı Stereoloji Kursu Katılımı, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AbD. 29 Mayıs-1 Haziran 2003
7. Course in Epilepsy: from Basic to Clinical Sciences Kursu Katılımı, Bursa Türkiye, 16 April 2003

## **YURT İÇİ VE YURT DIŞI KONGRELER**

1. Uluslararası katılımlı 19. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi Katılımı, Trabzon, 22-25 Haziran 2009
2. Uluslar arası Katılımlı IX. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi Katılımı, Adana 20-23 Mayıs 2008
3. Programlı Hücre Ölümü Sempozyumu Katılımı, İstanbul 9 Nisan 2008
4. Uluslar arası Katılımlı 18. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi Katılımı, Anadolu Üniversitesi Eskişehir, 26-29 Ağustos 2007
5. VIII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi Katılımı, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi / Histoloji ve Embriyoloji A.D Malatya, 27-30 Haziran 2006
6. Uluslar arası Katılımlı 15. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi Katılımı, Tübitak Gebze 22-24 Haziran 2005
7. Cerrahpaşa Tüp Bebek Günleri 2005 “Üremeye Yardımcı Tedaviler Toplantısı” Katılımı Cerrahpaşa Tıp Fakültesi , İstanbul Üniversitesi, 8 Nisan 2005
8. VII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi Katılımı, Mersin Üniversitesi Tıp

Fakültesi Histoloji-Embriyoloji 18-21 Haziran 2004

9. Uluslararası Katılımlı 16. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi Katılımı, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AbD. 2-5 Eylül 2003
10. II. Ulusal Nörobilim Kongresi Katılımı, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Bursa, 16-20 Nisan 2003
11. VI. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi Katılımı, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, 12-15 Eylül 2002

#### **ULUSLARARASI HAKEMLİ DERGİLERDE YAYIMLANAN MAKALELER**

1. Sehirli O, Tozan A, Omurtag GZ, Cetinel S, Contuk G, Gedik N, Sener G. : Protective effect of resveratrol against naphthalene-induced oxidative stress in mice. *Ecotoxicol Environ Saf.* Sep;71(1):301-308, 2008.
2. Sener G, Kabasakal L, Atasoy BM, Erzik C, Velioglu-Ogunc A, Cetinel S, Contuk G, Gedik N, Yegen BC. Propylthiouracil-induced hypothyroidism protects ionizing radiation-induced multiple organ damage in rats. *J Endocrinol.* May;189(2):257-269, 2006
3. Iseri SO, Sener G, Yuksel M, Contuk G, Cetinel S, Gedik N, Yegen BC. Ghrelin against alendronate-induced gastric damage in rats. *J Endocrinol.* Dec;187(3):399-406, 2005
4. Sener G, Kabasakal L, Cetinel S, Contuk G, Gedik N, Yegen BC. Leukotriene receptor blocker montelukast protects against burn-induced oxidative injury of the skin and remote organs. *Burns.* Aug;31(5):587-96, 2005
5. Kabasakal L, Sener G, Cetinel S, Contuk G, Gedik N, Yegen BC. Burn-induced oxidative injury of the gut is ameliorated by the leukotriene receptor blocker montelukast. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* Jun;72(6):431-40, 2005
6. Contuk G, Ercan F, Cetinel S, Cikler E, Sener G. Role of melatonin in reducing water avoidance stress-induced degeneration of the liver. *Dig Dis Sci.* Apr;50(4):738-744, 2005

7. Cikler E, Ercan F, Cetinel S, Contuk G, Sener G. The protective effects of melatonin against water avoidance stress-induced mast cell degranulation in dermis. *Acta Histochem.*;106(6):467-475, 2005
8. Cetinel S, Ercan F, Cikler E, Contuk G, Sener G. Protective effect of melatonin on water avoidance stress induced degeneration of the bladder. *J Urol. Jan*;173(1):267-70, 2005
9. Cakir B, Cevik H, Contuk G, Ercan F, Eksioglu-Demiralp E, Yegen BC., Leptin ameliorates burn-induced multiple organ damage and modulates postburn immune response in rats. *Regul Pept. Feb 15*;125(1-3):135-44, 2005
10. Ercan F, Cetinel S, Contuk G, Cikler E, Sener G., Role of melatonin in reducing water avoidance stress-induced degeneration of the gastrointestinal mucosa, *J Pineal Res. Sep*;37(2):113-121, 2004
11. Sener G, Paskaloglu K, Kapucu C, Cetinel S, Contuk G, Ayanoglu-Dulger G., Octreotide ameliorates alendronate-induced gastric injury, *Peptides. Jan*;25(1):115-21, 2004

#### **ULUSAL BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTABINDA BASILAN BİLDİRİLER**

1. Göksel Şener, Kübra Paskaloğlu, Caner Kapucu, Şule Çetinel, Gazi Contuk, Gül Ayanoglu-Dülger. “Octreotide ameliorates alendronat-induced gastric injury.” Turkish Pharmacological society, 17. National congress of pharmacology, 1. Clinical pharmacology symposium. Antalya, 2003
2. Hülya Çevik, Barış Çakır, Feriha Ercan, Gazi Contuk, Esra Çikler, Berrak Ç. Yeğen., “Yanığa Bağlı Gelişen Uza Organ Hasarında Leptinin Anti-İnflamatuar Etkisi”, I. Leptin Sempozyumu, Genel Tıp Dergisi 13 (2,Ek), Konya, 2003.
3. Çetinel Ş.,Ercan F.,Çikler E.,Contuk G.,Şener G., “Protamin Sülfat İle Oluşturulmuş Mesane Hasarı Üzerine Montelukastın Koruyucu Etkileri”, Uluslararası Katılımlı 16. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi, İzmir,2003.
4. Ercan F.,Çetinel Ş.,Contuk G.,Çikler E.,Şener G.,”Sudan Kaçınma Stresi İle

- Oluşturulmuş Gastrointestinal Yol Hasarı Üzerine Melatoninin Koruyucu Etkileri:Morfolojik Ve Biyokimyasal İnceleme”, Uluslararası Katılımlı 16. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi, İzmir,2003.
5. Çetinel Ş.,Ercan F., Contuk G., Çikler E.,Şener G., “Sudan Kaçınma Stresi İle Oluşturulmuş Mesane Hasarı Üzerine Melatoninin Koruyucu Etkileri”, Uluslararası Katılımlı 16. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi, İzmir,2003.
  6. Şener G.,Kapucu C.,Çikler E.,Contuk G.,Çetinel Ş.,”Osteoporoz Tedavisinde Kullanılan Alendronat (Fosamax) In Oluşturduğu Mide Mukoza Hasarında Lökotrien Reseptör Antagonisti Montelukast’ın Etkisi”, Uluslararası Katılımlı 16. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi, İzmir,2003.
  7. B. Çakır, H. Çevik, G. Contuk, F. Ercan, E. Ekşioğlu-Demiralp, B.Ç. Yeğen., “Leptin Yanığa Bağlı Gelişen İmmün Baskılanmayı Azaltmaktadır”, 30. Ulusal Fizyoloji Kongresi, Konya, 2004.
  8. E. Çikler, F. Ercan, Ş. Çetinel, G. Contuk, G. Şener., “Sudan Kaçınma Stresinin Tetiklediği Dermal Mast Hücresi Aktivasyonunda Melatoninin Koruyucu Etkisi” VII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, Mersin, 2004.
  9. Ş. Çetinel, F. Ercan, G. Contuk, E. Çikler, C. Kapucu,G. Şener., “Sudan Kaçınma Stresi ile Oluşturulmuş Mesane Hasarı Üzerine Lökotrien Reseptör Antagonisti Montelukastın Koruyucu Etkileri” VII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, Mersin, 2004.
  10. S.Ö. İşeri, G. Şener, M. Yüksel, G. Contuk, Ş. Çetinel, N. Gedik, B.Ç. Yeğen., “Sıçanlarda Alendronatla Oluşturulan Mide Hasarında Grelinin Koruyucu Rolü” , XXXI. Uluslar arası Katılımlı Ulusal Fizyoloji Kongresi, Gaziantep, 2005.
  11. Ö. Kasımay, G. Şener, M. Yüksel, Ş. Çetinel, G. Contuk, N.Gedik, B.Ç. Yeğen., “Sıçanda Östrojenin Kronik Böbrek Yetmezliğinde Koruyucu Etkisi” , XXXI. Uluslar arası Katılımlı Ulusal Fizyoloji Kongresi, Gaziantep, 2005.
  12. G. Contuk, G. Şener, L. Kabasakal, B.M. Atasoy, S. Çetinel, N. Gedik, B.Ç. Yeğen. “Deneyisel Hipotroidizmin Radyasyon Hasarı ile Oluşan Çoklu organ Hasarında Koruyucu Rolü”, VIII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, Malatya, 2006.
  13. G. Contuk, A. Tozan, Ö. Şehirli, G.Z. Omurtag, Ş. Çetinel, N. Gedik, G. Şener.



- “Farelerde Naftalenle Oluşturulmuş Hasara Karşı Ginko Biloba’nın Koruyucu Etkisi” VIII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, Malatya, 2006.
14. G. Contuk, A. Tozan, Ö. Şehirli, G.Z. Omurtag, Ş. Çetinel, N. Gedik, G. Şener. “Farelerde Naftalenle Oluşturulmuş Hasara Karşı Resveratrol’un Koruyucu Etkisi” VIII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, Malatya, 2006.

### **ULUSLARARASI BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTABINDA (PROCEEDİNGS) BASILAN BİLDİRİLER**

1. Gazi Contuk, Feriha Ercan. “Ultrastructural and histological alterations of rat testis after bilateral vasectomy.” XIII. International congress of histochemistry. Gdansk, Poland, 2008.
2. Ayfer Tozan, Özer Şehirli, Gülten Z. Omurtag, Şule Çetinel, Gazi Contuk, Nursel Gedik, Göksel Şener. “Protective effect of Ginkgo Biloba against naphthalene-induced oxidative stres in mice”. 8. International symposium on pharmaceutical sciences. Ankara, Turkey, 2006.
3. Özer Şehirli, Ayfer Tozan, Gülten Z. Omurtag, Şule Çetinel, Gazi Contuk, Nursel Gedik, Göksel Şener. “Protective effect of resveratrol against naphthalene-induced oxidative stres in mice8. International symposium on pharmaceutical sciences. Ankara, Turkey, 2006.
4. Göksel Şener, Özer Şehirli, Şule Çetinel, Gazi Contuk, Nursel Gedik, Berrak Yeğen. “The protective effect of propylthiouracil on sepsis-induced cardiac and pulmonary damage.” 12. International congress of endocrinology. Lisbon, Portekiz, 2004.
5. Göksel Şener, Ozer Şehirli, Y: İpçi, Şule Çetinel, Gazi Contuk, Nursel Gedik, Berrak Yeğen. “Hepatic fibrozis in biliary-obstructed rats in prevented by propylthiouracil treatment.” International congress of endocrinology. Lisbon, Portekiz, 2004.
6. Özgür Kasımay, Goksel Şener, Barış Çakır, Meral Yüksel, Şule Çetinel, Gazi

Contuk, Nursal Gedik, Berrak Yeğen. “Estrogen ameliorates chronic renal and cardiopulmonary injury in rats with chronic renal failure.” European congress of endocrinology, Göteborg, Sweden, 2005.

7. Şule Çetinel, Feriha Ercan, Gazi Contuk, Caner Kapucu, Göksel Şener. “Protective effects of leukotriene receptor antagonist-montelukast against protamine sülfate induced bladder injury” European association of Urology XIX. Kongresi, Vienna, Austria, 2004.
8. Feriha Ercan, Şule Cetinel, Gazi Contuk, S. Ghoundour, Hızır Kurtel, Göksel Sener. “The Effects of Melatonin on Water Avoidance Stress (WAS)- Induced Changes in Stomach and Liver”, 6. European Congress of Endocrinology, Lyon, France, 2003.

#### **BİLİMSEL KURULUŞLARA ÜYELİKLER**

1. Uluslararası Mikroskopi Dernekleri Federasyonu
2. Avrupa Mikroskopi Derneği
3. Türk Elektron Mikroskopi

## 10. ETİK KURUL ONAYI



**MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
DENEY HAYVANLARI ARAŞTIRMA ETİK KURULU  
PROJE ONAY FORMU**

**PROJENİN ADI :** Sıçanlarda vazektomi sonrası testiste meydana gelen değişikliklerin immunohistokimyasal ve ultrastrüktürel olarak incelenmesi  
**PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ:** Doç.Dr. Feriha ERCAN  
**PROJEDEKİ ARAŞTIRICILAR :** Bio. Gazi ÇONTUK  
**PROJENİN YÜRÜTÜLECEĞİ LABORATUVAR :** M.Ü Tıp Fak. Histoloji- Embriyoloji ABD  
**ONAY TARİHİ VE ONAY SAYISI :** 31.05.2006- 22.2006.mar

Sayın : Doç.Dr. Feriha ERCAN

Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu'na "Sıçanlarda vazektomi sonrası testiste meydana gelen değişikliklerin immunohistokimyasal ve ultrastrüktürel olarak incelenmesi" isimli proje ile yapmış olduğunuz başvurunuz, "Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu" tarafından incelenerek onaylanmıştır.

Çalışmalarınızda başarılar dileriz.

Doç. Dr. Zafer GÖREN  
Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu  
Genel Sekreteri

**Fikir Belirtenler**

Prof. Dr. Özdemir AKTAN  
Prof. Dr. Berrak YEĞEN  
Doç. Dr. Zafer GÖREN  
Öğr. Gör. Gürkan SERT  
Vet.Hek. Dilek ÖZBEYLİ

Not: Deneylerin yapılması sırasında ortaya çıkan zorluklar, deney protokolünde yapılması gereken değişiklikler, "Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu'na" bildirilmelidir. Bütün yazışmalarda, proje onay tarihi ve onay sayısı belirtilmelidir. **Araştırmacıların proje ile yapılan bütün yayınlarda proje onay tarih ve numarası belirtmesi zorunludur.**