

T.C.  
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**İNSAN TESTİKÜLER GERM HÜCRE TÜMÖRLERİNDE  
UYGULANAN KLASİK BEP TEDAVİSİNDE BOR'UN TEDAVİYİ  
ARTTIRICI ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI: İN VİTRO  
ÇALIŞMA.**

**MERVE ŞENGÜL**

**HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. MURAT TOSUN**

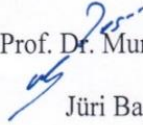
**Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu  
tarafından 17.SAĞ.BİL.02 proje numarası ile desteklenmiştir**

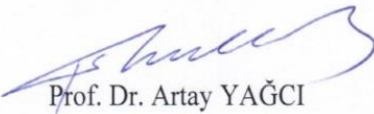
**Tez No: 2018/002**


**2018-AFYONKARAHİSAR**

## KABUL ve ONAY

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü  
Histoloji-Embriyoloji (Tıp) Programı  
çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri üyeleri tarafından  
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.  
Tez Savunma Tarihi: .../.../...

  
Prof. Dr. Murat TOSUN  
Jüri Başkanı

  
Prof. Dr. Artay YAĞCI  
Üye

  
Prof. Dr. Korhan ALTUNBAŞ  
Üye

Tıp Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi MERVE ŞENGÜL'ün " İnsan Testiküler germ hücre tümörlerinde uygulanan klasik BEP tedavisinde Bor'un tedaviyi arttırıcı etkinliğinin araştırılması: in vitro çalışma." başlıklı tezi .../.../..... günü saat ..... 'da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Özal ÖZCAN  
Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgilerini benimle paylaşan ve yardımlarını esirgemeyen kıymetli Danışman Hocam Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Murat TOSUN'a; tez çalışmam sürecinde hücre kültürü çalışmalarına katkıda bulunan Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Sefa ÇELİK'e; yüksek lisans eğitimime, laboratuvar uygulamalarım ve tez çalışmam kattığı değerli bilgilerle Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Görevlisi Sayın Dr. Esra ASLAN'a; yüksek lisans eğitimim boyunca gerek derslerde gerekse tez çalışmamda bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve Afyon Kocatepe Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarının kapılarını sonuna kadar açan değeli hocalarım Afyon Kocatepe Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Artay YAĞCI ve Veterinerlik Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Korhan ALTUNBAŞ'a; çalışmamın istatistiksel değerlendirilmesinde yardımlarından dolayı İstatistik Anabilim Dalı Öğretim Görevlisi Sayın Prof. Dr. İsmet DOĞAN'a; lisans eğitimimden bu yana dek her zaman yanımda olup bana destek olan değerli arkadaşım Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Esra GÖKALP'e; tez sürecim boyunca bana maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, herşeyin ötesinde bugünlere kadar gelebilmemi sağlayan çok değerli annem Serap, babam Nurettin ve abim Fırat ŞENGÜL'e en içten duygularıyla teşekkür ve saygılarımı sunarım.

# İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	i
Önsöz .....	ii
İçindekiler .....	iii
Simgeler ve Kısaltmalar .....	v
Şekiller .....	vi
Resimler .....	vii
Tablolar .....	ix
<b>1.GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
1.1.Erkek Genital Sistem Anatomisi .....	3
1.1.1.1.Testis .....	3
1.1.1.2. Epididimis .....	4
1.1.1.3. Duktus Deferens.....	4
1.1.1.4.Duktus Ejakulatoryus .....	5
1.1.1.5. Vesikula Seminalis .....	5
1.1.1.6.Prostat Bezi .....	5
1.1.1.7. Bulboüretal bezler (Cowper Bezi) .....	5
1.1.2. Dış Genital Organlar .....	6
1.1.2.1.Penis .....	6
1.1.2.2.Üretra Maskulina.....	6
1.1.2.3.Skrotum .....	7
1.2. Erkek Genital Sistem Histolojisi .....	7
1.2.1. Testislerin Histolojisi.....	7
1.2.1.1.İnatübüler Alan .....	8
1.2.1.2 İntertübüler Alan .....	12
1.2.2. Erkek Genital Sistemin İletici Kanalları Histolojik Yapılanması.....	13
1.2.2.1.Tubuli Rekti.....	13
1.2.2.2.Rete Testis .....	13
1.2.2.3. Duktuli Efferentes .....	13
1.2.2.4.Duktus Epididimis.....	14
1.2.2.5.Duktus Deferens.....	15
1.2.2.6.Duktus Ejakulatoryus .....	15
1.2.2.7.Üretra.....	15
1.2.3. Yardımcı Genital Bezler .....	16
1.2.3.1.Veziküla Seminalis .....	16
1.2.3.2.Prostat Bezi .....	17
1.2.3.3.Bulboüretal Bezler .....	17
1.2.4.Penis .....	18
1.3.Erkek Genital Sistem Embriyolojisi.....	18
1.3.1.Gonadların Gelişimi .....	19
1.3.2. Primordiyal Germ Hücreleri .....	19
1.3.3.Testis Gelişimi.....	20
1.3.4.Genital Kanalların Embriyonik Dönemde Gelişimi.....	22

1.3.4.1.Farklanmamış Evre .....	22
1.3.4.2.Erkeklerde Genital Kanallar .....	22
1.3.5.Erkeklerde Dış Genital Organların Gelişimi .....	23
1.4.Kanser .....	23
1.4.1.Kanser Hakkında Genel Bilgiler .....	23
1.4.2.Testis Tümörlerinin Histopatolojik Sınıflaması .....	25
1.4.3.Germ Hücre Tümörleri .....	26
1.4.3.1.Seminom .....	26
1.4.3.2.Embriyonal Karsinom .....	27
1.4.3.3.Yolk Sak Tümörü (Endodermal Sinüs Tümörü) .....	27
1.4.3.4.Koryokarsinom .....	27
1.4.3.5.Teratoma .....	27
1.4.4.Tanı ve Tedavi .....	28
1.5.Germ Hücreli Tümörlerde Kemoterapi Tedavisi .....	29
1.5.1. Bleomisin .....	29
1.5.2. Etoposid .....	29
1.5.3. Sisplatin .....	30
1.6. Bor .....	30
<b>2.MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>33</b>
2.1.Etik Kurul .....	33
2.2.Deney Grupları .....	33
2.3.Materyal .....	33
2.3.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	34
2.4.Metot .....	34
2.4.1. BEP Hücre Kültür Dozu Belirlenmesi .....	34
2.4.2.Hücre Kültürü .....	35
2.4.3.MTT Testi .....	35
2.4.4.İmmünohistokimyasal Boyama .....	36
2.5.Preparatların Değerlendirilmesi ve Görüntü Analizi .....	37
2.6.İstatistiksel Analiz .....	37
<b>3. BULGULAR .....</b>	<b>38</b>
3.1.MTT Sonuçları .....	38
3.2.İmmünohistokimyasal Boyama Sonuçları .....	39
3.2.1.Bax Ekspresyonu Değerlendirilmesi .....	39
3.2.2.Bcl-2 Ekspresyonu Değerlendirilmesi .....	42
3.2.3.Caspase-3 Ekspresyonu Değerlendirilmesi .....	45
3.2.4.VEGF Ekspresyonu Değerlendirilmesi .....	48
<b>4.TARTIŞMA .....</b>	<b>52</b>
<b>5.SONUÇ .....</b>	<b>56</b>
<b>ÖZET .....</b>	<b>57</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>58</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>59</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>a</b>	Arteria
<b>ABP</b>	Androjen bağlayıcı protein
<b>AEC</b>	3-amino-9-etilkarbozol
<b>AFP</b>	Alfa-feto-protein
<b>AHM</b>	Antimüllerian Hormon
<b>β-hCG</b>	β- insan korionik gonadotropin
<b>°C</b>	Santigrad derece
<b>cm</b>	Santimetre
<b>FSH</b>	Folikül stimulan hormon
<b>GER</b>	Granüllü endoplazmik retikulum
<b>gl</b>	Glandula
<b>gr</b>	Gram
<b>HRP</b>	Horsedish peroksidaz kit
<b>m</b>	Musculus
<b>n</b>	Nervus
<b>Nn</b>	Nervi
<b>PAF</b>	Prostatik asit fosfataz
<b>PBS</b>	Fosfat tampon çözeltisi
<b>PGH</b>	Primordial germ hücresi
<b>PSA</b>	Prostat spesifik antijen
<b>SER</b>	Düz endoplazmik retikulum
<b>SPSS</b>	Statistical package for the social sciences
<b>TDF</b>	Testis belirleyici faktör
<b>v</b>	Vena
<b>vv</b>	Venae

## ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Erkek genital sistemi organları.....	3
Şekil 1.2. Spermatogenezis.....	11
Şekil 1.3. 3 haftalık embriyoda primordiyal germ hücreleri ve bu hücrelerin genital kabartıya göçü.....	20
Şekil 1.4. A. Gelişimin 8. Haftası, transvers kesit. B. Testis ve genital kanalın 4. Aydaki görünümü.....	21
Şekil 1.5. Gelişimin 4. Ayında ve testis inişinden sonra genital kanalların durumu.....	23
Şekil 3.1. BEP kombinasyonu ve Boraks uygulanan gruplarda MTT sonuçları....	38
Şekil 3.2. BEP kombinasyonu ve Boraks uygulanan gruplarda MTT sonuçlarının ortalaması.....	38
Şekil 3.3. İmmunositokimyasal parametre olan Bax'ın tüm gruplar arasındaki 'p' değeri.....	39
Şekil 3.4. İmmunositokimyasal parametre olan Bcl-2'nin tüm gruplar arasındaki 'p' değeri.....	42
Şekil 3.5. İmmunositokimyasal parametre olan Caspase-3'ün tüm gruplar arasındaki 'p' değeri.....	45
Şekil 3.6. İmmunositokimyasal parametre olan VEGF'in tüm gruplar arasındaki 'p' değeri.....	48

## RESİMLER

<b>Resim 1.1.</b> Testis.....	8
<b>Resim 1.2.</b> Seminifer tübüller.....	9
<b>Resim 1.3.</b> Sertoli hücresi mikroskopik görünümü.....	10
<b>Resim 1.4.</b> İnterstisyel dokuda Leydig hücreleri.....	12
<b>Resim 3.1.</b> Kontrol grubunda Bax ekspresyonu. Bax primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.....	39
<b>Resim 3.2.</b> Grup 1’de Bax ekspresyonu. Bax primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20..	40
<b>Resim 3.3.</b> Grup 2’de bax ekspresyonu. Bax primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20..	40
<b>Resim 3.4.</b> Grup 3’te Bax ekspresyonu. Bax primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.	41
<b>Resim 3.5.</b> Grup 4’te Bax ekspresyonu. Bax primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.	41
<b>Resim 3.6.</b> Kontrol grubunda Bcl-2 ekspresyonu. Bcl-2 primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.....	42
<b>Resim 3.7.</b> Grup 1’de Bcl-2 ekspresyonu. Bcl-2 primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.....	43
<b>Resim 3.8.</b> Grup 2’de Bcl-2 ekspresyonu. Bcl-2 primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.....	43
<b>Resim 3.9.</b> Grup 3’te Bcl-2 ekspresyonu. Bcl-2 primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.....	44
<b>Resim 3.10.</b> Grup 4’te Bcl-2 ekspresyonu. Bcl-2 primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.....	44
<b>Resim 3.11.</b> Kontrol grubunda Caspase-3 ekspresyonu. Caspase-3 primer antikor (Abcam) 1/50. X20.....	45
<b>Resim 3.12.</b> Grup 1’de Caspase-3 ekspresyonu. Caspase-3 primer antikor (Abcam) 1/50. X20.....	46
<b>Resim 3.13.</b> Grup 2’de Caspase-3 ekspresyonu. Caspase-3 primer antikor (Abcam) 1/50. X20.....	46



<b>Resim 3.14.</b> Grup 3'te Caspase-3 ekspresyonu.Caspase-3 primer antikor (Abcam) 1/50. X20.....	47
<b>Resim 3.15.</b> Grup 4'te Caspase-3 ekspresyonu.Caspase-3 primer antikor (Abcam) 1/50. X20.....	47
<b>Resim 3.16.</b> Kontrol grubunda VEGF ekspresyonu.VEGF primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.....	48
<b>Resim 3.17.</b> Grup 1'de VEGF ekspresyonu.VEGF primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.....	49
<b>Resim 3.18.</b> Grup 2'de VEGF ekspresyonu.VEGF primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.....	49
<b>Resim 3.19.</b> Grup 3'te VEGF ekspresyonu.VEGF primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.....	50
<b>Resim 3.20.</b> Grup 4'te VEGF ekspresyonu.VEGF primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.....	50

## TABLÖLAR

**Tablo 3.1.** İmmünoşitokimyasal Parametrelerin Gruplara Göre Ortalamaları..... 51



# 1.GİRİŞ

Kanser günümüzün en önemli sağlık sorunlarından birisidir. Kanser görülme insidansı; hastanın cinsiyetine, yaşına, tümörün köken aldığı organa, diğer çevre faktörlere bağlı olarak farklılık gösterir (Ünal, 2012). Testis tümörleri nadir görülmesine rağmen, 15-35 yaş arasındaki erkeklerde en sık görülen malign tümör tipidir. Testis tümörlerinin genel insidansı 100000'de 2-3 olarak bildirilmiştir (Kuzgunbay ve Yayıoğlu, 2009). Erkeklerin tüm yaşamı boyunca testis tümörüne yakalanma ihtimali ise %0,2 düzeyindedir. Testis tümörlerinin %95'i germinal dokudan kaynaklanır ve bu tümörler germ hücreli tümör olarak adlandırılır. Germ hücreli tümörler öncül germ hücrelerinden köken alırlar ve pluripotent karakterdedirler (Looijenga ve ark, 2003; Kayıkçı ve Çam, 2005). Tüm germ hücreli tümörlerin %20'si maligndir. Testis tümörlü hastalarda genellikle inmemiş testis olgusunun da eşlik ettiği gözlenmiştir. Bu durum araştırmacılara inmemiş testisli hastalarda normal kişilere kıyasla testis kanserine yakalanma riskinin daha fazla olabileceğini düşündürmüştür (Yalçınkaya ve ark, 2008). Germ hücreli testis tümörleri lokal olarak büyüyerek invaze olmalarının yanında lenf bezleri, peritoneal yüzeyler, akciğer, karaciğer, kemik, kemik iliği ve merkezi sinir sistemine metastaz yapabilirler. Germ hücreli testis tümörlerinin tanısında tümör belirteçlerinin rolü çok büyüktür. En sık kullanılan tümör belirteçleri Alfa-feto-protein (AFP) ve  $\beta$ - insan korionik gonadotropin ( $\beta$ -hCG) hormonudur. Bu tümör belirteçleri; tanıda, tedaviye yanıtın takibinde, hastalığın ilerleyişinin varlığını göstermede kullanılırlar (Demirtaş, 2011). Germ hücreli testis tümörlerin tedavisi yaşa, yerleşim bölgesi ve histopatolojik tanıya göre farklılık göstermektedir. En birincil tedavi yöntemi orşiektomi'dir. Orşiektomi sonrası tümörün histopatolojisine ve evresine göre radyoterapi veya kemoterapi tedavisi uygulanır. Germ hücreli tümörlerin standart tedavisinde en sık kullanılan kemoterapi protokolü BEP (bleomisin, etoposid, sisplatin)'dir. Germ hücreli tümörlerin tedavisine bu ilaç protokolünün girmesi ile birlikte prognozda belirgin bir iyileşme görülmüştür (Kayıkçı ve Çam, 2005). İleri evre tümörlerde preoperatif kemoterapi sonrası tam rezeksiyon sağlanmaktadır. BEP içeren protokolün hastaya uygulanması ile hastanın yaşam oranı %90'lara çıkmıştır. İnsan testiküler germ hücre tümörlerinde (GCTT) uygulanan klasik BEP tedavisi her

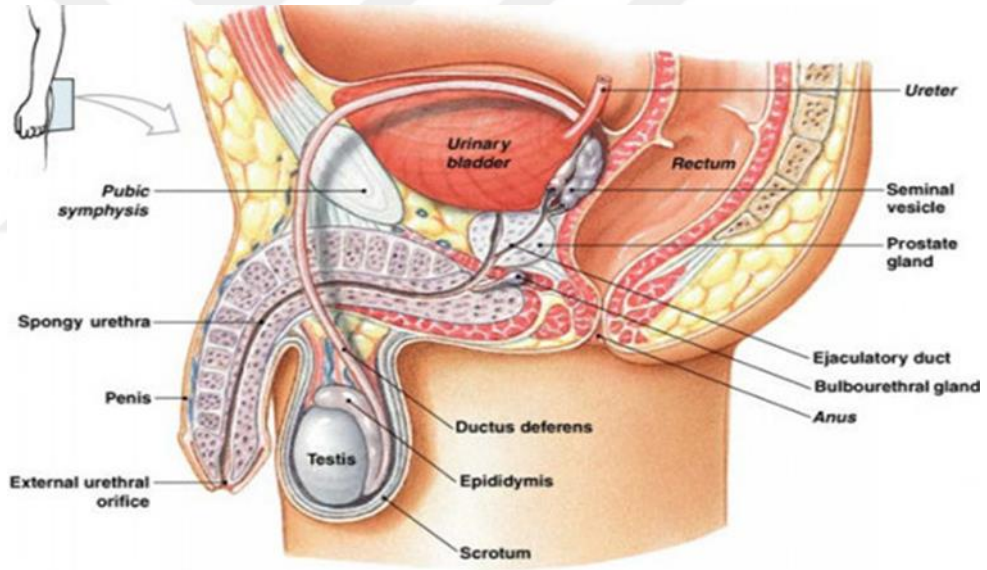
ne kadar etkin bir tedavi olsa da toksik etkileri nedeniyle önemli yan etkilere sahiptir. Bunların en iyi bilineni ve ölümcül olabilecek olanı Bleomisin kaynaklı pnömonidir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmayla BEP tedavisinden sonra bilgisayarlı tomografi ile pulmoner değişikliklerin belirtilerini göstermişlerdir (Kwan ve ark, 2017). BEP protokolünde kullanılan sisplatin ise tübüler nefropatiye ve işitme kaybına yol açmaktadır ( Kawai ve ark, 2005). Günümüzde BEP tedavisine alternatif tedaviler ve aynı zamanda bu tedavinin etkinliğini arttıracak dolayısıyla daha düşük dozlarda BEP kombinasyonu oluşturma çalışmaları hedeflenmektedir. Bu hedeflere paralel olarak bu tez çalışmamızda testiküler germ hücre tümörlerinde uygulanan BEP tedavisinde boraks'ın potansiyalize edici etkisinin olup olmadığını belirlemeyi amaçladık. Türkiye bor bileşiklerinin dünya rezervlerinin %72' sine sahip olduğu için bu çalışmamızda elde edilebilecek olumlu sonuçlar sonraki dönemde yapılması öngörülen hayvan çalışmalarına paralel olarak ülkemize aynı zamanda maddi katkıda sağlayabilecektir. Aynı zamanda tedavilerin yan etkilerinin azaltılması ve ucuzlatılması ayrı olumlu kazanımlar olacaktır. Çalışmamızı planlarken GCTT tümörlü vakaların sayısı oldukça az olduğu ve etik sıkıntılar olabileceği düşünülerek şu ana kadar literatürde hiç kullanılmadık şekilde in vitro ortamda BEP etkinliğini ve boraksın bu etkinliği potansiyalize edici etkilerini belirleyerek ileri dönemdeki araştırmalar için ciddi bir kaynaktaki sunulacaktır.

## 1.1. Erkek Genital Sistem Anatomisi

Erkek üreme sistemi testis, genital kanallar, yardımcı bezler ve penisten oluşur. Bu üreme organları dış genital organlar ve iç genital organlar olarak iki grupta incelenir. Dış genital organlar diaphragma urogenitale ve arcus pubicus'un aşağısındadır. Penis, üretra maskulina ve skrotum dış genital organları oluşturur. İç genital organlar ise pelvis boşluğunda ve perineum'da yer alırlar. Testis (orchis), epididimis, duktus deferens, duktus ejakulatoryus, vesikula seminalis, prostat bezi, bulboüretral bezler de iç genital organları oluştururlar (Arıncı ve Elhan, 2006).

### 1.1.1. İç Genital Organlar

Testis (orchis), epididimis, duktus deferens, duktus ejakulatoryus, vesikula seminalis, prostat bezi, bulboüretral bezler de iç genital organları oluştururlar (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Erkek genital sistemi organları (Marieb, 2000)

#### 1.1.1.1. Testis

Testisler; primer üreme organı olup funiculus spermaticus'a asılı dururlar. Sağda ve solda bir çifttir ve skrotum içindedirler. 4-5 cm uzunluğunda, 2,5 cm genişliğinde, 3 cm kalınlığında, 20-25 gr ağırlığındadır. Testislerin iki yüzü, iki kenarı ve iki ucu vardır. Facies medialis ve facies lateralis iki yüzü, margo anterior ve margo posterior iki kenarı, extremitas superior ve extremitas inferior ise iki ucudur (Ozan, 2014). Mezonefrozun dejenerasyonu ile iki tarafta da gonadların alt uçlarından

gubernaculum adı verilen ligament uzanır. Gubernaculum, testislerin skrotuma inişlerinde yardımcıdır. Aynı zamanda testisleri skrotuma bağlar. Gubernaculum'un ön tarafında periton çıkıntısı olan processus vaginalis oluşur. Tunika vaginalis testis; testis ve epididimis'i saran, paryetal ve viseral olmak üzere iki yaprağın oluşturduğu seröz tabakadır (Arıncı ve Elhan, 2006). Tunica albuginea; lamina visceralis'in altında testisi saran fibröz yapılı tabakadır. Tunica albuginea arka kenarından testis içine bölme şeklinde uzantı gönderir. Bu bölme şeklindeki uzantıya mediastinum testis denir. Mediastinum testis testisin üst ucundan alt ucuna kadar uzanır ve uzantılar çıkar. Çıkan bu uzantılara septula testis adı verilir. Bu uzantılar sayesinde testis 200-300 arasında lobçuğa (lobuli testis) ayrılmış olur. Her lobçuğun içinde 1-3 adet arasında tubuli seminiferi contorti adı verilen kıvrımlar bulunur. Tubuli seminiferi contortiler, testisin arkasında birleşirler ve tubuli seminiferi recti adı verilen kısa-düz kanalları oluşturur. Bu kanallar mediastinum testise girerek rete testis adı verilen kanal ağını meydana getirir (Aktümsek, 2016). Testis aortanın bir dalı olan aorta testicularis'den, a. duktus deferentis, aa. skrotales anteriores, aa. skrotales posteriores arterlerinden beslenir. Testisin sinirleri ise T10-11 medulla spinalis segmentlerinden kaynaklanır (Arıncı ve Elhan, 2006).

#### **1.1.1.2. Epididimis**

Epididimis, testisin arka-dış yüzeyinde yer alır. Spermilerin olgunluğa ulaştığı, hareket yeteneğini kazandığı ve bir miktarında depo edildiği yerdir. Yaklaşık olarak 6-7 cm uzunluğunda, duktus epididimis kanalının oluşturduğu bir kanal yumağıdır. Epididimis'in üst kısmı daha kalındır aşağılar ise daha incedir. Üst bölümüne kaput epididimis, orta bölümüne korpus epididimis, alt bölümüne ise kauda epididimis denmektedir Epididimis'in beslendiği damarlar ve sinirler testis ile aynıdır (Ozan, 2014).

#### **1.1.1.3. Duktus Deferens**

Duktus epididimis epididimis'in kuyruk kısmında kalınlaşarak duktus deferens adını alır. Kalın müsküler yapıda olan bir çift tüptür. Yaklaşık olarak boyu 40-50 cm arasında genişliği ise 2-4 mm'dir. Kalın duvarlı olup lümeni dardır. Epididimis'in kuyruk parçasından başlayan kanal, kasık bölgesinde inguinal kanaldan geçerek

karın boşluğuna girer. Pelvis boşluğundaki parçasına pars pelvika denir. Kanalın son bölümü kıvrımlı ve geniştir bu bölüme ampulla duktus deferentis denir. Ampulla duktus deferentis, spermilerin dışarı atılmadan önce büyük bir bölümünün depolandığı yerdir (Arıncı ve Elhan, 2006).

#### **1.1.1.4.Duktus Ejakulatoryus**

Duktus ejakulatorius; duktus deferens, vesikula seminalisin boşaltma kanalı olan duktus excretoryus ile birleşerek duktus ejakulatoryus adını alır. Duktus ejakulatoryus 2 cm uzunluğunda olup dar ve ince duvarlı bir kanaldır. Prostat dokusu içine giren bu kanal, buradan prostatik üretraya açılır (Ozan, 2014).

#### **1.1.1.5. Vesikula Seminalis**

Vesikula seminalis; mesane ve rektum arasında bulunan bir çift organdır. Komşu yapılara bağ dokusu ile tutunur. Uzunluğu 5cm, genişliği ise 2,5 cm'dir. Şekil ve büyüklükleri kişiye göre değişir. Kıvrımlar yapan 15 cm uzunlukta bir borudan ibarettir. İçten bağ dokusu ile dıştan fibromüsküler bir kılıfla sarılıdır. Bu bezin salgısı semenin büyük bir kısmını oluşturur (%60). Spermilerin beslenmesinde, hareketlerinde, ovuma ulaşmasında ve fertilizasyonda önemli rolü vardır. Vesikula seminalis; a. vesicalis inferior ve a. rectalis media'dan beslenir. Sempatik sinirleri L1-2'den parasempatik sinirleri S2-4'ten gelir (Ozan, 2014; Aktümsek, 2016).

#### **1.1.1.6.Prostat Bezi**

Prostat bezi; mesanenin altında ampulla rekti'nin önünde bulunan kapsüllü bir bezdir. Erkek genital sisteminin en büyük yardımcı bezidir. 3 cm yüksekliğinde, 4 cm genişliğinde, 2 cm kalınlığında ve 20 gr ağırlığında bir organdır. Bu organın çoğunluğunu bez dokusu, az bir kısmını da kas ve bağ dokusu oluşturur. Bu bez bileşik tubuloalveoler bez yapısında olup çok sayıda kanalı vardır. Salgısı; amilaz, sitrik asit, fibrinolizin ve asit fosfataz içerir. Semen yaklaşık %30'unu oluşturur. Spermilerin uzun süre canlı ve hareketli kalmasını sağlar (Arıncı ve Elhan, 2006).

#### **1.1.1.7. Bulboüretal bezler (Cowper Bezi)**

Bulboüretal bezler; küçük sarı renkli, bir çift bezdir. Bulbus penis yakınında ve

üretre' nin arka tarafında yer alır. Boşaltıcı kanalları (ductus glandulae bulbourethralis) yaklaşık olarak 2,5 cm uzunluğundadır ve üretre'nin pars spongiosa'sına küçük bir delik ile açılır. Salgısı koyu, mukoid ve alkalidir. Ejakulasyondan önce salgılanırlar. A. vesikalis inferior ve a. rektalis media'dan beslenirler. Sempatik sinirleri L1-2, parasempatik sinirleri S2-4'ten gelir (Arıncı ve Elhan, 2006).

### **1.1.2. Dış Genital Organlar**

Penis, üretre maskulina ve skrotum dış genital organları oluşturur (Şekil 1.1).

#### **1.1.2.1. Penis**

Penis, cinsel birleşme ve boşaltım sistemi organıdır. Normal halinde iken yaklaşık olarak 8-10 cm. uzunluğunda 3 cm. çapında iken ereksiyon halinde 12-15 cm. uzunluğunda 4 cm çapındadır. Bu rakamlar kişiler arası farklılıklar gösterebilir. İki bölümden meydana gelir. Bunlar; Radix penis (kök kısmı); Perineum'da bulunan sabit kısımdır. Corpus penis (gövde kısmı) ise çiftleşmeye yarayan serbest kısımdır. Uç kısmına glans penis denir. Glans penis, şişkince bir kısımdır ve penis başı olarak isimlendirilir. Penis üç longitudinal kitleden oluşur. Bu kitleler deri ve fibröz doku ile sarılıdır. Parasempatik uyarılar, süngerimsi dokuların içine giren arterleri genişletir ve boşluklara daha fazla kan dolmasını sağlar. Böylece ereksiyon gerçekleşir. Penis besleyen damar a. pudenda interna'dır. Penis derisini ise a. pudenda externa besler. Penisin parasempatik sinirleri S2-4'ten, sempatik sinirleri ise L1-2'den gelir (Ozan, 2014).

#### **1.1.2.2. Üretra Maskulina**

18-20 cm uzunluğundadır. Mesanenin dip kısmındaki ostium üretre internum'dan başlar, penis ucundaki ostium üretre externum'da sonlanır. Üretra maskulina'nın mukozasında Littre bezleri ve bu bezlere ait delikler bulunur. Kanallarına Skene kanalları denir. Üretra maskulina üç bölüme ayrılır. Bunlar; Pars prostatica, Pars membranacea ve Pars spongiosa'dır. Üretra maskulina; a. uretralis'den ve prostati besleyen arterlerle beslenir. Sinirleri ise N. Pudendus'un dallarıdır (Ozan, 2014; Aktümsek, 2016).



### **1.1.2.3.Skrotum**

Testis ve funikulus spermaticus'un içinde bulunduğu bir torbadır. Penis ve symphysis pubica'nın da altında yer alır. Deri, fibröz kılıflar ve kas liflerinden oluşur. Büyüklüğü ve şekli yaşla birlikte değişir. Yetişkinlerde yumuşak ve hareketlidir. (Ozan, 2014). Skrotumu besleyen damarlar; a. pudenda externa profunda, a. pudenda interna, a. testicularis, a. epigastrica inferior ve a. cremasterica'nın dallarıdır. Sinirleri ise Nn. scrotales anteriores, Nn. Scrotales posteriores, n. genitofemoralis ve Nn. clunium inferiores'ten gelirler (Arıncı ve Elhan, 2006; Ozan, 2014).

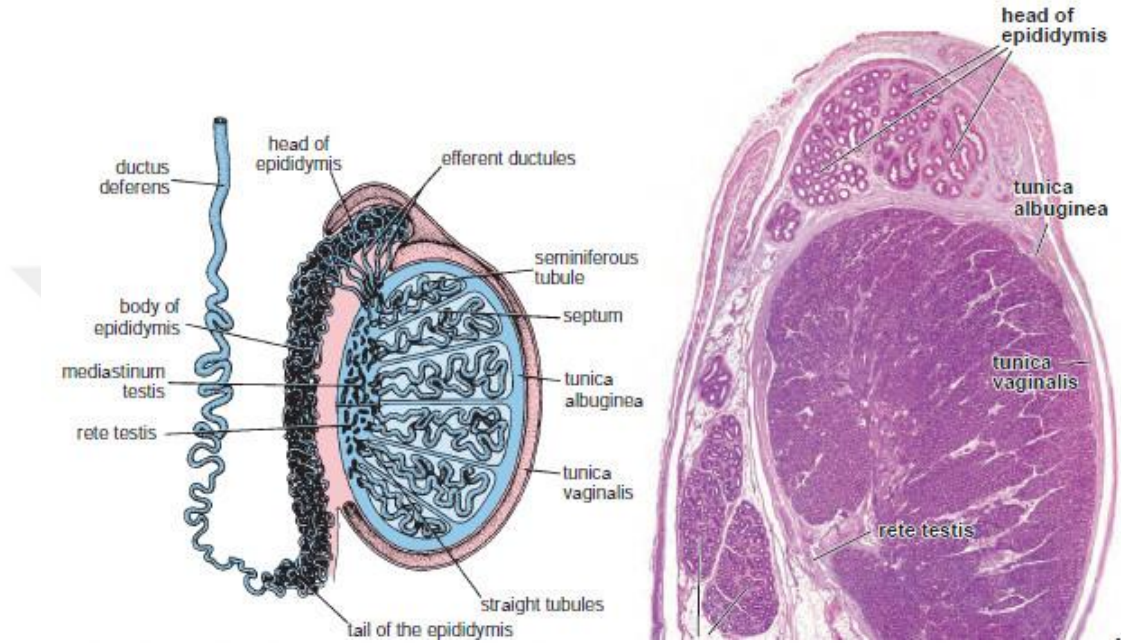
## **1.2. Erkek Genital Sistem Histolojisi**

Erkek üreme sisteminin ana görevi sperm üretmektir. Sperm üretimi testislerde olur. Testislerde aynı zamanda erkeklik hormonu olan testosteron da salgılanır. Genital kanallar ve yardımcı bezler ise düz kas kasılmalarının da yardımı ile spermatozoonları dışarıya doğru sürükleyen salgılar üretir. Bu salgılar aynı zamanda erkek üreme sistemi içinde bulunan spermatozoonlara gerekli besinleri sağlar. Penisle de spermatozoonlar ile genital kanallar ve yardımcı bezlerin salgısı olan semen dışı üreme sistemine iletilir (Junqueira ve carneiro, 2009; Gartner ve Hiatt, 2016; Ross ve Pawlina, 2014).

### **1.2.1. Testislerin Histolojisi**

Testisler skrotumun içerisinde uzanan bir çift oval şekilli organdır. Seksüel olgunlaşmayı ve üreme fonksiyonlarını etkiler. Aynı zamanda endokrin ve ekzokrin görevi olan bir çift bezdir. Testisin ekzokrin fonksiyonu sperm üretimini sağlar, endokrin fonksiyonu ise testosteron üretimini sağlar. (Ross ve Pawlina, 2014). Testisler karın boşluğundan inişleri sırasında bir periton kıvrımını da beraberinde skrotuma taşır. Bu periton tabakası tunika vajinalis olarak adlandırılır. Tunika vajinalis, mezotel ile döşeli seröz bir kesedir. Visseral ve paryetal tabakaya sahiptir. Visseral tabakası bazal lamina üzerine yerleşmiştir. Paryetal tabakası ise tunika vajinalis'in skrotum yüzeyinin üzerine tutunmasıyla oluşur. Tunika vaginalis'in altında düz kasa sahip kalın fibromusküler bağ dokusundan oluşan tunika albuginea yer alır. Tunika albuginea testisin posterior bölgesinde kalınlaşır ve mediastinum

testisi oluşturur. Buradan fibröz bağ dokusu yapısındaki septumlar girer ve testisi 250 kadar piramidal bölmeye ayırır. Bu bölmelere testis lobülleri (lobuli testis) adı verilir. Tunika albuginea tabakasının altında da tunika vasküloza bulunur. Tunika vasküloza kan damarları ile sarılı gevşek bağ dokusu tabakasıdır (Kierszenbaum, 2006; Junqueira ve Carneiro, 2009), (Resim 1.1).



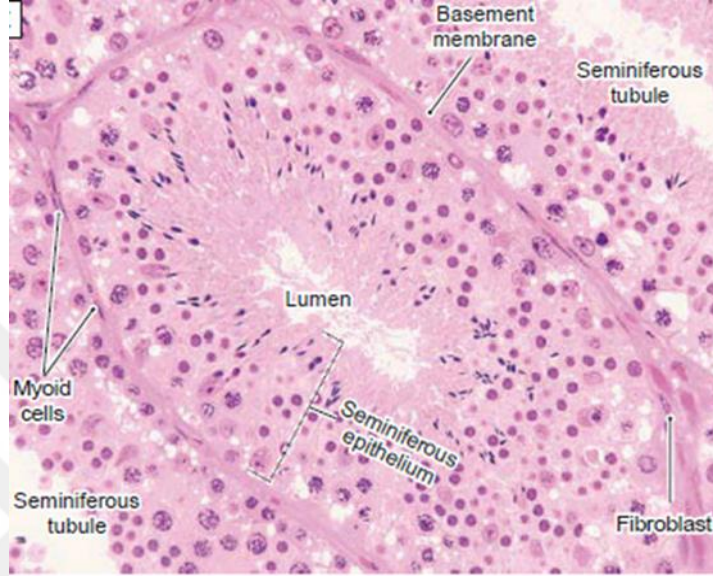
**Resim 1.1.** Testis (Ross ve Pawlina, 2014)

Testisler histolojik olarak intertübüler alan ve intratübüler alan şeklinde incelenir. İntratübüler alan seminifer tübül ve hücrelerini (sertoli ve spermatogenetik hücreler), intertübüler alan ise leydig hücrelerini içerir (Ross ve Pawlina, 2014).

### 1.2.1.1. İntratübüler Alan

Seminifer tübüller; testis hacminin çok büyük çoğunluğunu oluşturan bu tübüller kıvrımlı kanallar şeklinde seyredir. Tipik bir tübül, çapı 150-300  $\mu\text{m}$ , uzunluğu 30-70 cm'dir. Tübüller bağ dokusu yapısındadır ve testislere sarılı vaziyettedir. Seminifer tübüllerin mediastinum testiste yer alan düz kısımlarına tubulus recti denir. Tubulus recti mediastinum testiste rete testis denilen anastomoz gösteren kanallar sistemi ile devam eder. Seminifer tübül içerisinde kan damarları, lenfatik damarlar, fibroblastlar, kas benzeri hücreler, sinirler bulunur. Epiteli; iki ana hücre türü içeren çok katlı epiteldir. Bu hücreler çoğalan spermatogenik (germ) hücreleri ve

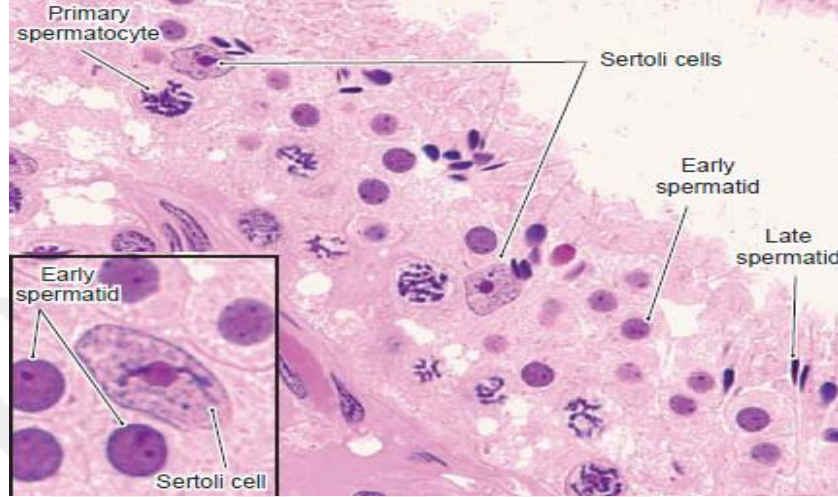
çoğalmayan destek (sertoli) hücreleridir. Epitein hemen altında fibroblast içermeyen özel bir bağ dokusu olan tunika propriya yer alır. Tunika propriya, seminifer epitelin bazal membranı altında kollajen lif ve miyoid hücre tabakası içerir (Junqueira ve Carneiro, 2009; Gartner ve Hiatt, 2016), (Resim 1.2).



**Resim 1.2.** .Seminifer tübüller (Cui ve ark, 2011)

Sertoli hücreleri bazal laminadan seminifer tübüllerin lümenine doğru uzanan prizmatik şekilli hücrelerdir. Spermatogenik hücrelerin arasında yerleşiktir. Puberteden sonra çoğalmazlar. Gelişmekte olan spermatogenik hücelere kriptalar sağlarlar. Bu nedenle de düzensiz apikal ve lateral hücre membranlarına sahiptirler. Bazalde yerleşmiş oval şekilli ökromatik bir nükleusa sahiptir. Nükleolus içerir. Işık mikroskopunda sınırları iyi ayırt edilemez. Ancak elektron mikroskopuyla bakıldığında ise sitoplazmada düz endoplazmik retikulum (SER), ribozomlar, çok sayıda lizozom ve mitokondriler görülmüştür. Golgi kompleksi de iyi gelişmiştir. İki Sertoli hücrelerinin komşu olduğu yerlerde bağlantı kompleksleri görülür. Bu bağlantı tipi sıkı bağlantı tipi olan zonula okludenstir ve peritübüler doku ile birlikte kan-testis bariyerinin morfolojik temelini oluştururlar (Skinner ve ark., 1991; Ross ve Pawlina, 2014). Sertoli hücresi gelişmekte olan sperm hücrelerini spermatogenez aşamaları boyunca destekler, korur ve besler. Aynı zamanda spermatogenez sırasında kalan sitoplazmik atıkları fagosite eder. Anti-Müllerian hormon (AMH) üretimi yapar ve FSH sekresyonunu düzenlerler. Androjen bağlayıcı protein (ABP) salgılayarak

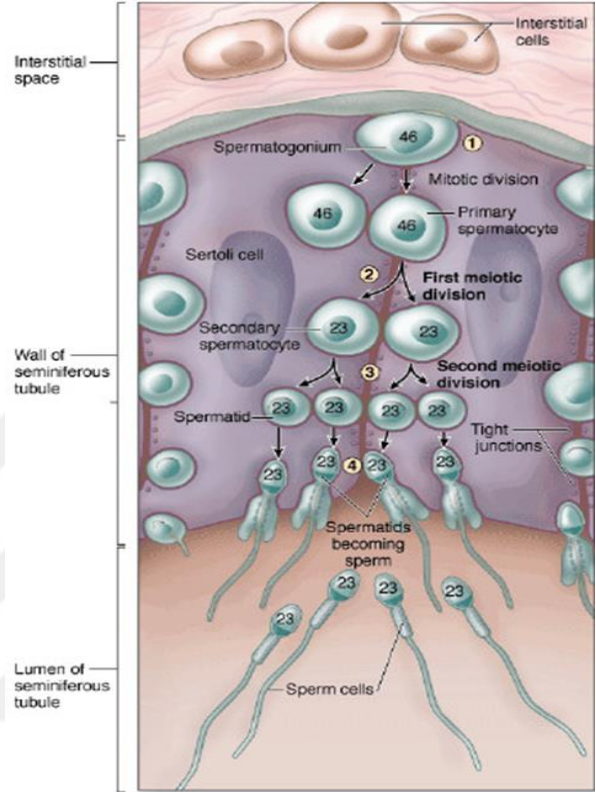
seminifer tübüllerde testosteron konsantrasyonunu artırır ve spermatogenezi destekler. Testosteronu östradiole dönüştürür. Demir alınımında gerekli kan plazması proteini olan testiküler transferrini üretir ve salgılar (Skinner ve Griswold, 1980; Eroschenko, 2016; Kierszenbaum, 2006; Gartner ve Hiatt, 2016; Sharpe ve ark., 2003), (Resim 1.3).



**Resim 1.3.** Sertoli hücresi mikroskopik görünümü (Cui ve ark, 2011)

Spermatogonik hücre (germ hücreleri); testisin erken gelişim evresinde yolk kesesinden kaynaklanan ve gonadal kabartılarda kolonize olan primordiyal germ hücrelerinden gelişirler. Spermatogenetik hücreler farklı gelişim aşaması gösteren hücrelerdir ve olgunlaşmamış spermatogenetik hücreler spermatogonyum olarak adlandırılır. Spermatogonyum, seminifer kanalın en alt sırasında yerleşmiş ve aralarında mitoz bölünmeler geçirerek devamlı çoğalan hücrelerdir. Spermatogonyumlar insanda üç tür halinde kategorize edilmiştir (Kierszenbaum, 2006; Ross ve Pawlina, 2014). Tip A koyu spermatogoniumlar; koyu boyanırlar ve çekirdekleri ovaldir. Kök hücre olarak görev yaparlar. Mitozla bölünerek spermatogoniumların sayısını korurlar ve tip A açık spermatogoniumları oluştururlar. Tip A açık spermatogoniumlar; soluk boyanan oval şekilli hücrelerdir. Mitoz bölünme ile diğer tip A açık spermatogoniumları ve tip B spermatogoniumları oluştururlar. Tip B spermatogoniumlar; tip A'dan daha büyüktürler. Bazal membrandan tübülün lümenine doğru hareket ederler. Koyu boyanmış ve daha yuvarlak olan çekirdekleri kromatin yığınları içerirler. Mitozla bölünerek primer spermatozitleri oluştururlar. Primer spermatozitler diploid sayıda kromozom içerirler

(Kierszenbaum, 2006). Primer spermatozitleri oluşturan Tip B spermatogonyumlar mitoz bölünmenin S fazını tamamladıktan sonra 1. mayoz bölünme geçirerek sekonder spermatozitleri oluştururlar (Gartner ve Hiatt, 2016; Kierszenbaum, 2006). Sekonder spermatozitler primer spermatozitlerin yarısı kadar olup, lümene daha yakın bulunurlar. Primer spermatozitlerin sekonder spermatozitleri oluşturmasıyla kromozom sayısı yarıya iner ve sekonder spermatozitler haploid kromozom sayısına sahip olur. Sekonder spermatozitler de 2. mayoz bölünme geçirerek spermatidleri oluşturur. Spermatidler lümene çok yakın ve nükleusları yuvarlaktır. Buraya kadar geçen evre Spermatogenezis olarak adlandırılır (Gartner ve Hiatt, 2016; Kierszenbaum, 2006; Ross ve Pawlina, 2014), (Şekil 1.2).



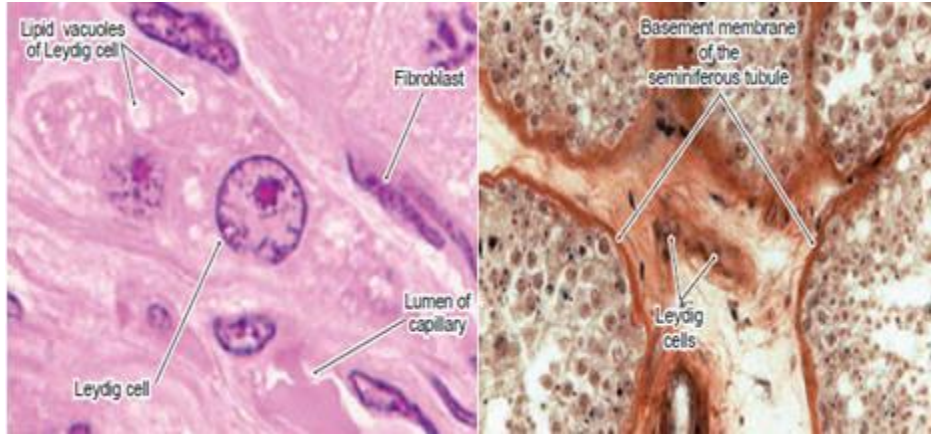
Şekil 1.2. Spermatogenezis (Mescher, 2009)

Daha sonra spermatidler spermatozoonları oluşturmak üzere başkalaşma evresine girer. Spermatidler spermatozoonlara 4 evrede farklılaşır. Bu evreler; Golgi Evresi, Kep Evresi, Akrozom Evresi ve Matürasyon (Olgunlaşma) Evresi (Kierszenbaum, 2006; Ross ve Pawlina, 2014). Golgi evresinde; öncelikle spermatidin Golgi kompleksinde küçük granüller görülür, bu granüller glikoprotein bakımından zengindirler ve akrozomal vezikülü oluşturmak için biraraya gelip birleşirler. Akrozomal vezikülün içeriği artar ve genişler. Kep evresi; büyüyen akrozomal vezikül nükleusun büyük bir kısmını örter ve bu yeni yapıya akrozomal kep adı verilir. Akrozom evresi; oluşan akrozomal baş sertoli hücresine gömülür ve bazal laminaya yönelir. Flagellum ise lümene doğru ilerler. Çekirdek yoğunlaşır, incelik, uzar ve hücre membranının üzerine doğru ilerleyerek tam bir sperm başını oluşturur.

Mitokondriyonlar flagellumun etrafında heliks şeklinde düzenlenip mitokondriyal kılıfı oluşturmak için sitoplazmanın kalan kısmından göç ederler ve sitoplazmanın büyük bir kısmı kalıntı haline gelir. Maturasyon evresi; spermatid spermatozoonları oluşturur. Olgun spermatozoon'un çekirdek, orta parça ve kuyruğu etrafında ince bir sitoplazma vardır. Geriye kalan kalıntı haline gelmiş sitoplazmayı ise sertoli hücreleri fagosite ederek ortamdaki uzaklaştırır. Spermatozoon olgunlaşmasının son aşaması kapasitasyondur. Kapasitasyon dişi üreme sistemine ejakülasyondan sonra gerçekleşir (Zülfikaroğlu ve ark., 2010; Tosun, 1998; Ross ve Pawlina, 2014; Kierszenbaum, 2006; Junqueira ve Carneiro, 2009).

### 1.2.1.2 İntertübüler Alan

Leydig hücreleri seminifer tübüller arasındaki interstisyel dokuda bulunur. Hücrelerin, büyüklükleri değişkendir ve kümeler halinde bulunurlar. Bu kümeler kapillerlerden zengindir ve bu kılcallardan beslenirler. Hücreler mitokondri, iyi gelişmiş düz endoplazmik retikulum (SER), lipid damlacıkları, Golgi, lizozom, lipofuksin içeren Reinke kristallerini içerirler (Kerr ve Knell, 1988). Nukleusları 15-20 µm çapında polihedral yapıdadır. İki çekirdekli Leydig hücreleri görülebilir. Nukleolusları belirgindir. Hücre sitoplazması eozinofiliktir ve ışık mikroskopunda vakuollü görünür. Lipid damlacıkları ve Reinke kristalleri sitoplazmadadır (Resim 1.4).



**Resim 1.4.**İnterstisyel dokuda Leydig hücreleri (Cui ve ark, 2011)

Leydig hücreleri farklı olarak fetal hayatın erken döneminde testosteron salgılamaya başlarlar. Testosteron, embriyonik dönemde gonadların erkek karakterde

farklılaşması için gereklidir. Yetişkinde ise spermatogenezisin, aksesuar bezlerin, genital kanalların ve sekonder seks karakterlerinin devamlılığı için gereklidir. Leydig hücreleri erkek fetusta fetal dönemin 5. ayında inaktif hale gelir ve puberteye kadar inaktif halde kalır. Puberteyle birlikte gonadotropinler salınır. Gonodotropinlerin etkisi ile tekrar aktif hale gelirler ve androjen salgılamaya başlarlar (Chen ve ark, 2010).

### **1.2.2. Erkek Genital Sistemin İletici Kanalları Histolojik Yapılanması**

Erkek genital sistemi iletilci kanalları intratestiküler kanallar ve ekstratestiküler kanallar olarak iki grupta incelenirler. Tubuli rekti ve Rete testis intratestiküler kanalları oluşturur. Duktuli efferentes, Duktus epididimis, Duktus deferens (Vas deferens), Duktus ejakulatoryus ve Üretra'da ekstratestiküler kanalları oluştururlar.

#### **1.2.2.1. Tubuli Rekti**

Seminifer tübüller kıvrımlıdır ve bu tübül iki uçtan kısa, düz bir kanala açılır. Bu kanal tubuli rektidir. Tubuli rekti seminifer tübülü rete testise bağlar. Spermatogenik hücreler Tubuli rektinin başlangıç kısmında kaybolur. Sadece Sertoli hücreleri görülür. Sertoli hücreleri tubuli rektinin ana kısmında bulunan olan prizmatik epitel hücrelerini oluştururlar. Bu hücreler yağ damlacıklarından zengindir. Epitel bir bazal lamina üzerine oturur. Epiteli çevreleyen gevşek bağ dokusunda düz kas hücreleri bulunmaz (Junqueira ve Carneiro, 2009; Kierszenbaum, 2006).

#### **1.2.2.2. Rete Testis**

Tubuli rekti, mediastenum testisin içerisine doğru seyreder ve burada birbirleriyle anostomoz yaparak kanallar ağı haline dönüşür. Bu kanallar ağına rete testis denir. Rete testis düzensiz boşluklar görünümünde olup basit kübik epitel ile döşelidir (Junqueira ve Carneiro, 2009; Kierszenbaum, 2006).

#### **1.2.2.3. Duktuli Efferentes**

Rete testisten sayıları yaklaşık olarak 10-20 arasında değişen duktuli efferentes çıkar. Duktuli efferentes rete testisi duktus epididimise bağlar (Eşrefoğlu, 2018). Epididimisin baş kısmının bir bölümünü oluştururlar. Duktuli efferentesler bağ

dokusu ile çevrelenmiştir ve ince sirküler düz kas tabakası içerirler. Epiteli; kısa kübik hücrelerden ve uzun prizmatik hücrelerden oluşan epiteldir. Kısa kübik hücrelerde mikrovillus, uzun prizmatik hücrelerde ise silya vardır. Epiteldeki hücrelerin uzunluğunun ve yüzey özelleşmelerinin farklı olması nedeniyle lümeni düzensiz görülür (Junqueira ve Carneiro,2009; Eroschenko, 2016). Silyalı hücreler spermatozoonların epididimise doğru hareket etmesini sağlar. Mikrovilluslu hücreler ise seminifer tübülde gelen sertoli hücrelerinin salgısının absorpsiyonunu sağlar (Junqueira ve Carneiro, 2009; Eroschenko, 2016).

#### **1.2.2.4.Duktus Epididimis**

Baş, gövde ve kuyruk olarak üç bölümden oluşan Duktus epididimis; spermatozoonları testisten penise doğru taşıyan, spermlerin depolandığı ve olgunlaştığı kanallardır. Uzunluğu 6 metreye kadar ulaşabilen bağ dokusu ve ince düz kas ile sarılmış oldukça kıvrımlı bir kanaldır (Eroschenko, 2016). Duktus epididimis; sperm maturasyonunda ve depolanmasında görevlidir. Spermin motilitesinin kazanılmasını sağlar. Plazma membran yüzey özellikleri değişimleri ve yeni yüzey molekülleri gelişimi ile oositi tanıma ve oosite bağlanma yeteneğini kazandırır. Geçici spermatozoon kapasitasyon inhibisyonu ve sperm maturasyonu için gerekli olan Gliserofosfokolini salgılar. Duktuli eferentesten artık olarak kalan lüminal sıvının rezorpsiyonunu sağlar. Sitoplazmik artıkları ve dejenere olan spermatozoonları fagosite eder. Epiteli stereosilyalı yalancı çok katlı prizmatik epiteldir. Epitel iki tür hücre içerir; esas hücreler ve bazal hücrelerdir. Esas hücreler; baş kısmında uzundur (80 µm) ancak kuyruğa doğru (40 µm) kısalır. Uzun prizmatik hücrelerdir. Hücreler epitelin lümene bakan yüzeyinde dallanan ve hareketsiz demetler halinde olan stereosilyalıdır. Apikal sitoplazmasında; lizozomlar, multiveziküler cisim, pinositotik kaplı veziküller, plazmalemma invajinasyonları içerirler. Aynı zamanda iyi gelişmiş bir Golgi kompleksine ve çok sayıda granüllü endoplazmik retikulum'a (GER) sahiptirler. Bazal hücreler; kısa yuvarlak kök hücrelerdir. Hücreler epitelin bazal laminası üzerine otururlar. Epitelin içinde göç eden lenfositler olan Halo hücreleri de bulunmaktadır (Ross ve Pawlina, 2014; Junqueira ve Carneiro, 2009; Eroschenko, 2016; Eşrefoğlu, 2018)



#### **1.2.2.5.Duktus Deferens**

Duktus deferens, epididimisin kuyruğunun devamı olup testiküler damarlara ve sinirlere yakındır (Eşrefoğlu, 2018). Kalın duvara ve dar bir lümenine sahiptir. Duktus deferensin epitelini yalancı çok katlı prizmatik epiteldir. Uzun prizmatik hücrelerin lümenine bakan kısımları steriosilya içerir. Lamina propria'nın içerisinde çok sayıda elastik lifler bulunur. Lamina propria'nın altında ise submukoza yer alır. Submukozada çok fazla kan damarları vardır ve bu durum mukozanın musküler tabakadan ayrılmasını sağlar. Musküler tabaka 3 düz kas tabakasından oluşur. İç tabaka, diğerlerine göre daha ince olup longitudinal seyirli düz kas liflerinden oluşur. Orta tabaka daha kalındır ve düz kas lifleri sirküler seyirlidir. Son tabaka olan dış tabaka ise longitudinal seyirlidir ve fibröz adventisya ile çevrilidir (Ross ve Pawlina, 2014; Junqueira ve Carneiro, 2009; Eroschenko, 2016). Duktus sonlanmadan önce genişler, bu genişleyen kısım kısım duktus deferensin ampullasıdır. Ampulla dallanmış uzun mukozal katlantılara sahiptir. Kas tabakası duktus deferensin diğer yerlerine göre çok incedir. Epiteli kalın ve kıvrımlıdır (Eşrefoğlu, 2018).

#### **1.2.2.6.Duktus Ejakulatoryus**

Ampullanın son kısmında seminal vezikülün ampullaya katılır ve birleşerek duktus ejakulatoryusu oluştururlar. Duktus ejakulatoryus tek katlı prizmatik ya da yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Epiteli salgı özelliğine sahiptir ve hücreler sarı pigment granülleri içerirler. Duktusun duvarında kas tabakası yoktur, yalnızca fibröz bağ dokusundan oluşan bir duvar ile desteklenmiştir (Ross ve Pawlina, 2014; Junqueira ve Carneiro, 2009).

#### **1.2.2.7.Üretra**

Üretra, idrar kesesindeki idrarı dışarı atmasının yanında erkeklerde ejakülasyonda sperm transportunda da görevlidir. Üretra erkeklerde daha uzundur ve 3 segmentten meydana gelir. Bunlar; Prostatik üretra, Membranöz üretra ve Penil üretra'dır (Gartner ve Hiatt, 2016). Prostatik üretra 3-4 cm uzunluğunda olup transizyonel epitel ile döşelidir. Prostatik üretranın etrafında içte uzunlamasına dışta ise dairesel şekilde uzanan iki kas tabakası vardır. Membranöz üretra, çok katlı prizmatik epitele sahiptir. Kas tabakası oldukça ve ince düz kas liflerinden oluşur. Penil üretra,

yaklaşık 15 cm uzunluğunda olup proksimali çok katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Fossa navikularis olarak adlandırılan penil üretranın genişlemiş kısmı ise çok katlı yassı epitel ile döşelidir. Epitelin altında gevşek, fibroelastik bağ dokusundan, meydana gelmiş lamina propria yer alır. Lamina propriada birkaç ince, uzun düz kas demeti bulunur. Ayrıca burada dallanmış tübül yapısında olan Littre bezleri de yer alır. Littre bezlerinin kanalları penil üretra'ya açılır. Üretral mukoza belirgin longitudinal kıvrımlar içerir ve bu özgün yapı, alınan mikroskopik örneklerde üretranın ayırıcı özelliğini oluşturur (Gartner ve Hiatt, 2016) .

### **1.2.3.Yardımcı Genital Bezler**

Yardımcı genital bezler erkeklerde üreme için gerekli olan salgıları üretir. Bunlar; Veziküla seminalis, Prostat ve Bulboüretral bezler'dir.

#### **1.2.3.1.Veziküla Seminalis**

Veziküla seminalis, duktus deferensin ampullasına paralel olarak uzanan uzunluğu 15 cm olan, 2 adet kıvrımlı tübüler bezlerdir. Duktus deferens ile ejakülatuar duktusu oluşturur. Lümeni; mukozal katlantılar içerir, katlantılar dallanma gösterir. Epiteli değişiklik gösterir; yalancı çok katlı uzun prizmatik epitel, silyasız alçak prizmatik hücreler ve kısa bazal hücreler. Alçak prizmatik hücreler; GER, Golgi, lipid damlacıkları, apikal sekresyon granülleri, lipokrom pigment damlacıkları içerirler. Lipokrom pigment damlacıkları semene sarı rengini verir. Veziküla seminaliste hücre yüksekliği testosteron düzeyine bağlıdır. Lamina propriası damardan zengin elastik lifler içeren gevşek bağ dokusu yapısındadır. Muskularis tabakası içte sirküler dışta longitudinal seyirli düz kas tabakasından oluşur. Adventisyası bağ dokusu ile karışıktır ve muskularis tabakasını çevreler (Eroschenko, 2016). Seminal veziküllerde spermatozoonlar depo edilmez. Seminal veziküller spermatozoonları aktive etmek için prostaglandin, aminoasid, inozitol, sitrat, protein içerikli salgı üretirler. Aynı zamanda seminal sıvıya karbonhidrat (fruktoz) vererek spermatozoonların beslenmesini sağlarlar ve spermatozoonlara enerji kaynağı oluştururlar (Junqueira ve Carneiro, 2009; Eroschenko, 2016).

### **1.2.3.2.Prostat Bezi**

Prostat, en büyük yardımcı bezdir. Üretra ve duktus ejakulatorisi içerir. Boşaltıcı duktuslar ile prostatik üretraya drene olan 30-50 kadar bileşik tübüloalveolar bezlerin bir araya gelmesi ile oluşur (Eşrefoğlu, 2018). Bezler 3 konsantrik tabaka şeklinde düzenlenmiştir; Mukozal bezler, Submukozal bezler ve Periferal bezler (Esas prostatik bezler). Mukozal bezler direkt uretraya açılıp salgı yaparken submukozal ve periferal bezler prostatik sinuslara açılıp salgı yaparlar. Yetişkin prostat parankimasi 4 kısımdan oluşur. Bunlar; Santral zon, Periferal zon, Transitional zon ve Periüretral zon'dur. Santral zon'un epitel hücrelerinin sitoplazmaları bazofilik ve nükleus seviyeleri farklıdır. Transizyonel zon'da daha çok mukozal bezler vardır. Periüretral zon'da ise hem mukozal hemde submukozal bezler vardır (Eşrefoğlu, 2018). Prostatın stroması düz kas lifleri içeren düzensiz sıkı bağ dokusundan oluşur. Kas lifleri ejakülasyon anında kasılarak prostat salgısının boşalmasını sağlarlar. Stroma periferde fibromusküler bir kapsülle devam eder. Bez epiteli tek katlı prizmatik epitelidir. Ancak yer yer yalancı çok katlı epitel de görülebilir. Epitel hücreleri protein sentezi yapar ve GER, Golgi, salgı granülleri içerirler. Bez lümeninde yaşla beraber artan, kalsifiye olabilen, çeşitli şekil ve boylarda prostat taşları (Korpora amilasea) görülebilir. Prostat bezinin gelişimi ve fonksiyonel aktivitesi veziküla seminalisteki gibi testosterona bağlıdır. Prostat bezi fibrinolizin, sitrik asit, prostatik asit fosfataz (PAP) ve prostat spesifik antijen (PSA) salgılar. Fibrinolizin; semenin akışkan hale gelmesini sağlar. Prostatik asit fosfataz (PAF); bez epitelindeki hücrelerin büyümelerinde ve metabolizmalarında etkilidir. Prostat spesifik antijen (PSA) ise; seminal sıvının yapısına katılır ve önemli bir tümör belirteçidir. Prostat kanseri durumlarında kandaki PSA miktarı artar ve prostatik epitel aracılığı ile dolaşıma verilir (Gartner ve Hiatt, 2016).

### **1.2.3.3.Bulboüretral Bezler**

Bulboüretral bezler (Cowper bezleri), penis kökünde ve membranöz üretra başlangıcında prizmatik epitel ile döşeli bileşik tübüloalveolar bezlerden oluşan bir çift bezdir (Eşrefoğlu, 2018). Bezler ince bir bağ dokusu sarıdır ve çizgili kas lifleri vardır. Bez içerisine septumlar girer ve organı lobüllere böler. Septumların bağ dokusundan oluşur ve yapısında yapısında çok miktarda elastik lifler, çizgili kas

lifleri ve düz kas lifleri bulunur. Salgı kanalları yalancı çok katlı epitel ile döşelidir Mukus benzeri bir salgı üretir ve ürettiği bu salgı, seminal sıvının %2–5'ini oluşturur. Seksüel stimülasyon ile üretra lümenini kayganlaştırır, erkek uretrasındaki kalan idrarı ve kadındaki asidik vaginal salgıları nötralize eder. Bulboüretal bezlerin fonksiyonu androjenler tarafından düzenlenir (Ünal ve ark., 2017).

#### **1.2.4.Penis**

Penis, idrar ve semenin dışarı atılmasını sağlayan organdır. 3 tane erektil dokudan oluşur. Bunlar; iki adet Korpus kavernozum ve bir adet Korpus spongiyozum'dur (Eşrefoğlu, 2018) Korpus kavernozumlar; bir çift olup dorsal yerleşimlidirler. Tunika albuginea adı verilen kalın fibröz bir kılıf ile sarılmıştır. Kılıfın kollajen lifleri içte sirküler, dışta longitudinal olmak üzere 2 tabaka halinde düzenlenmiştir. Korpus kavernozumlar endotel ile döşeli çok sayıda kavernöz boşluklar içerir. Bu boşlukları trabeküller oluşturan ince bir düz kas tabakası çevreler. Korpus spongiyozum; tek olup ventral yerleşimlidir ve uretrayı çevreler. Daha sonra genişler ve glans penisi oluşturur. Glans penisin epiteli çok katlı yassı epiteldir. Penis ince bir deri örter. Bu derinin proksimal kısmında kaba pubik kıllar, çok sayıda ter bezleri ve sebasöz bezler bulunur. Distal kısmında ise az sayıda ter bezi olur ve kıl folikülü bulunmaz. Penis örtten bu deri penisin uç kısmında katlantı yaparak glans penisi örter. Bu katlantıya prepusyum (sünnet derisi) denir. Prepusyumun bağ dokusu ve düz kas lifleri içerir; iç yüzeyi ise nemli ve non-keratinizedir. Korpus spongiyozumda tunika albuginea ile sarılıdır ancak korpus kavernozumuna göre çok daha incedir ve elastik lifler ile düz kas liflerini içerir. Kavernöz boşlukları daha küçük, trabekülleri de daha incedir (Ross ve Pawlina, 2014; Junqueira ve Carneiro, 2009; Gartner ve Hiatt, 2016).

#### **1.3.Erkek Genital Sistem Embriyolojisi**

Embriyoda 7. haftaya kadar erkek ve dişi morfolojik özellikleri gelişmeye başlamaz. Bundan dolayı, genital sistemin bu başlangıç dönemi, farklılaşmamış (indifferent) safha olarak adlandırılır (Moore ve Persaud, 2001). Embriyoda cinsiyet farklanması, birçok genin rol aldığı bir süreçtir. Eşeyssel dimorfizmde kilit rol Y kromozomundur. Y kromozomunun kısa kolunda bulunan Sry geninin protein

ürünü olan Testis belirleyici faktör (TDF = Testis Determining Factor) varlığı gonadal kabartının testis yönünde farklanmasını sağlar. Ancak embriyo XX kromozomunu taşıyorsa gonad otomatik olarak ovaryuma farklanır (Moore ve Persaud, 2001; Yakışık ve ark, 2005; Sadler, 2011).

### **1.3.1. Gonadların Gelişimi**

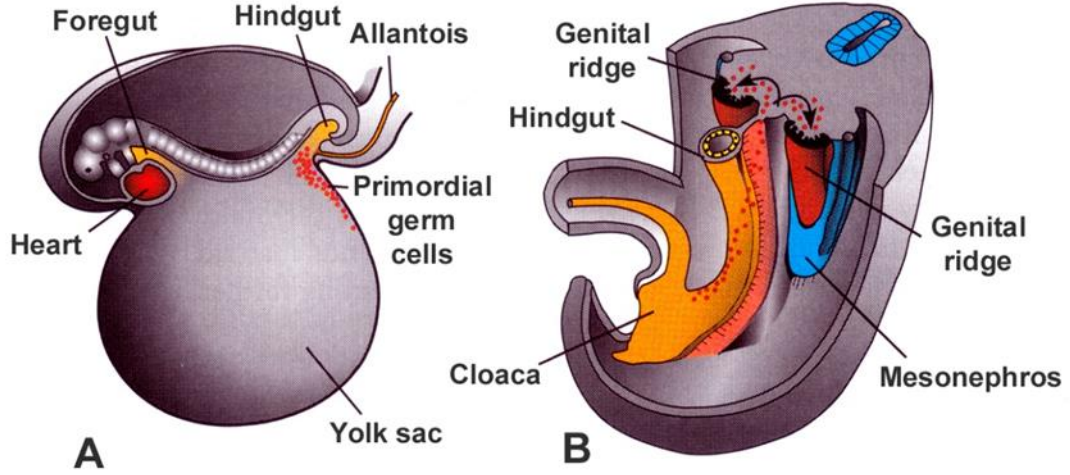
Gonadlar 3 farklı kaynaktan köken alırlar:

- Mezodermal epitel (Posterior abdominal duvarı döşeyen mezotel)
- Altındaki mezenşim (embriyonik bağ doku)
- Primordiyal germ hücreleri (Moore ve Persaud, 2001).

### **1.3.2. Primordiyal Germ Hücreleri**

Primordiyal germ hücreleri epiblast kökenli olup primitif çizgi boyunca göç ederler. Göç eden primordiyal germ hücreleri 4. haftanın başında vitellus kesesinin endoderminde ilk kez gözlenir. 5. haftanın sonunda embriyonun katlanması ile birlikte vitellus kesesindeki primordiyal germ hücreleri ameboid hareketlerle sonbarsağın dorsal mezenteri boyunca embriyonun lomber bölgesindeki gonadal kabartıya göç ederler (Şekil 1.3). Göç 6. haftaya kadar devam eder. PGH'lerinin gonadların dişi veya erkeğe farklanmasında önemli etkileri vardır. Göç hareketlerini tamamlayan PGH'leri gonadal kabartıya ulaştıklarında embriyo dişi karakterdeyse (XX) gonadal kabartının dış kısmına; erkek karakterdeyse (XY) gonadal kabartının iç kısmına yerleşirler. PGH'lerinin göç hareketleri germ hücreleri üzerindeki c-kit reseptörü ve onun kök hücre faktörü ("steel faktör") sayesinde gerçekleşir. Eğer bu hücreler gonadal kabartıya ulaşamazlarsa gonadlar oluşmaz (Sadler, 2011; Moore ve Persaud, 2001). Ek olarak, genital kabartıya göç sırasında germ hücrelerinin malign transformasyonu ile gonadal germ hücreli tümörler oluşur. C-kit ekspresyonundaki yetersizlik gibi nedenlerle de germ hücreleri hedefine ulaşamaz ve göç yolunda kalabilir, ya da göç normalden farklı bir yönde ilerler. Bu şekilde hedefine ulaşamayan veya anormal bölgelere göç eden germ hücre kalıntılarından gonad dışı bölgelerde (mediasten, abdomen, pelvis, pineal bölge) germ hücreli tümörler oluşur. Germ hücre tümörleri tümörün köken aldığı öncül germ hücrelerinin gelişim

evresine, embriyonik ve embriyo dışı dokulara farklılaşma kapasitesine göre farklılık gösterirler (Schneider ve ark, 2001; Demirtaş, 2011).



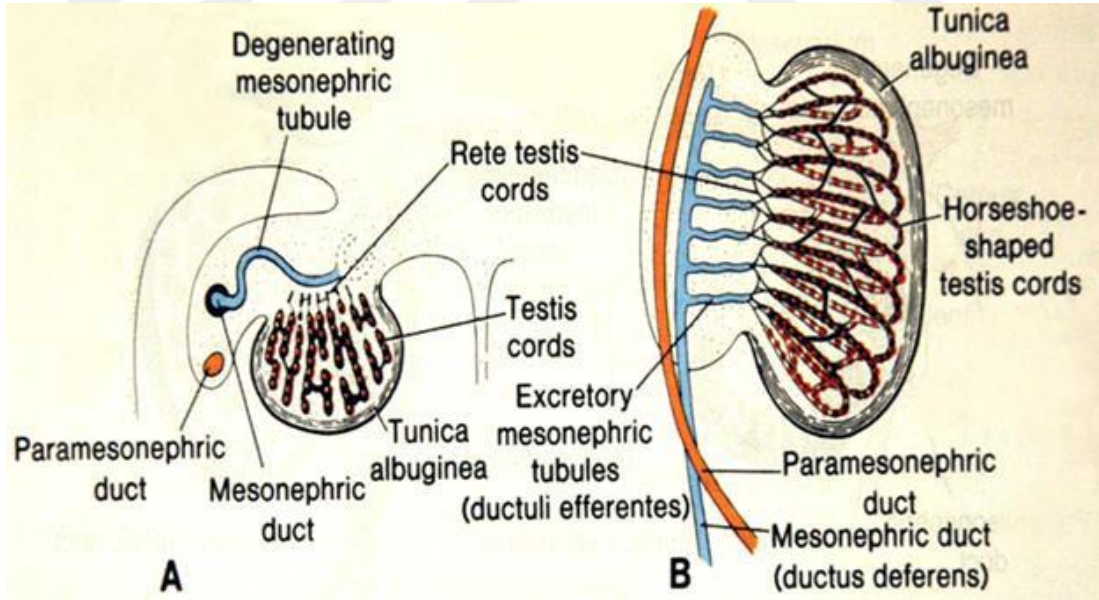
Şekil 1.3. 3 haftalık embriyoda primordiyal germ hücreleri ve bu hücrelerin genital kabartıya göçü (Sadler, 2011)

Primordiyal germ hücrelerinin primer gonadlara göçü sırasında gonadal sırttaki epitel hücreleri proliferer olur ve alttaki mezenşime gömülürler. Böylece burada primitif cinsiyet kordonlarını oluştururlar. Primitif cinsiyet kordonları dişi ve erkekte yüzey epiteline bağlıdır. Bu evrede erkek ve dişi gonadlar ayırt edilemez. Bu yüzden bu dönemdeki gonad faklanmamış gonad olarak adlandırılır (Sadler, 2011).

### 1.3.3. Testis Gelişimi

Embriyo erkek yönünde farklılaşacaksa primitif cinsiyet kordonları SRY geninin etkisiyle testis veya meduller kordonları oluşturmak için çoğalarak medullaya girerler. Medullaya giren kordonlar medullanın derinlerine dallanarak uzanır. Testisin hilus bölgesine yakın olan bu kordonlar anastomozlaşarak rete testisi meydana getirir. Gelişimin ileri evresinde kalın fibröz bağ dokusu yapısında olan tunica albuginea gelişir ve testis kordonları yüzey epiteli ile ilişkisini kaybeder (Sadler, 2011). Tunica albugineanın yoğunluk kazanması testiküler gelişim için önemlidir. Gelişimin ileri haftalarında testis kordonları atnalı şekline gelir ve bu kordonlar rete testis kordonlarıyla devam eder. Bu aşamada testis kordonları primitif germ hücrelerinden ve testisin yüzey epitelinin köken alan sertoli hücrelerinden oluşur.

Sertoli hücrelerinden Müller inhibe edici faktör (MIS) salgılanır. Sertoli hücrelerinden salgılanan MIS, Paramezonefrik (Mullerian) kanal gelişiminin baskılanmasını sağlar (Moore ve Persaud, 2001). Leydig hücreleri ise gonadal sırtın mezenşiminden köken alırlar ve testis kordonlarının arasında yerleşiktirler. Leydig hücreler testis kordonlarının farklanmaya başlamasıyla birlikte gelişmeye başlarlar. Gelişimin 8. haftasından itibaren leydig hücreleri testosteron ve androstenedione salgılamaya başlar. Bu hormonlar mezonefrik kanalın ve dış genital kanalların erkeğe farklanmasını uyararak erkek boşaltım yollarının gelişmesini, yardımcı genital bezler olan prostat, seminal vezikül ve bulboüretal bezlerin gelişmesini, penisin büyümesini, penil üretranın gelişmesini, skrotal şişkinliklerin birleşmesini sağlarlar. (Demirtaş ve Pişkin, 2009; Hutson, 2012). Testis kordonlarının lümenleri puberteye kadar kapalıdır. Puberteye birlikte kordonların lümenleri açılır ve seminifer tübüllere dönüşürler. Testis büyüyüp genişledikçe gerileyen mezonefrozdaki ayrılarak kendi mezenterisi olan mezorşiyuma asılır. Daha ileri gelişimde de testisin yüzey epiteli düzleşir ve yetişkin testisin dış yüzey mezoteli oluşur (Sadler, 2011; McGeady ve ark, 2011; Reina ve ark, 2016), (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. A. Gelişimin 8. Haftası, transvers kesit. B. Testis ve genital kanalın 4. Aydaki görünümü (Sadler, 2011)

### **1.3.4.Genital Kanalların Embriyonik Dönemde Gelişimi**

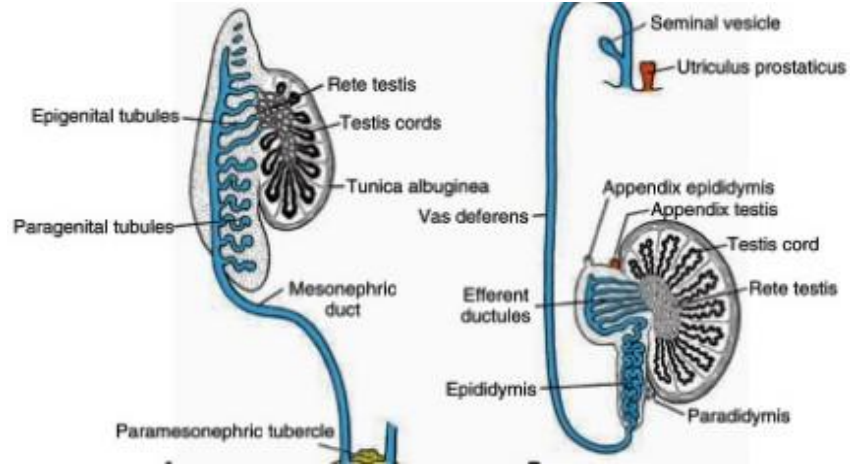
#### **1.3.4.1.Farklanmamış Evre**

Gelişimin 5–6. Haftalarında embriyo incelendiğinde erkek ve dişi genital sisteminin iletilici yollarını oluşturacak Mezonefrik (Wolffian) ve Paramezonefrik (Mullerian) kanallar embriyoda bir arada bulunurlar (Sadler, 2011). Paramezonefrik kanal başlangıçta bir septumla birbirinden ayrılmış iki kanal şeklindedir. Ancak büyüdükçe bu iki kanal birleşerek uterus kanalını oluştururlar. Birleşen kanalların kaudal ucu ürogenital sinüsün arka duvarında müllerian tüberkül adı verilen şişlik oluşturur. Mezonefrik kanallar ise müllerian tüberkülün iki yanından ürogenital sinusa açılırlar (Sadler, 2011).

#### **1.3.4.2.Erkekde Genital Kanallar**

Mezonefrik kanalın büyük bir kısmı erkek genital boşaltım yollarını yapar. Mezonefroz geriler ve gerilerkende epigenital tübül adı verilen birkaç boşaltım kanalı kalır. Epigenital tübüller rete testisin kordonları ile birleşir ve duktuli efferentesleri oluştururlar (Rao ve Burnett, 2013). Testisin kaudal kutbu boyunca uzanan boşaltım kanalı olan paragenital tübüller rete testis kordonları ile bağlantı kurmazlar. Bu yapıların kalıntıları ise paradidimis adını alır. Mezonefrik kanalın kranial ucu apendiks epididimis olarak adlandırılan kalıntı yapıyı oluşturur. Geriye kalan mezonefroz kanal parçası duktuli efferenteslerin giriş yerinin hemen altında uzar, son derece kıvrıntılı bir hal alarak ve duktus epididimisi yapar. Mezonefrik kanalların kaudal uçlarının lateralinden dışa doğru ise seminal vezikül gelişir. Mezonefrik kanal seminal vezikül tomurcuğundan epididimisin distaline kadar kalın kaslı hale gelir ve duktus deferens oluşur. Seminal vezikül kanalı ile üretra arasında kalan mezonefrik kanal bölümü ejakülatuar duktus olarak gelişir. Paramezonefrik kanallar ise dejenere olurlar. Paramezonefrik kanalların dejenere olmasını MIS sağlar ve bu kanallar dejenere olurken erkeklerde küçük bir kalıntı bırakır. Bu kalıntı apendiks testis olarak adlandırılır (Hassa ve Aştı, 1997; Moore ve Persaud, 2001; Sadler, 2011), (Şekil 1.5).





Şekil 1.5. Gelişimin 4. ayında ve testis inişinden sonra genital kanalların durumu (Sadler, 2011)

### 1.3.5. Erkek Dış Genital Organların Gelişimi

Dış genitaler fetal testisler tarafından üretilen testosteron hormonunun etkisiyle erkek yönünde gelişir. Fallus, uzayıp genişler ve bu sırada üretral katlantıları öne çekerek üretral oluğun lateral duvarını oluşturur. Üretral oluk fallusun kaudal kısmına gelir, fakat fallusun en uç noktası olan glansa ulaşamaz. Üretral oluğu endodermal epitel döşer ve bu epitel üretral plağı meydana getirir. 12. haftanın sonunda üretral kıvrımlar üretral plak üstüne kapanır ve penil üretra oluşur. Üretranın distal kısmı 4. ayda epitelyal kordon oluşmasıyla tamamlanır. İnguinal bölgede yerleşik olan skrotal şişkinlikler kaudale doğru büyür ve hemiskrotumu meydana getirir. Her şişlik kendi etrafındaki hemiskrotumu meydana getirdiği için iki tane hemiskrotum oluşur. Hemiskrotumlar da skrotal septum ile birbirinden ayrılır (Rao ve Burnett, 2013; McGeady, 2013; Moore ve Persaud, 2001; Sadler, 2011).

## 1.4. Kanser

### 1.4.1. Kanser Hakkında Genel Bilgiler

Kanser, hücre büyüme ve bölünmesini kontrol eden genlerin hasar görmesi ile ortaya çıkan önemli bir hastalıktır. Kanser en belirgin tanımsal özelliği, vücudun çeşitli bölgelerinde ortaya çıkan ve diğer organlara yayılabilen anormal hücre bölünmeleridir (Aslan ve ark, 2006). Çoğalan kanser hücreleri komşu dokulara girer ve dokuları istila eder. Bu duruma invazyon denir. Kanser hücrelerinin oluştukları tümörden ayrılıp, kan ya da lenf dolaşımı aracılığı ile vücudun diğer bölgelerine yayılması olayına ise metastaz adı verilir. Kanser hücreleri yayıldıkları yerlerde

tümör kolonileri oluşturur ve büyümeye devam ederler. Tümörler, bulunduğu bölge dışında yerleşme eğilimi göstermiyorsa bu tip kanserlere benign tümör, bulunduğu yerden diğer doku ve organlara yayılma eğilimi gösteriyorsa bu tip kanserlere de malign tümör adı verilir (Kutluk ve Kars, 1992). Benign ve malign tümörleri birbirinden ayırt etmede 4 kriter dikkat alınır. Bunlar; diferansiyasyon ve anaplazi, büyüme hızı, lokal invazyon ve metastazdır. Benign tümörler; iyi diferansiye olur, hücrelerin büyüme hızı yavaştır, lokal invazyonu kaynaklandığı yerle sınırlıdır ve metastaz yoktur. Malign tümörler ise; kötü diferansiye olur ve anaplazi görülür, hücrelerin büyüme hızı diferansiyasyona bağlı olmakla birlikte hızlıdır, Progressif infiltrasyon, invazyon, destrüksiyon görülür ve çevre dokuya yayılarak büyüme gösterirler, metastaz vardır (Ünal, 2012). Kansere neden olan etkenler genetik faktörler ve çevresel karsinojenlerdir. Genetik faktörler kanser oluşumunun %5'ini oluştururken çevresel karsinojenler %95'ini oluşturur. Çevresel karsinojenler; iyonize radyasyon, ultraviyole ışınları, hava kirliliği, kimyasal karsinojenler, beslenme faktörleri, sigara, alkol ve virüslerdir (Çetin, 2013; Yokuş ve Çakır, 2012; Kutluk ve Kars, 1992). Kanser görülme insidansı; hastanın yaşına, cinsiyetine, tümörün köken aldığı organa, diğer çevre faktörlere bağlı olarak farklılık gösterir. Kadınlarda en sık meme kanseri, tiroid kanseri, kolon kanseri görülürken erkeklerde akciğer kanseri, prostat kanseri, mesane kanseri en sık görülen kanser türüdür.

Erkeklerde az da olsa görülen başka bir tümör çeşidi de testis tümörüdür. Testis tümörleri erkeklerdeki tüm malign tümörlerin % 1-2'sini kapsamaktadır. Erkek ürogenital sistem tümörlerinin ise %13-23'ünü oluşturur. Genel insidansı ise 100.000'de 2-3'tür. Ancak sosyoekonomik durum, çevresel faktörler, geçirilmiş hastalıklar ve etnik faktörler gibi pekçok etkenler hastalık insidansında farklılıklar oluşturur. Testis tümörlerinin kesin nedeni bilinmemekle birlikte etyolojisinde edinsel ve konjenital faktörlerin önemli bir yeri vardır. En önemli konjenital faktör kriptorşidizmdir. Testis tümörlü hastaların % 7-10'unda kriptorşidizm hikayesi vardır ve Kriptorşidizmi olanların testis tümörüne yakalanma riski daha fazladır. Malignite riski en yüksek intraabdominal testiste en yüksek (1/20), inguinal testiste ise en düşüktür (1/80). İnmemiş testisin skrotum içine indirilmesi, muayene ve tümör tanımlanmasının kolaylaştırır, ancak malignite potansiyelini değiştirmez. Gebelik

sırasında dietilstilbestrol veya östrojen içeren oral kontraseptif kullanımı, fetusta testis tümörü insidansını artırmaktadır. Non-Spesifik enfeksiyon veya kabakulak enfeksiyonu gibi enfeksiyon durumlarının, travma gibi edinsel faktörlerin testislerde lokal hormonal dengesizliklere yol açarak malign transformasyona neden olduğu düşünülmektedir (Yalçınkaya ve ark, 2008; Albers ve ark, 2008; Sarıcı ve ark, 2013).

#### **1.4.2. Testis Tümörlerinin Histopatolojik Sınıflaması**

Testis tümörlerinin histopatolojik olarak çok sayıda değişik tipleri vardır. Dixon-Moore klasifikasyonuna göre testis tümörleri sınıflandırılması;

##### **I- TESTİSİN PRİMER TÜMÖRLERİ**

###### **A- Germinal Tümörler;**

1-Seminom germ hücre tümörleri

2- Nonseminomatöz germ hücre tümörleri (NSGHT)

###### **B- Testisin Nongerminale Tümörleri**

1- Gonadal stromal tümörler

a- Leydig hücreli tümörler

b- Sertoli hücreli tümörler

c-Gonadoblastoma

2- Diğer Tümörler

a-Rete Testis in Adenokarsinomu

b-Mezenkimal tümörler

c- Karsinoid

d-Adrenal rest tümö

e-Epidermoid Kist

f-Adenomatoid Tümör

##### **II-TESTİSİN SEKONDER TÜMÖRLERİ**

A-Lenfoma

B-Testisin Lösemik İnfiltrasyonu

C-Metastazlar

##### **III-PARATESTİKÜLER TÜMÖRLER**

A-Adenomatoid

- B-Epididimin Kistadenomu
- C-Mezenkimal tümörler
- D-Mezoteliyoma
- E-Metastazlar (Akkılıç ve Solok, 1977)

Tüm testis tümör grupları içinde en sık karşılaşılan tümör germinal hücreli testis tümörüdür. Germinal hücreli testis tümörü testis tümörlerinin %90-95'ini oluşturur (Fujimura ve ark, 2005).

### **1.4.3.Germ Hücre Tümörleri**

Germ hücre tümörleri, seminom ve nonseminom germ hücre tümörleri olarak ikiye ayrılır (Rudolph ve ark, 2017).

#### **A- SEMİNOM**

1. Klasik seminom en sık (%85)
2. Anaplastik seminomlar (%10)
3. Spermatozitik seminom (%5)

#### **B- NONSEMİNOM GERM HÜCRE TÜMÖRLERİ (NSGHT)**

1. Embriyoner karsinom
2. Yolk sak tümörü
3. Koryokarsinom
4. Teratom

### **1.4.3.1.Seminom**

Germ hücreli tümörler içinde en sık karşılaşılan tümör olup tek başına görülme sıklığı %35 dir. Seminomun üç tipi vardır. Ancak prognostik açıdan bakıldığında bu üç tip arasında fark yoktur. Seminomların % 85 i klasik tiptir. Klasik seminomda hücreler büyük, şeffaf sitoplazmalıdır ve nükleusu koyu boyanır. Az bir kısmında da sinsityotroblastik elemanlar bulunur. Bu tip seminomlarda  $\beta$ - hCG üretimi vardır. İkinci tip seminom olan anaplastik seminom, seminomların % 5-10'unu oluşturur. Nükleusları aşırı derecede pleomorfizm gösterir. Üçüncü tip seminom ise spermatozitik tip seminomdur. Seminomların %5-10'unu oluştururlar. Hücre

boyutları değişkendir ve sabit değildirler, sitoplazmaları koyu boyanır, nukleusları yuvarlak olup yoğun kromatin içerirler. Spermatoitik seminom en sık 50 yaşı üzerindeki erkeklerde görülür (Isabell ve ark, 2004).

#### **1.4.3.2.Embriyonal Karsinom**

Embriyonal karsinomun tek başına görülme sıklığı % 20 dir. Adult ve infantil olmak üzere iki tipi mevcuttur. Adult tipde belirgin olarak pleomorfizm dikkat çeker. Hücreler, papiller-glandüler yapılarıdaki gibi dizilim gösterirler, yaygın kanama ve nekroz vardır. Infantil tip ise, endodermal sinus tümörü veya yolk sac tümörü olarak da adlandırılır (Akkılıç ve Solok, 1977).

#### **1.4.3.3.Yolk Sak Tümörü (Endodermal Sinüs Tümörü)**

İnfantil tip tümördür. En sık çocuklarda görülür. Erişkinlerde ise diğer histolojik tiplerle kombinasyon halinde bulunur ve alfa fetoprotein (AFP) üretimiyle ilişkilidir. Homojen, sarımsı ve müsinöz görünümü vardır, hücreleri geniş, sitoplazmaları vakuollüdür ve glikojen ile yağ içerir. Sinsityotrofoblast ve sitotrofoblastlarla çevrili kaviteler bulunur (Yörükoğlu, 2011) .

#### **1.4.3.4.Koryokarsinom**

Tek başına görülme insidensi çok düşüktür. Sinsityotrofoblastlar ve sitotrofoblastlar görülür. Sinsityotrofoblastik elemanlar; geniş, çok nükleuslu ve eozinofilik sitoplazmalıdır. Sitotrofoblastik elemanlar ise, tek nükleuslu, şeffaf sitoplazmalı hücrelerden oluşur. Oldukça agresif bir tümördür. Erken hematojen metastaz yapma özelliği ile diğer nonseminomatöz testis tümörlerinden ayrılır (Demirtaş, 2011).

#### **1.4.3.5.Teratoma**

Tek başına görülme olasılığı %5'dir. Matür ve immatür teratoma olmak üzere iki tipi vardır. Matür teratoma ektoderm, mezoderm ve endoderm den kaynaklanan benign karakterli yapıya sahiptir. İmmatür teratoma ise, kötü diferansiye primitif dokuları ihtiva eder (Isabell ve ark, 2004).

#### 1.4.4.Tanı ve Tedavi

Testis tümöründe tanı öncelikle fizik muayene ile konur. Fizik muayenesinde genellikle kitle gözlenir. Daha ayrıntılı inceleme için görüntüleme yöntemlerinden olan ultrasonografi (US), bilgisayarlı tomografi (BT) ve manyetik rezonans (MR)'dan faydalanılır. Ayrıca serum tümör belirleyicilerinden olan alfafetoprotein (AFP) ve  $\beta$  human koryonik gonadotropin hormonunun ( $\beta$ -hCG) kandaki düzeyleri ölçülür. Testis tümörlerinde genellikle serum tümör belirleyicilerinin kandaki miktarları artmaktadır. Kesin tanı ise tümör biyopsisi ile konur (Albers ve ark, 2008). Germ hücreli tümörler çevre lenf bezlerine, karaciğere, kemiklere ve özellikle de akciğerlere yayılım gösterebilir. Yayılımın araştırmasında akciğer tomografisi, batin MR'ı, kemik sintigrafisi gibi tetkiklerden yararlanılmaktadır. Tümörün yerleşim yerine ve yayılım derecesine göre de tümörün evrelendirmesi yapılır. Evrelemenin yapılması hastalığın tedavisinin planlanmasında ve hastalığın seyrini değiştirmesinde oldukça önemlidir. Klinik evrelemede I'den IV'e kadar sınıflandırılır. Evre I'de tümör testis içinde sınırlı olup testis dışında herhangi bir hastalık bulgusu yoktur. Evre II' de lenf nodülü görülmektedir. Lenf nodülünün büyüklüğüne göre Evre II, Evre II A, Evre II B ve Evre II C olmak üzere 3'e ayrılır. Evre II A'da lenf nodülü 2 cm'den küçüktür. Evre II B'de lenf nodülü büyüklüğü 2-5 cm arasındadır. Evre II C'de ise lenf nodülü 5 cm'i aşmıştır. Evre III'de Sol supraklavikuler lenf nodu veya mediastinal lenf nodu görülmektedir. Evre IV'de ise organ metastazları görülür (Isabell ve ark, 2004).

Germ hücreli testis tümörü tedavisi ameliyat, kemoterapi ve radyoterapinin (ışın tedavisi) birlikte verilmesi ile yapılır. Başlangıç tedavisi yüksek inguinal orşiektomidir. Kuşkulu durumlarda açık testis biopsisi veya iğne biopsisi kesinlikle yapılmamalıdır. Orşiektomi sonrası tümörün histopatolojisine ve evresine göre tedavisi düzenlenir. Radyoterapi; seminomlar radyoterapiye duyarlıdır. Beyine yerleşen germinomlarda radyoterapi tüm beyine ve omuriliğe de uygulanabilir. Kemoterapi; kemoterapinin amacı kanser hücrelerini kemoterapötik ajanlar kullanarak öldürmektir. Bu tip tedavide Bu tip tedavide en çok sitotoksik anti-neoplastik ajanlar kullanılmaktadır (Çağlar ve Abacıoğlu, 2006; Albersve ark, 2008; Demirtaş, 2011; Yalçın, 2016).

## **1.5.Germ Hücreli Tümörlerde Kemoterapi Tedavisi**

Germ hücreli tümörler kemoterapiye çok duyarlıdır ve ileri evre tümörlerde bile % 60-70 hayatta kalım sağlanabilir. Kemoterapi tedavisinde çoklu ilaç rejimleri kullanılmaktadır (Yalçın, 2016). Kullanılan bu ilaçlar antineoplastik ilaçlar olup hastanın normal hücrelerine zarar vermeden tümör hücresinin büyümesini ve çoğalmasını durdurmak veya onları yok etmeyi amaçlamaktadırlar. Antineoplastik ilaçların çoğu hücre çoğalmasını nükleotit sentezini inhibe ederek engeller, bu nedenle sadece malign hücreler etkilenmez, bunun yanında; kemik iliği, gonadlar, gastrointestinal sistem, deri (özellikle saç folikülleri) gibi dokularda çok fazla etkilenir. Antineoplastik ilaçlar; alkilleyici ajanlar, antimetabolitler, vinka alkaloidleri, antitümör antibiyotikleri, hormon ve hormon antagonistleri, monoklonal antikolar şeklinde sınıflandırılırlar. Kemoterapide kullanılan çoklu ilaç rejimlerinden en yaygın olanı bleomisin, etoposid, cisplatin (BEP) ilaç tedavisidir (Can, 2005; Demirtaş, 2011).

### **1.5.1. Bleomisin**

Bleomisin; antitümör antibiyotikleri sınıfındadır. Antitümör antibiyotikleri, kanserli hücrelerin DNA/RNA sentezini baskılayarak büyümesini ve bölünmesini yavaşlatırlar. Bleomisin *Streptomyces verticillus* isimli bakteri tarafından üretilen bir antibiyotiktir. Bu ilaç radyasyonun doku toksositesini arttırdığı için radyoterapi tedavisi ile aynı zamanda kullanılmamalıdır. Hodgkin ve non- hodgkin's lenfoma, testis kanseri, baş ve boyun skuamoz hücreli kanseri, serviks kanseri tedavisinde kullanılır (Desai ve ark, 1974; Can, 2005).

### **1.5.2.Etoposid**

Etoposid; vinka alkaloidleri sınıfındadır. Alkaloidler bitkilerden elde edilir. Bu ilaçlar hücrenin metafaz aşamasına geçmesini engelleyerek hücre ölümüne neden olurlar ve RNA sentezini de inhibe ederler. Germ hücreli tümörler, akciğer kanseri, Non hadking's lenfoma, over kanseri, meme kanserinde kullanılır (Can, 2005; Sypniewski ve ark, 2013).

### 1.5.3. Sisplatin

Sisplatin, alkilleyici ajanlar sınıfındandır. Alkilleyici ajanlar, hücre siklusuna özgü olmayıp DNA'nın transkripsiyonunu engeller ve protein üretimini baskılar. Hem yavaş bölünen hem de hızlı bölünen malign tümörlerde etkilidir. Işınların doku toksisitesini arttırdıkları için radyoterapi ile uygulanmamalıdır. Testis kanseri, over kanseri, mesane kanseri, baş-boyun kanseri, akciğer kanseri, non-hodking's lenfoma'da kullanılır (Can, 2005; Germain ve ark, 2010).

BEP tedavisi orta ve yüksek risk grubundaki hastalarda uygulanır. Evre II B seminomda standart tedavi radyoterapidir. Ancak radyoterapi almak istemeyen hastalara 3 kür BEP tedavisi alternatif olarak uygulanabilir. Evre II A ve Evre II B non-seminom germ hücre tümörlerinde ise prognoza göre 3-4 kür BEP tedavisi uygulanır. Orta risk grubu kabul edilen Evre II-IV gonadal ve Evre I-II ekstragonadal tümürlü hastalarda 4-6 kür şeklinde BEP tedavisi uygulandığında %90'nın üzerinde başarı elde edildiği görülmüştür. Yüksek risk grubu olarak kabul edilen tüm evre III-IV ekstragonadal germ hücre tümürlü hastalar ile 15 yaş üstü evre IV testis tümörleri ve tüm evre IV over tümürlü hastalarda ise platine dayalı BEP tedavisi uygulanarak %80 başarı elde edildiği görülmüştür (Albers ve ark, 2008; Demirtaş, 2011).

### 1.6. Bor

Bor, periyodik tabloda 5. sırada B simgesiyle gösterilen metal ametal arası yarı iletken özelliklere sahip bir elementtir (Buluttekin, 2008). Bor kristal iken siyah renkli, sert ve katı haldedir. Amorf durumda ise toz halde, siyah ve kahverengidir. Dünyadaki önemli bor yatakları Türkiye, Rusya ve A.B.D'de olup dünya ticari bor rezervleri 4 bölgede toplanmaktadır. Bunlar; ABD'de yer alan Mojave Çölü ve And Kemer, Güney-Orta Asya Orojenik Kemer ve Doğu Rusya'dır. Dünya bor rezervlerinin %72'si Türkiye'de, %8,5'i Rusya'da ve %6,8'i ABD'de bulunmaktadır. Türkiye'de bilinen bor yatakları özellikle Kırka/Eskişehir, Bigadiç/Balıkesir, Kestelek/Bursa ve Emet/Kütahya'da bulunmaktadır (Tombal ve ark, 2016).

Bor genellikle doğada tek başına bulunmayıp, başka elementlerle bileşikler halinde bulunur ve içerdikleri B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> içeriğine göre tanımlanır (Yenmez, 2010). Hem bu



sebepten hemde elemental bor temininin zor olmasından dolayı borla ilgili yapılan bilimsel çalışmalarda ve bor kullanılarak üretilen ürünlerde bor bileşikleri kullanılmaktadır. Bor bileşikleri; görüş sistemleri, ilaç ve kozmetik, iletişim araçları, inşaat, kağıt, koruyucu malzeme, makine, metalurjik ürün, otomobil, seramik, savunma, cam, enerji, elektronik ve bilgisayar, spor malzemeleri, tarım, tekstil, nükleer, uzay ve havacılık gibi endüstrinin birçok alanında kullanılmaktadırlar (Mengi, 2005). Ayrıca tıp endüstrisinde; yapay organlarda, göz iltihaplanmalarında sterilizasyon gereci olarak Bazı merhemlerin yapımında, antibiyotiklerde, osteoporoz tedavilerinde, alerjik hastalıklarda, psikiyatride, kemik gelişiminde ve artrit, menopoz tedavisinde, bor nötron yakalama terapi yöntemiyle beyin kanserlerinin tedavisinde tümör öldürücü olarak, manyetik rezonans görüntüleme cihazlarında kullanılmaktadırlar (TMMOB, 2003). 230'dan fazla bor bileşiği bilinmektedir. Ancak bilimsel çalışmalarda ve endüstride en çok boraks kullanılmaktadır. Tinkal olarak da isimlendirilen ve sodyum tetraborat dekahidrat bileşiminde olan boraks, en çok ticari değere sahip olan ve memelilerin gerek ağız yoluyla gerek solunumla en çok maruz kaldığı bor türüdür. Boraks, tabiatta renksiz ve saydam olarak bulunur. Kristal sistemi monoklin, sertliği 2- 2.5, özgül ağırlığı 1.7 gr/cm<sup>3</sup> B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> içeriği % 36.6'dır. Evaporasyonun yüksek olduğu kurak-yarıkurak bölgelerdeki tuzlu göllerde oluşur. Boraks suyunu kaybedip Tinkalkonit'e dönüşebilir. Suda kolay çözünür. Ülkemizde en çok Eskişehir/Kırka yataklarında üretilir (Güyağüler, 2001; Yiğitbaşıoğlu, 2004).

Boraks insan vücuduna yiyecek ve içeceklerle ağız yoluyla, tozlarla solunum, krem ve ilaçlarla deri yoluyla girmektedir ve kemik, tırnak ve kıllarla, karaciğer ve dalak gibi organlarda birikmektedir (Şaylı, 2000). Boraksın memelilerdeki toksik etkisi çok düşüktür (Moseman, 1994; Eti Maden İşletmeleri Genel Müdürlüğü, 2012). Ancak eklem bacaklı böcekler için çok toksiktir (Kabu ve ark, 2015). Az miktarda boraks birçok bitkinin büyümesi için gereklidir ve hayvan ve canlı beslenmesinde muhakkak gerekli bir mikro besin elementidir. Dünya Sağlık Örgütü yetişkin sağlıklı bir insanın beslenme yoluyla 1-13 mg boraks alabileceğini kararlaştırmıştır. Meyveler ve sebzeler boraksın başlıca kaynaklarıdır. Özellikle yeşil yapraklı sebzelerde boraks miktarı daha fazladır (Demirtaş, 2010). Boraksın insan vücudu için çok yararlı etkileri tespit edilmiştir. Vücut minerallerinin düzenlenmesinde, kemik yapısının

korunmasında, beyin fonksiyonlarının ve zihinsel performansın etkilerinin artmasında, prostat kanserinin önlenmesinde ve tedavisinde etkilidir (Müezzinoğlu ve ark, 2011). Saylı ve arkadaşları Türkiye’de özellikle çevresel ve mesleki açıdan boraksa maruz kalınan bölgelerde yaptıkları çalışmalarla boraksın doğurganlık ve üreme üzerine etkisi olup olmadığını araştırmışlardır ve çalışma sonucundan yola çıkılarak boraksın doğurganlık ve üreme üzerine herhangi bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır (Sayli, 1998). Kabu ve arkadaşları ise, boraks kullanarak boraksın ratlarda farklı dozlarda ve farklı organlardaki histolojik etkilerini göstermişlerdir. Düşük dozlardaki boraksın böbrek, bağırsak, karaciğer ve mide de histolojik değişiklik göstermediği görülmüştür. Tek seferde çok yüksek doz verilen boraksın yüksek ödem, inflamatuvar hücre göçü, neovaskülerizasyon ve birkaç ölüme neden olduğunu, uzun süreli yüksek dozlarda boraks alımının ise ani ölümlere sebep olduğunu ortaya koymuşlardır (Kabu ve ark, 2015). Bu nedenle borla ilgili araştırmalarda bor türleri, dozları ve kaynakları dikkatle seçilmelidir.

## 2.MATERYAL VE METOT

Bu çalışma Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı ve Biyokimya Ana Bilim Dalı Laboratuarlarında gerçekleştirilmiştir.

### 2.1.Etik Kurul

Çalışmamız kapsamında öncelikle Afyon Kocatepe Üniversitesi İnsan Etik Kurulu'ndan (AKÜİEK) etik çalışma onayı (03.02.2017/2017/2-44) alındı.

### 2.2.Deney Grupları

Çalışmamızda kontrol grubu ile beraber toplamda 5 grup oluşturuldu.

**Kontrol Grubu:** BEP tedavisi uygulanan hücreler  
Cisplatin (2 $\mu$ M)+Etoposid (2,5 $\mu$ M)+Bleomisin (5 $\mu$ M).

**Grup 1:** BEP tedavisi uygulanan hücreler  
Cisplatin (2 $\mu$ M)+Etoposid (2,5 $\mu$ M)+Bleomisin (5 $\mu$ M)+ Boraks (0,5  $\mu$ g/ml).

**Grup 2:** BEP tedavisi uygulanan hücreler  
Cisplatin (2 $\mu$ M)+Etoposid (2,5 $\mu$ M)+Bleomisin (5 $\mu$ M)+ Boraks (1  $\mu$ g/ml).

**Grup 3:** BEP tedavisi uygulanan hücreler  
Cisplatin (2 $\mu$ M)+Etoposid (2,5 $\mu$ M)+Bleomisin (5 $\mu$ M)+ Boraks (5  $\mu$ g/ml).

**Grup 4:** BEP tedavisi uygulanan hücreler  
Cisplatin (2 $\mu$ M)+Etoposid (2,5 $\mu$ M)+Bleomisin (5 $\mu$ M)+ Boraks (10  $\mu$ g/ml).

### 2.3.Materyal

Bu çalışmada Alman Mikroorganizmalar ve Hücre Kültürleri Koleksiyonu (Leibniz-Institut DSMZ - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH) hücre bankasından temin edilen germ hücreli insan testis tümörü olan 1618-K (ACC752 ) hücre soyu kullanıldı.

### **2.3.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler**

1. PBS, Sigma (USA)
2. Sisplatin, Sigma (USA)
3. Etoposid, Sigma (USA)
4. Bleomisin, Sigma (USA)
5. Metanol, Merck (Almanya)
6. Pap-Pen, PatoLab (Japonya)
7. Tween 20, Merck (Almanya)
8. RPMI 1640, Capricorn (Almanya)
9. Boraks, Boren Enstitüsü (Türkiye)
10. Hidrojen Peroksit, Merck (Almanya)
11. Mayer's Hematoksilen, Thermo (USA)
12. Volume UltrAb Diluent, Thermo (USA)
13. Fetal Bovine Serum, Capricorn (Almanya)
14. Su Bazlı Kapatma Solüsyonu, Thermo (USA)
15. Large Volume HRP Polymer Kit, Thermo (USA)
16. Large Volume AEC Substrate System, Thermo (USA)
17. Primer Antikorlar; Casp-3 (ab4051), Abcam (UK); Bax (sc-526), Bcl-2 (sc-7382), VEGF (sc-7269), Santa Cruz Biotechnology (USA)

### **2.4.Metot**

#### **2.4.1. BEP Hücre Kültür Dozu Belirlenmesi**

Çalışmamızda Human Germ Cell Tumor Line (HGCT) hücre hattı üzerinde uygulanacak BEP üçlü kür ilacının ve Bor bileşiklerinden olan Boraksın doz miktarları MTT sonucuna göre belirlendi. Daha önce yaptığımız literatür taramalarında BEP kombinasyonunun kullanıldığı sadece bir in vitro çalışmaya rastladığımız için öncelikle bu doz BEP kombinasyonu uygulanmak suretiyle kültürde yer alan hücrelerin viabiliteleri belirlendi. Burada verilen 40 µM sisplatin, 50 µM etoposide ve 100 µM bleomisin kombinasyonu uygulandığında hücrelerin tamamına yakını öldüğü için dozun azaltılmasına karar verildi. Buna bağlı olarak 4 farklı grup oluşturuldu. Gruplar sırasıyla;

1.Sisplatin 20 µM + Etoposide 25µM+ Bleomisin 50 µM

2.Sisplatin 10  $\mu$ M + Etoposide 12 $\mu$ M+ Bleomisin 25  $\mu$ M

3.Sisplatin4 $\mu$ M + Etoposide 5 $\mu$ M+ Bleomisin 10  $\mu$ M

4.Sisplatin 2  $\mu$ M + Etoposide 2,5  $\mu$ M+ Bleomisin 5  $\mu$ M

Her bir grup BEP dozu kültüre edilmiş hücelere uygulanarak hücelerin yarısını öldüren doz belirlendi. Buna göre; Sisplatin 2  $\mu$ M + Etoposide 2,5  $\mu$ M+ Bleomisin 5  $\mu$ M dozunda MTT sonucuna göre %51 viabilite belirlendiği için bu dozun çalışmada temel BEP dozu olmasına karar verildi. Bu sürede dozlar öncelikle ampirik olarak belirlendi sonra elde edilen MTT sonuçlarına göre doz kesinleştirildikten sonra bu dozla birlikte farklı konsantrasyonlarda boraks uygulanarak MTT lmleri yapıldı ve viabiliteler hesaplandı. Deney grupları bu sonuçlar göz önüne alınarak oluşturuldu.

#### **2.4.2.Hücre Kültürü**

Hücreler %20 FBS (Fetal Bovine Serum) ve %80 RPMI 1640 (SİGMA) içeren kültür kaplarında 37°C, %5 CO<sub>2</sub> ve %95 hava içeren inkübatörde inkübe edildi. Hücreleri çoğaltmak amacıyla yaklaşık cm karede 4x10<sup>4</sup> hücre yoğunluğu olacak şekilde 75 cm<sup>2</sup>'lik flasklara 3x10<sup>6</sup> hücre 20 ml besi yeri içeren kültür kabına (150-mm flask) konarak 2 gün süreyle inkübasyona bırakıldı. Süspansiyon steril kapaklı tüplere aktarılarak 400xg ve 4°C'de 5 dakika santrifüj edilerek hücre peleti elde edildi. Bu peletten 2x10<sup>4</sup> hücre/ml de olacak şekilde hazırlanan hücre süspansiyonundan 100  $\mu$ l alınıp 96 kuyulu hücre kültürü kaplarının her kuyucuğuna aktarılarak MTT hücre viabilite testi uygulandı. Aynı peletin bir kısmı 1 cc besi yeri ile tekrar süspanse edildikten sonra immunositokimyasal boyama yapıldı.

#### **2.4.3.MTT Testi**

MTT (3- [4, 5-dimethylthiazol- 2- yl]- 2, 5 diphenyltetrazolium bromide), hücre proliferasyon ve canlılık testidir. Bu testte hücre çoğalması ve canlılığı in vitro ortamda hassas bir şekilde belirleme amaçlanır. Hücreler düz zeminli 96 kuyucuklu hücre kültürü plakalarında üretilir ve daha sonra tetrazolium bileşiği olan MTT hücreler üzerine eklenip inkübe edilerek MTT formazana indirgenir. İndirgenme yalnızca mitokondrial redüktaz enzimi varlığında gerekleşiği için formazanın

oluşum miktarı ile canlı hücre sayısı doğru orantılıdır. Daha sonra deterjan solüsyonu ortama eklenerek formazan kristallerinin çözünmesi sağlanır. Sonuç spektrofotometrik olarak okunur (Kısmalı ve Sel, 2012).  $2 \times 10^4$  hücre/ml de olacak şekilde hazırlanan hücre süspansiyonundan 100 µl kadar alınıp 96 kuyulu hücre kültürü kaplarının her kuyucuğuna aktarıldı. Boraks ile değişik dozlarda 37°C’ de inkübasyon sonrası her bir kuyucuğa 20 µl MTT boyası (5 mg/ml) ilave edildi ve hücreler 37 °C’ de 2 saat daha inkübe edildi. Bu süre sonunda hücrelerden MTT boyası uzaklaştırılıp ve her bir kuyuya 200 µl DMSO eklenerek 10 dakika inkübe edildi. Renk değişimi, mikroplyet okuyucuda 540 nm dalga boyu ile belirlendi. Bileşen ile muamele edilmeyen kontrol hücre canlılığı % 100 olarak kabul edildi, deney hücrelerinin canlılık oranları % olarak ifade edildi (Denizot ve Lang, 1986).

#### **2.4.4.İmmünohistokimyasal Boyama**

- Biyokimya laboratuvarından kriyovial içinde  $1 \times 10^6$  ml hücre alındı.
- Öncelikle polilizinli lamlara hidrofobik kalem olan PAP-PEN hücrelerin içine damlatılacağı kuyucuklar çizildi.
- Sonra her bir kuyucuğa 10 µl olacak şekilde kültüre edilmiş germ hücreli insan testis tümör hücreleri damlatıldı.
- 20 dakika hücrelerin lama yapışması için kurumaya bırakıldı.
- Hücre membranını açmak, hücredeki artıkları gidermek ve hücre membranını açmak amacıyla kuyucuklara PBS ile hazırlanan %0,2’lik Tween 20’yi damlatılarak 20 dakika inkübe edildi.
- Lamlar iki kere 3’er dakika olacak şekilde PBS ile yıkandı.
- Endojen peroksidaz varlığını gidermek için %3’lük Metanol ve Hidrojen peroksitte 6 dakika bekletildi.
- Lamlar iki kere 3’er dakika olacak şekilde PBS ile yıkandı.
- Hücreler primer antikor damlatılarak 90 dakika oda ısısında inkübe edildi. (Bax, Bcl-2, VEGF, kaspaz-3 (1:50) primer antikorları kullanıldı)
- İnkübasyon sonrası lamlar PBS ile yıkandı.

- Primer Antibody Enhancer damlatıldı ve 10 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- PBS ile yıkandı.
- HRP Polymer damlatıldı ve 15 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- PBS ile yıkandı.
- Renklendirme işlemi için AEC solüsyonu damlatılarak 7 dakika bekletildi.
- PBS ile iki kere yıkandı.
- Mayers Hematoksilen'de 45 saniye bekletilerek zıt boyama yapıldı.
- Lamlar distile su (dH<sub>2</sub>O) ile iyice yıkanarak su bazlı kapatma solüsyonu ile kapatıldı.

### **2.5.Preparatların Değerlendirilmesi ve Görüntü Analizi**

Immunositokimyasal boyamaların mikroskop altındaki değerlendirmesinde her grupta her parametre için 1200 hücre sayılacak şekilde immunopozitif ve immunonegatif hücreler sayıldı. Toplamda 40 preparatta 24,000 hücre sayıldı. Tüm sayım x40 objektif büyütmede yapıldı ve elde edilen rakamlar istatistiksel değerlendirme için kullanıldı. Tüm görüntü analizi süreçlerinde Nikon NIS 4.2 Image Analysis Software kullanıldı.

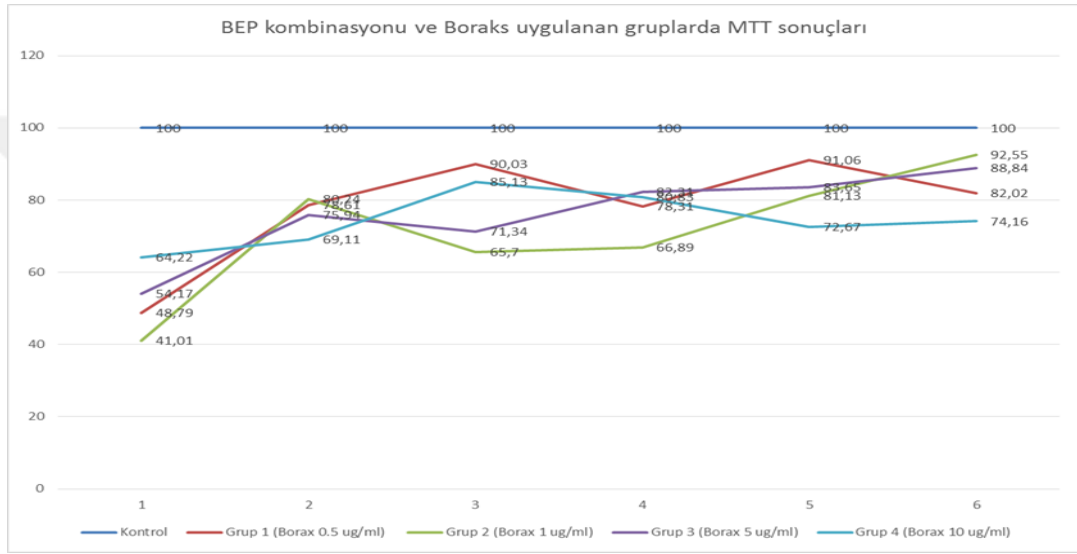
### **2.6.İstatistiksel Analiz**

Çalışmadan elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SPSS 20.0 paket programı kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için  $p=0.05$  değeri kullanıldı. Gruplar arası elde edilen verilerin değerlendirilmesinde Kruskal Wallis (H Testi) testinden yararlanıldı. Test sonucunda gruplar arası farklılık tespit edilemediğinden çoklu karşılaştırma testlerine gerek duyulmadı. Elde edilen verilerden grafik oluşturmak için Microsoft Office 2010 Excel programı kullanıldı.

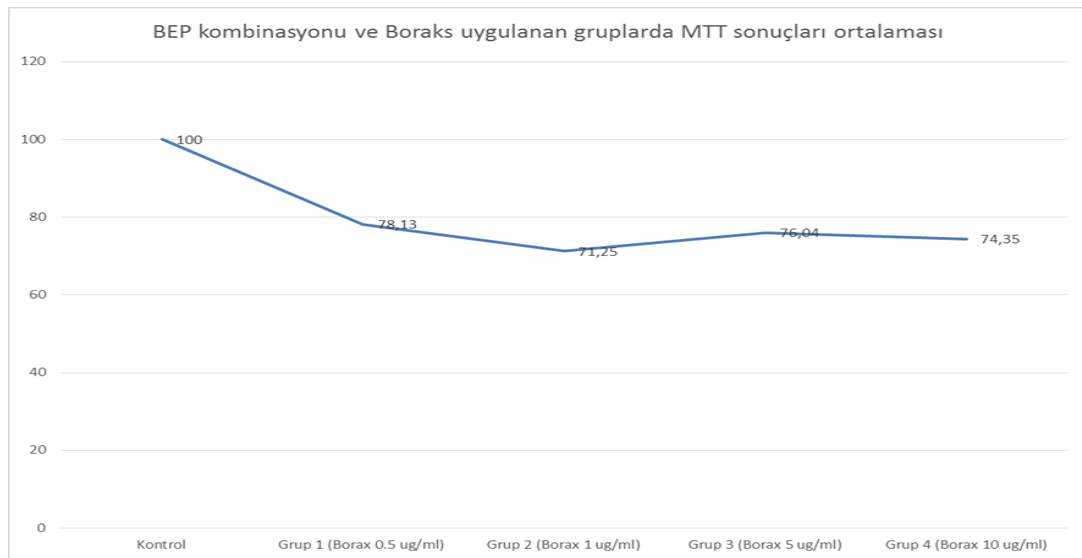
### 3. BULGULAR

#### 3.1.MTT Sonuçları

Çalışmamızda kullanılan germ hücreli testis tümörü hücre hattı kültürüne uygulanan BEP tedavisi ve farklı konsantrasyonlarda boraksın MTT sonuçları elde edildi. Bu sonuçlara göre hücre canlılığının yalnızca BEP tedavisi uygulanan kontrol grubunda en üst seviyede olduğu görülürken farklı dozlarda boraks uygulanan gruplarda ise farklılıklar görülmektedir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. BEP kombinasyonu ve Boraks uygulanan gruplarda MTT sonuçları



Şekil 3.2. BEP kombinasyonu ve Boraks uygulanan gruplarda MTT sonuçlarının ortalaması



Farklılıkların ortalamaları alındığında 0,5 µg/ml boraks verilen Grup 1’de hücre canlılığı %78,13, 1 µg/ml boraks verilen Grup 2’de hücre canlılığı % 71,5, 5 µl boraks uygulanan Grup 3’te %76,04, 10 µg/ml boraks uygulanan Grup 4’ te ise %74,35 olarak belirlendi (Şekil 3.2).

### 3.2.İmmünotokimyasal Boyama Sonuçları

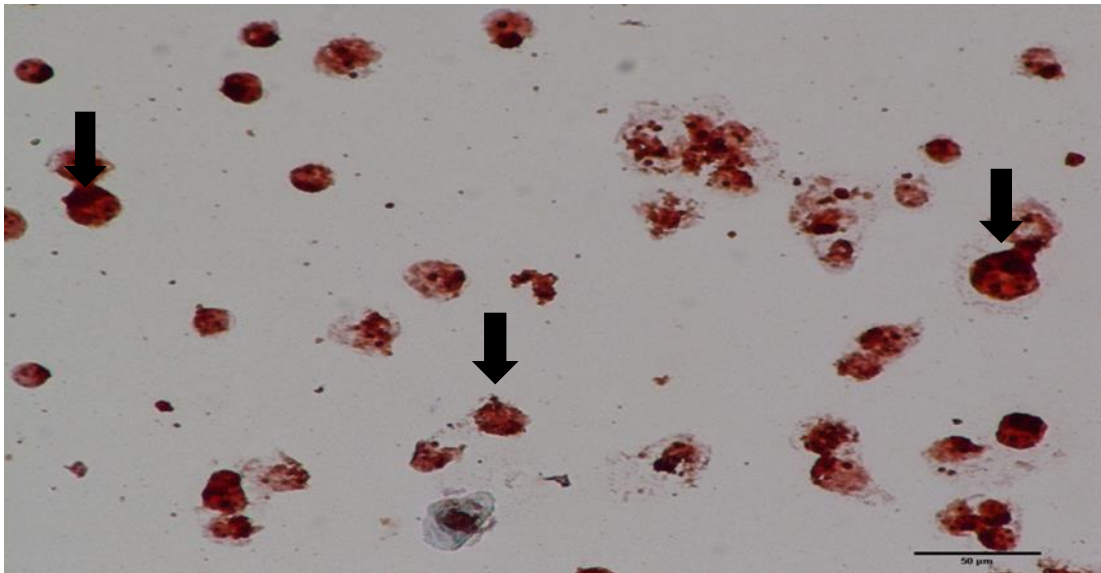
#### 3.2.1.Bax Ekspresyonu Değerlendirilmesi

Bax boyanmasının yüzdesi en çok Grup 2’de gözlenirken, boyanma yüzdesinin kontrol grubuna yakın olduğu tespit edildi. Aynı şekilde Grup 1 boyanma yüzdesi de kontrol grubuna yakın olarak tespit edildi ve bu gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. Grup 3 ve Grup 4’te ise istatistiksel olarak diğer gruplarla arasında bir farklılık bulunmamakla beraber boyanma yüzdelerinde azalma olduğu tespit edildi (p=0,186), (Şekil 3.3), (Resim 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5), (Tablo 3.1).

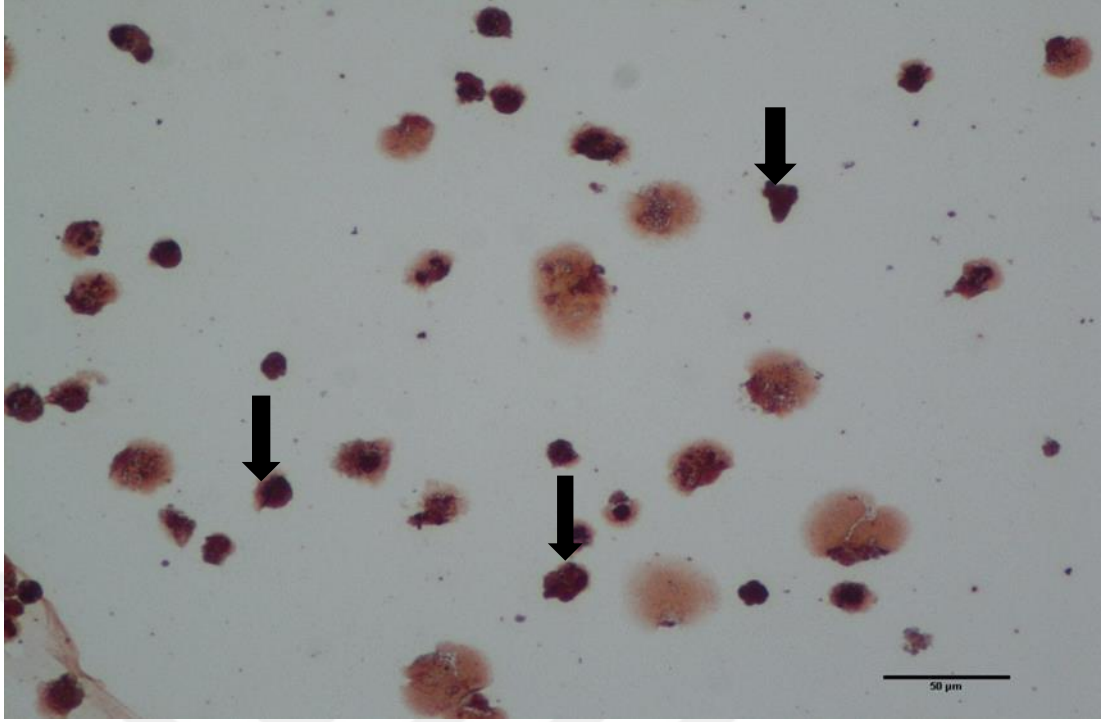
Hypothesis Test Summary				
	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of Bax is the same across categories of Groups.	Independent-Samples Kruskal-Wallis Test	.186	Retain the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is .05.

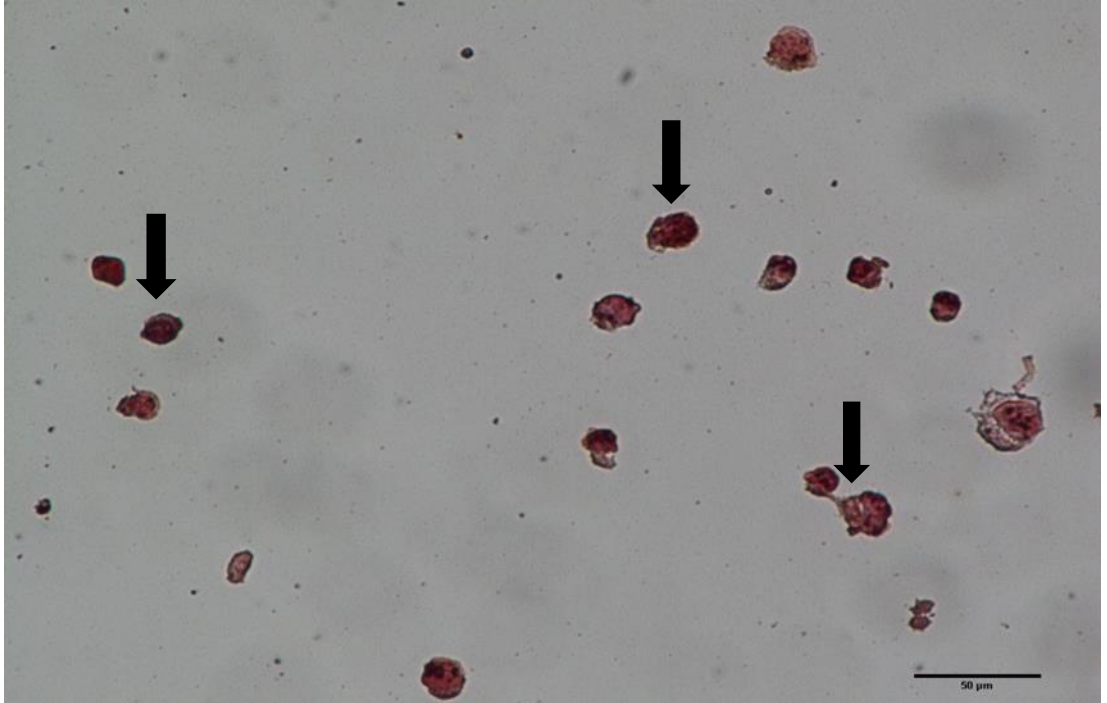
Şekil 1 İmmünotokimyasal parametre olan Bax’ın tüm gruplar arasındaki ‘p’ değeri



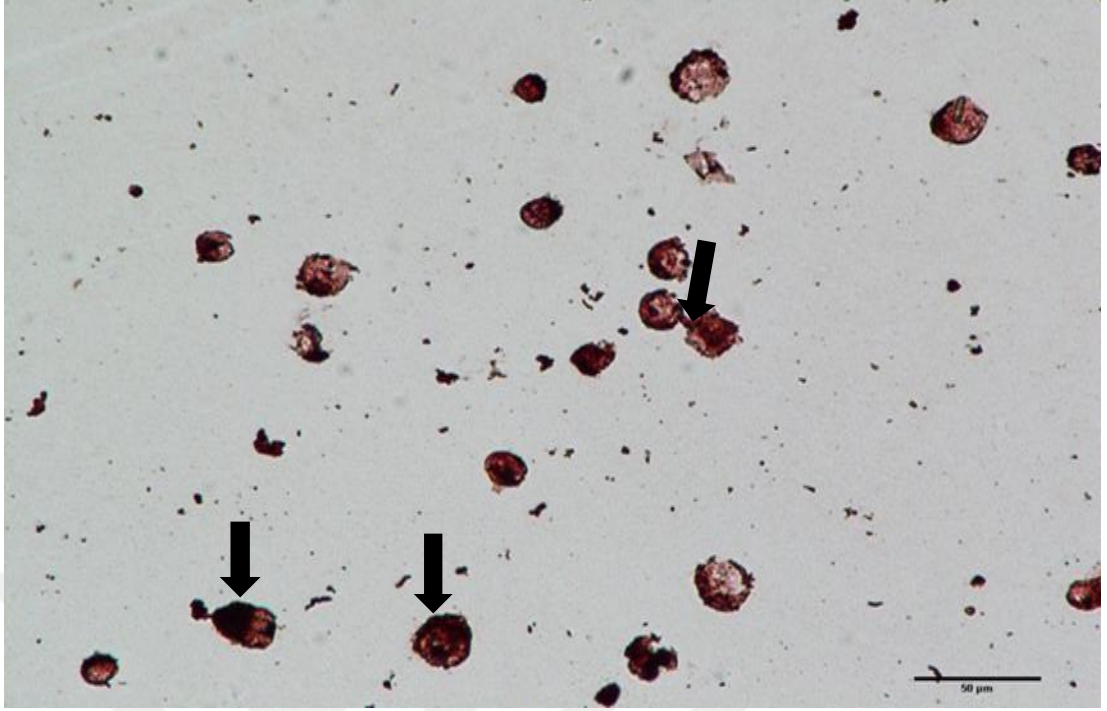
Resim 3.1. Kontrol grubunda Bax ekspresyonu. Bax primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20. (→ : immünotokimyasal hücreler)



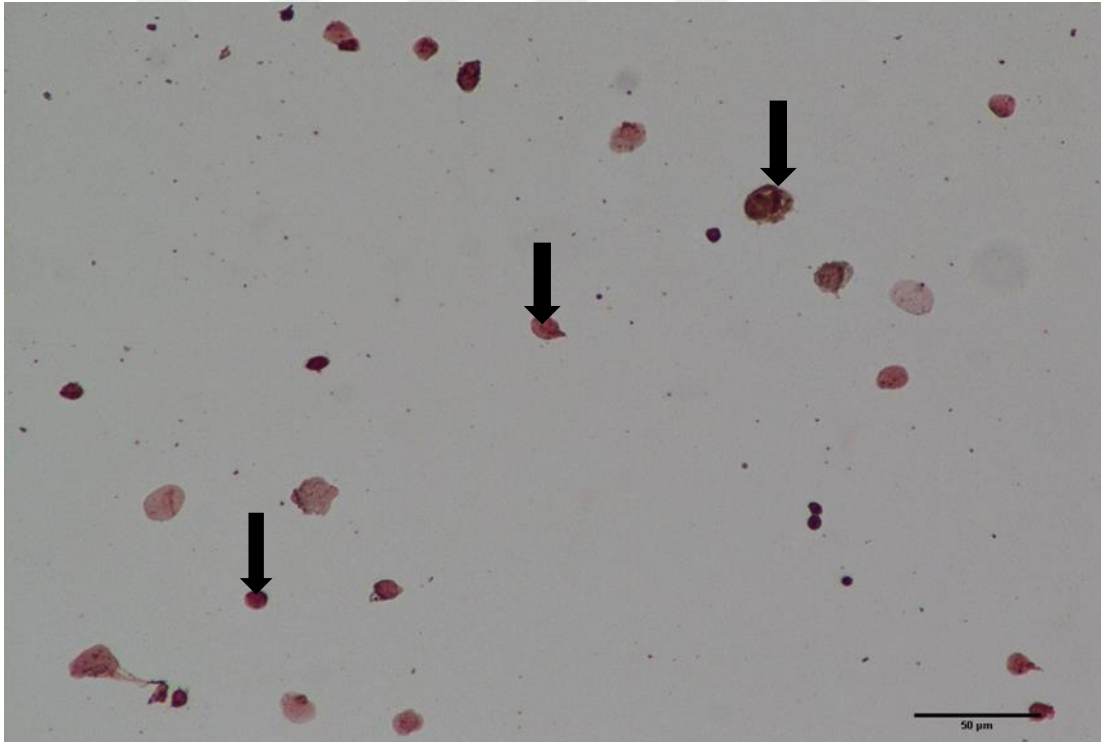
**Resim 3.2.** Grup 1'de Bax ekspresyonu. Bax primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20. (↔) :  
immünopozitif hücreler)



**Resim 3.3.** Grup 2'de bax ekspresyonu. Bax primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20. (↔) :  
immünopozitif hücreler)



**Resim 3.4.** Grup 3'te Bax ekspresyonu. Bax primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20. (➡) :  
immünopozitif hücreler)



**Resim 3.5.** Grup 4'te Bax ekspresyonu. Bax primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20. (➡) :  
immünopozitif hücreler)

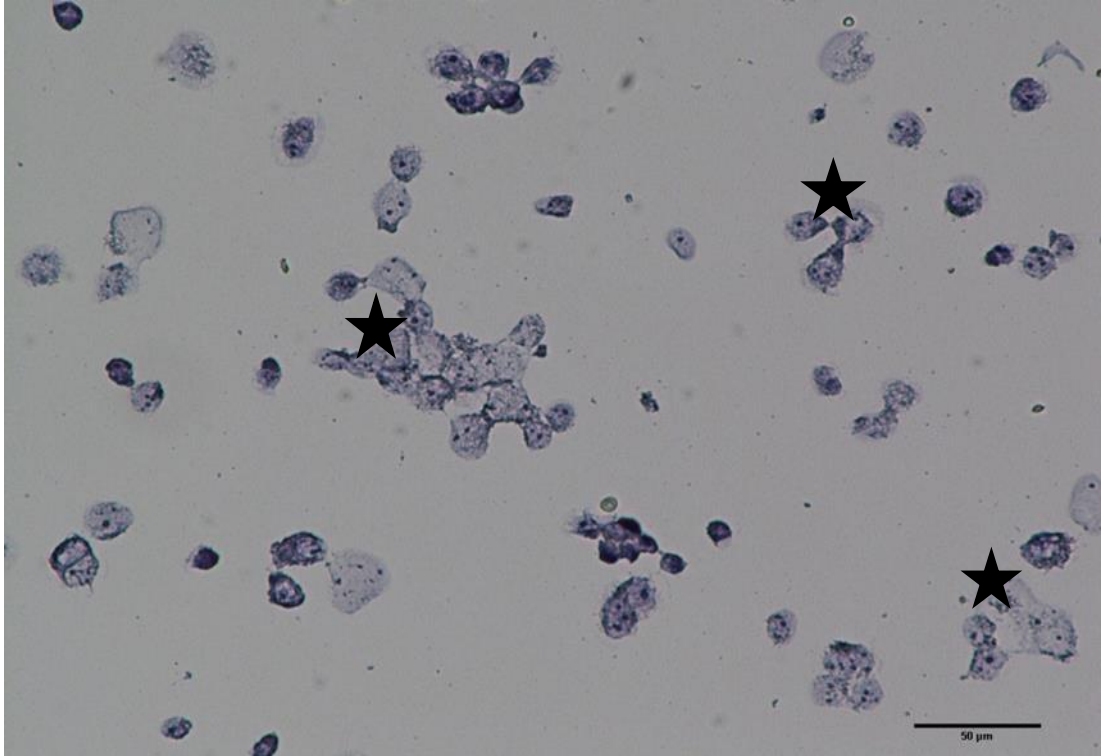
### 3.2.2.Bcl-2 Ekspresyonu Değerlendirilmesi

Bcl-2 boyanmalarına bakıldığında; Bcl-2 boyanma yüzdesi kontrol grubunda 0,1350 olarak tespit edildi. Grup 1 ve Grup 2’de Bcl-2 boyanma yüzdelерinin arttığı tespit edildi fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadı. Grup 4 boyanmaları kontrol grubuna yakın bir yüzdede bulundu. Grup 3’te ise boyanma yüzdesinde anlamlı fark oluşturmamakla birlikte bir azalma olduğu gözlemlendi ( $p=0,520$ ) (Şekil 3.4), (Resim 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 3.10), (Tablo 3.1).

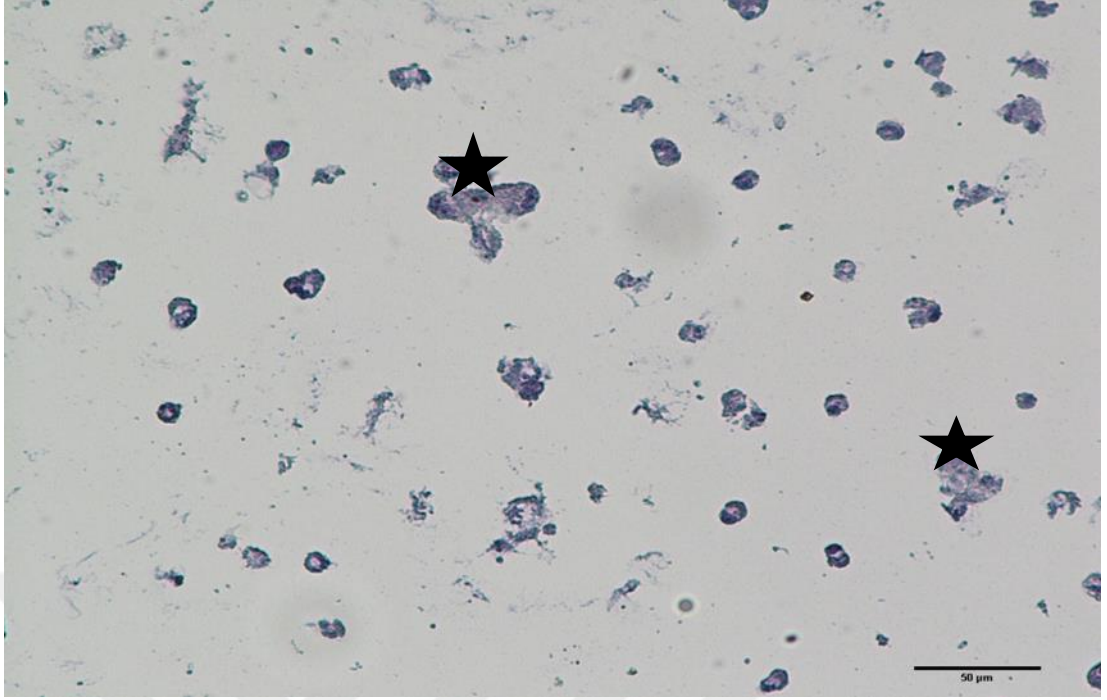
Hypothesis Test Summary				
	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of Bcl2 is the same across categories of Groups.	Independent-Samples Kruskal-Wallis Test	,520	Retain the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is ,05.

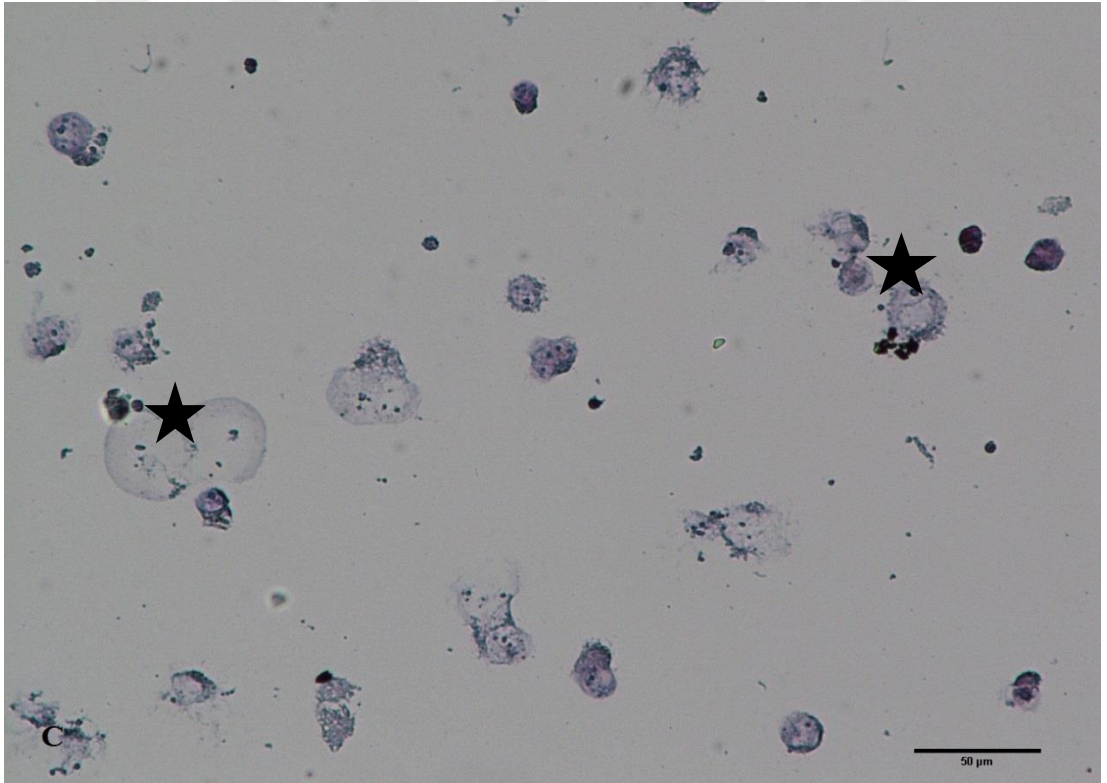
Şekil 3.4. İmmünotokimyasal parametre olan Bcl-2’nin tüm gruplar arasındaki ‘p’ değeri



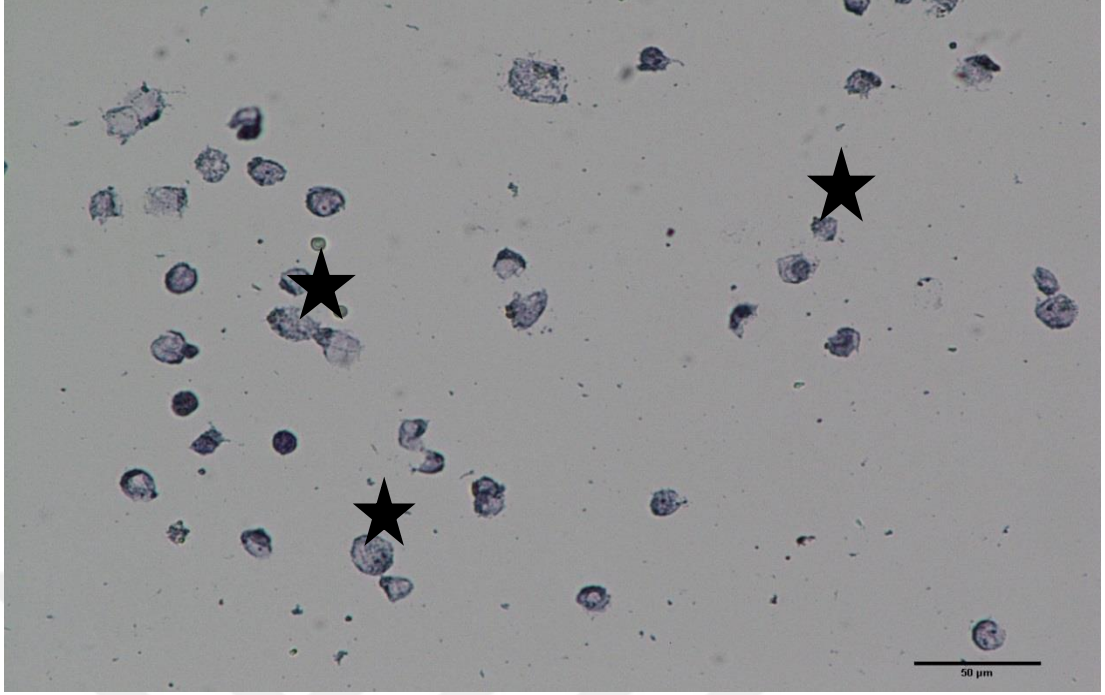
Resim 3.6. Kontrol grubunda Bcl-2 ekspresyonu. Bcl-2 primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20. (★ : immünonegatif hücreler)



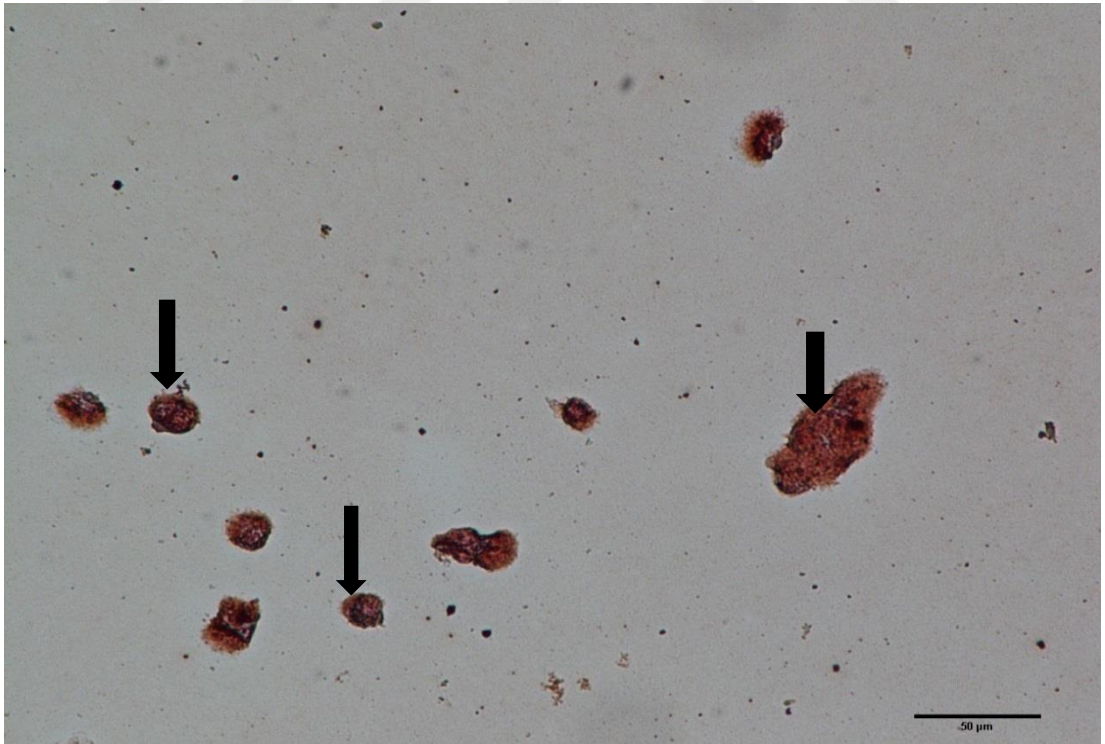
**Resim 3.7.** Grup 1'de Bcl-2 ekspresyonu. Bcl-2 primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20. (★ : immünonegatif hücreler)



**Resim 3.8.** Grup 2'de Bcl-2 ekspresyonu. Bcl-2 primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20. (★ : immünonegatif hücreler)



**Resim 3.9.** Grup 3'te Bcl-2 ekspresyonu. Bcl-2 primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20. (★ : immünonegatif hücreler)



**Resim 3.10.** Grup 4'te Bcl-2 ekspresyonu. Bcl-2 primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20. (➔ : immüno pozitif hücreler)

### 3.2.3.Caspase-3 Ekspresyonu Değerlendirilmesi

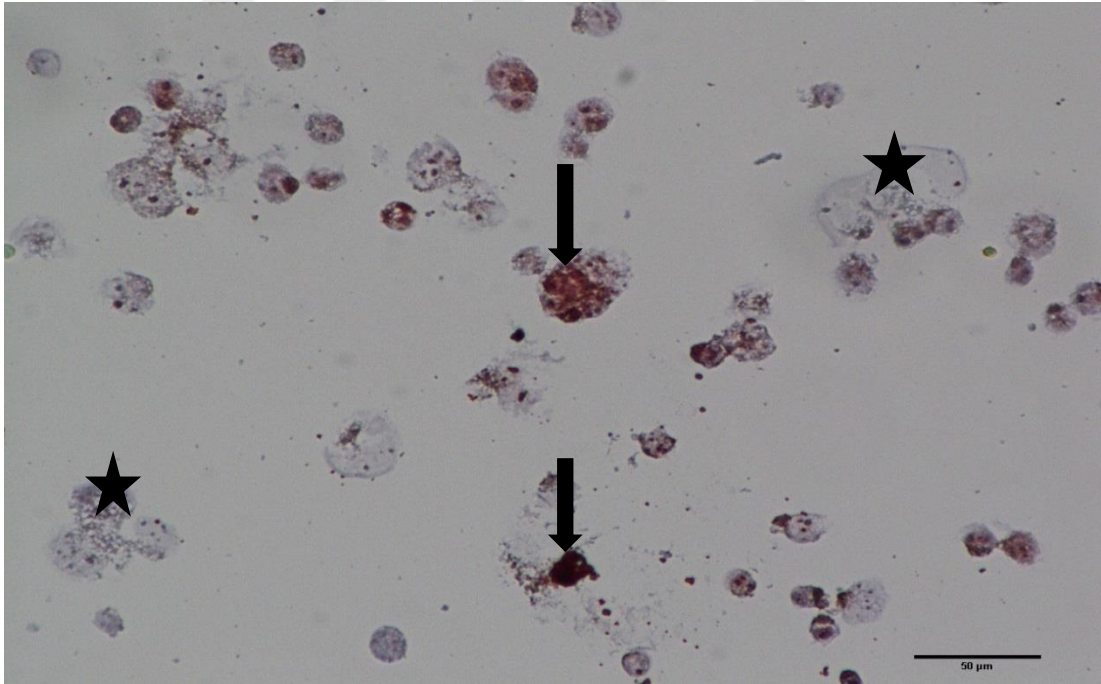
Kontrol grubunda boyanma yüzdesi 0,1875 bulundu. Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 boyanmalarında artış olduğu gözlenirken bu artış anlamlı değildi. Grup 4'te ise boyanma yüzdesinin düştüğü görüldü ( $p=0,119$ ), (Şekil 3.5), (Resim 3.11, 3.12, 3.13, 3.14, 3.15) (Tablo 3.1).

#### Hypothesis Test Summary

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of Caspase3 is the same across categories of Groups.	Independent-Samples Kruskal-Wallis Test	,119	Retain the null hypothesis.

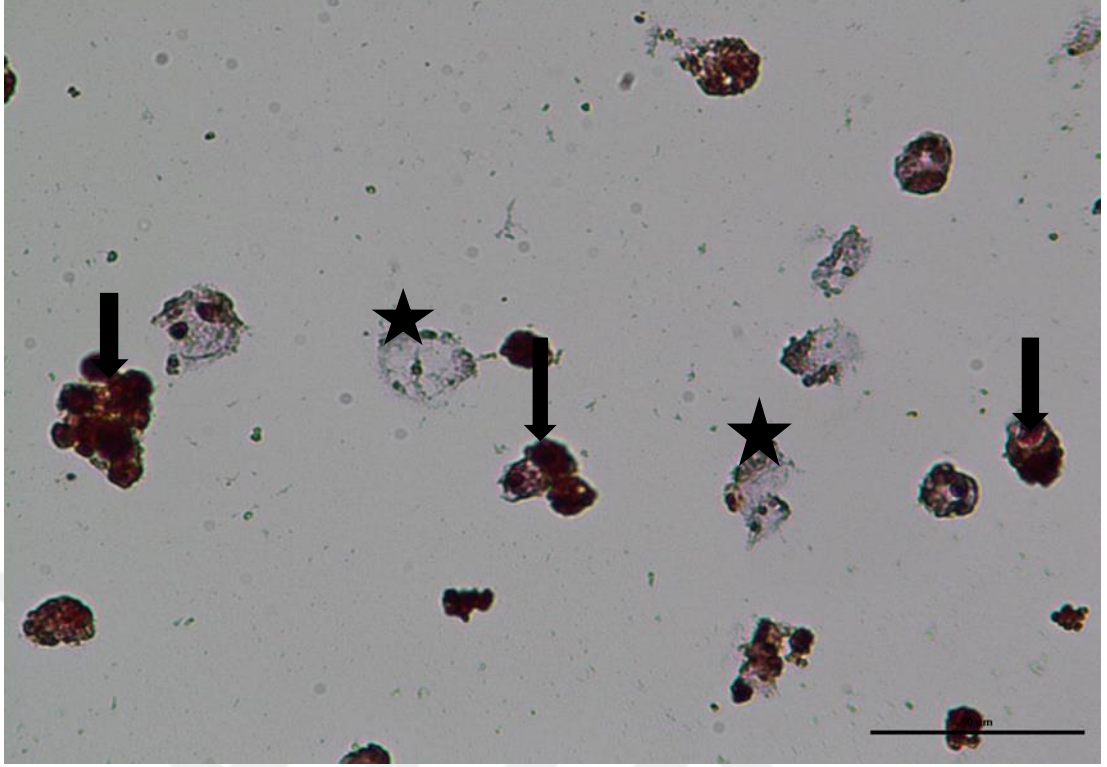
Asymptotic significances are displayed. The significance level is ,05.

Şekil 3.5. İmmünohistokimyasal parametre olan Caspase-3'ün tüm gruplar arasındaki 'p' değeri



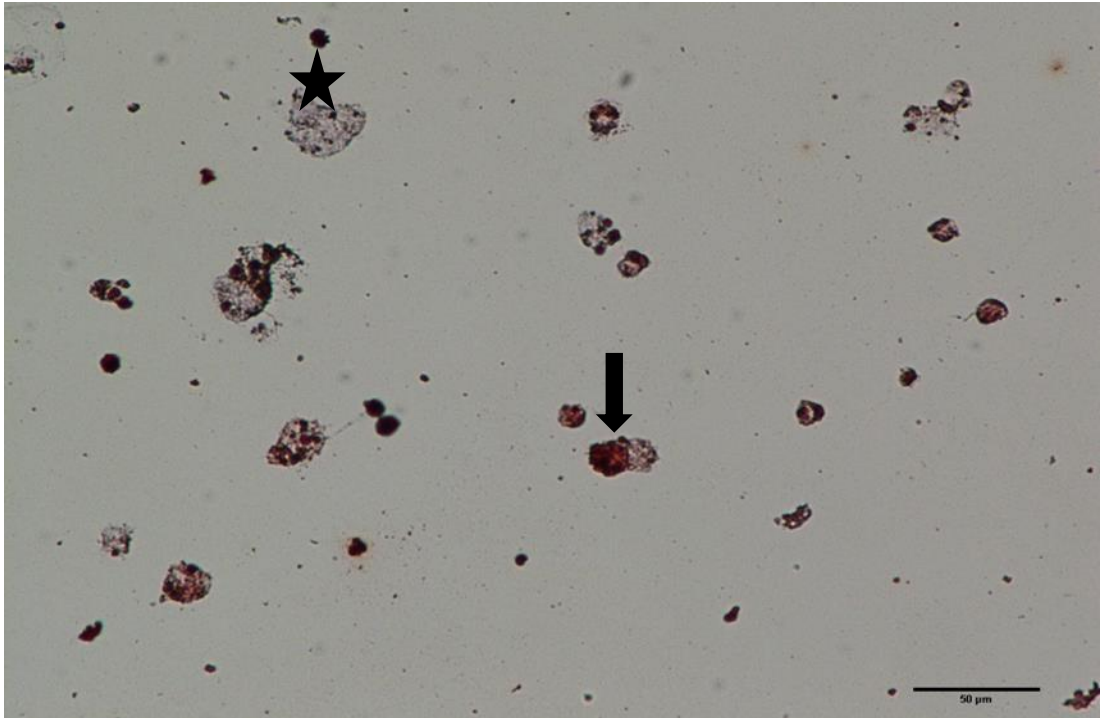
Resim 3.11. Kontrol grubunda Caspase-3 ekspresyonu. Caspase-3 primer antikor (Abcam) 1/50. X20.

(★ : immünonegatif hücreler; ➔ : immünopozitif hücreler)



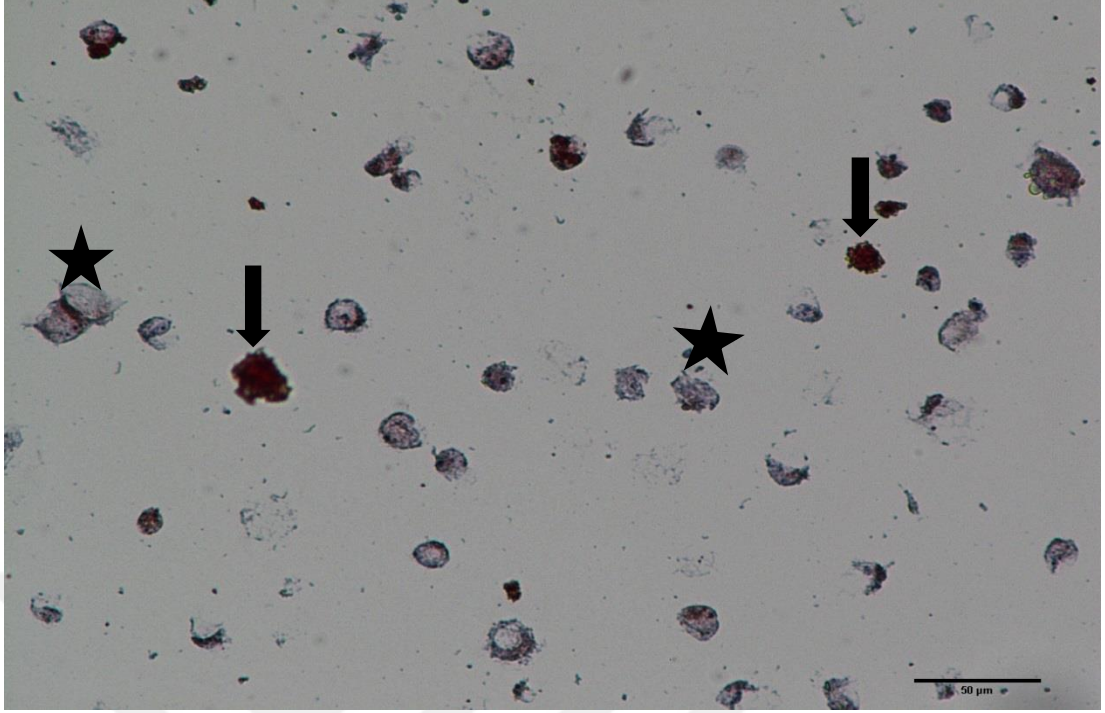
**Resim 3.12.** Grup 1'de Caspase-3 ekspresyonu. Caspase-3 primer antikor (Abcam) 1/50. X20.

( ★ : immünonegatif hücreler; ➔ : immüno pozitif hücreler)



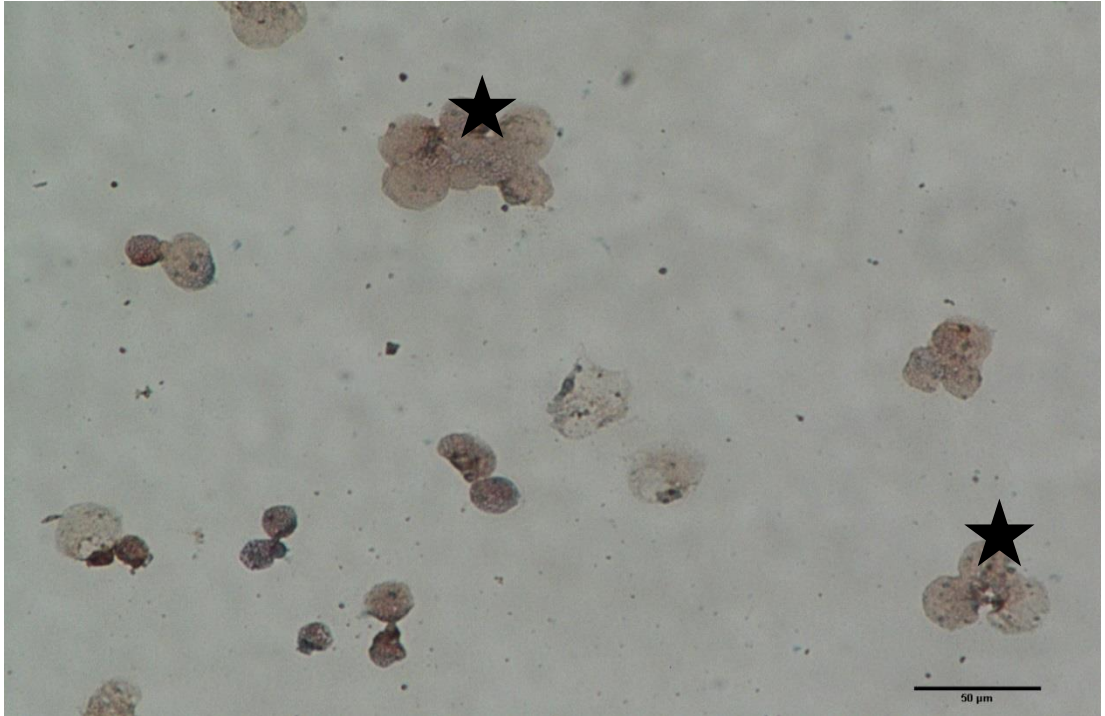
**Resim 3.13.** Grup 2'de Caspase-3 ekspresyonu. Caspase-3 primer antikor (Abcam) 1/50. X20. (★ : immünonegatif hücreler; ➔ : immüno pozitif hücreler)





**Resim 3.14.** Grup 3'te Caspase-3 ekspresyonu. Caspase-3 primer antikor (Abcam) 1/50. X20.

(★ : immünonegatif hücreler; ➔ : immünopozitif hücreler)



**Resim 3.15.** Grup 4'te Caspase-3 ekspresyonu. Caspase-3 primer antikor (Abcam) 1/50. X20.

(★ : immünonegatif hücreler)

### 3.2.4. VEGF Ekspresyonu Değerlendirilmesi

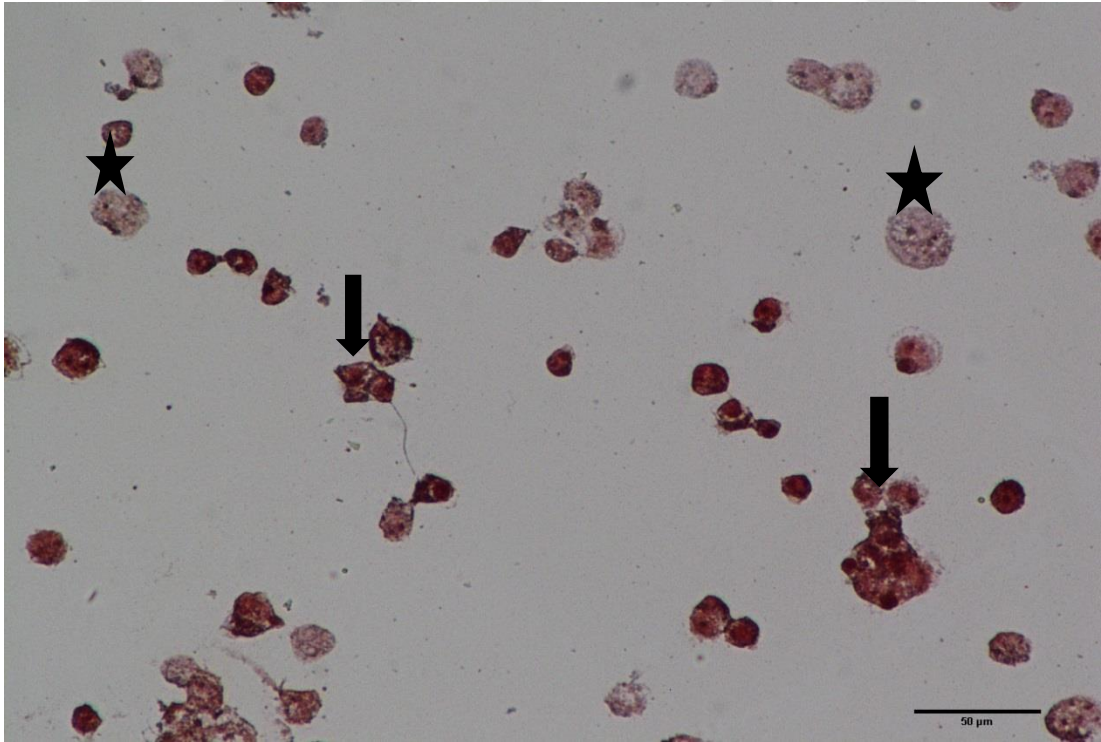
VEGF boyanması Grup 1’ de kontrol grubuna göre oldukça artış göstermekle birlikte, istatistiksel olarak farklılık görülmedi. Diğer gruplardan Grup 2 ve Grup 3 birbirlerine yakın yüzdelerde olup, Grup 4’te dahil olmak üzere bu grupların boyanmaları kontrol grubundan daha az olarak tespit edildi ( $p=0,432$ ), (Şekil 3.6) (Resim 3.16, 3.17, 3.18, 3.19, 3.20), (Tablo 3.1).

#### Hypothesis Test Summary

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of VEGF is the same across categories of Groups.	Independent-Samples Kruskal-Wallis Test	,432	Retain the null hypothesis.

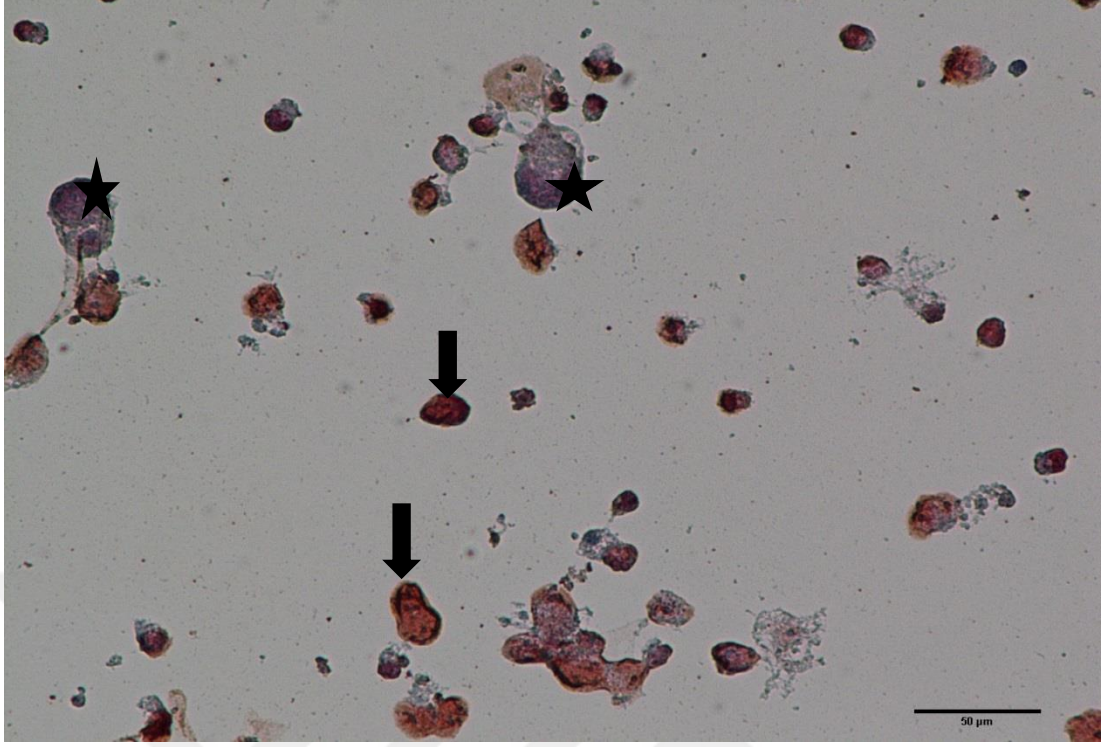
Asymptotic significances are displayed. The significance level is ,05.

Şekil 3.6. İmmünotokimyasal parametre olan VEGF’in tüm gruplar arasındaki ‘p’ değeri



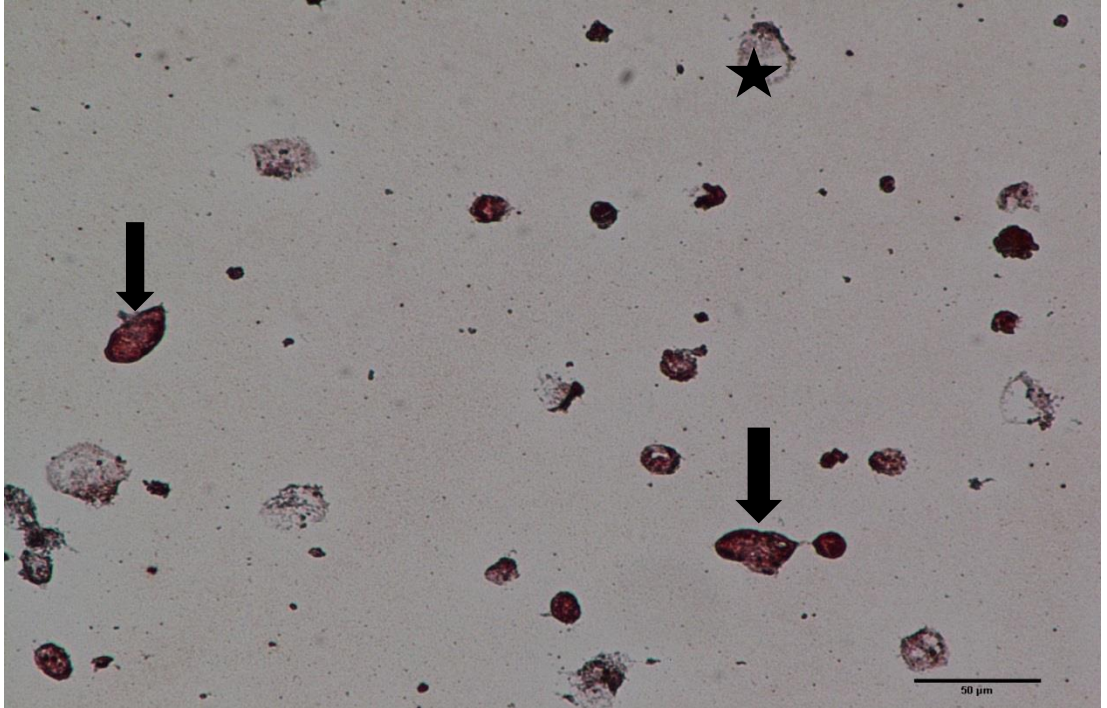
Resim 3.16.2 Kontrol grubunda VEGF ekspresyonu. VEGF primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.

(★ : immünonegatif hücreler; ➡ : immüno pozitif hücreler)



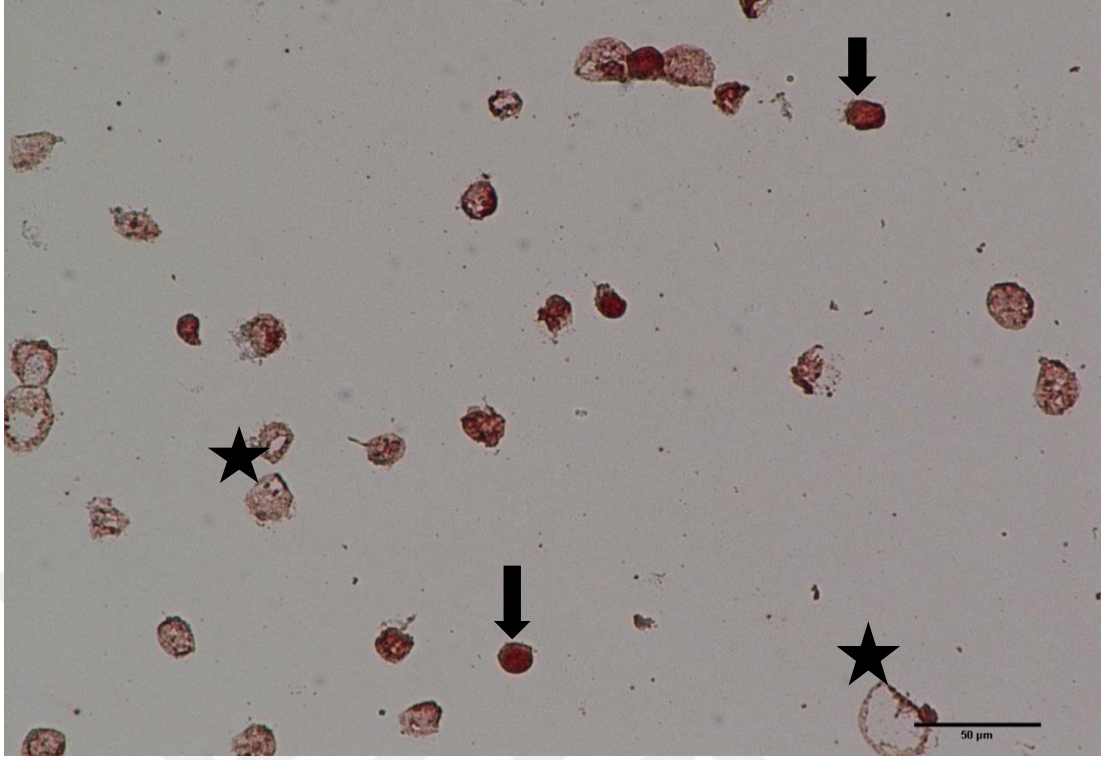
**Resim 3.17.3** Grup 1'de VEGF ekspresyonu. VEGF primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.

(★ : immünonegatif hücreler; ➡ : immünopozitif hücreler)



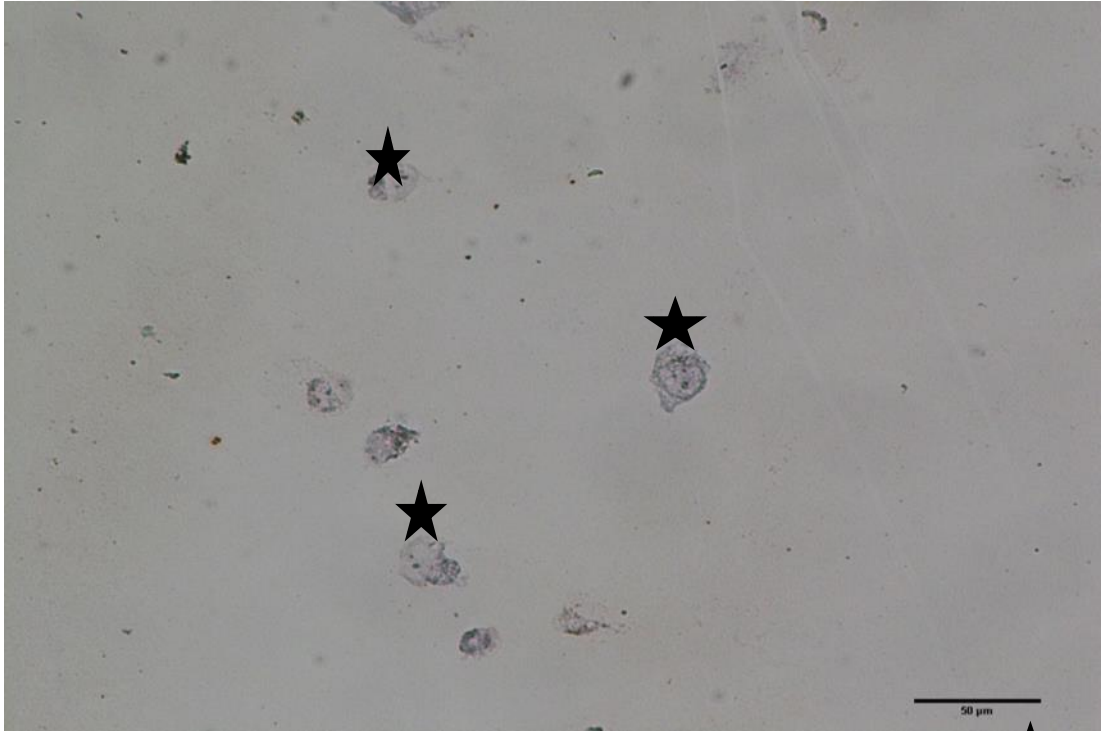
**Resim 3.18.** Grup 2'de VEGF ekspresyonu. VEGF primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.

(★ : immünonegatif hücreler; ➡ : immünopozitif hücreler)



**Resim 3.19.** Grup 3'te VEGF ekspresyonu. VEGF primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.

(★ : immünonegatif hücreler; ➔ : immünopozitif hücreler)



**Resim 3.20.4** Grup 4'te VEGF ekspresyonu. VEGF primer antikor (Santa Cruz) 1/50. X20.(★ : immünonegatif hücreler)

**Tablo 3.1.** İmmünotokimyasal parametrelerin gruplara göre ortalamaları

	<b>BOYANMA YÜZDESİ (BOYANAN/TOPLAM)</b>			
	<b>BAX</b> *(p>0,05)	<b>BCL-2</b> *(p>0,05)	<b>CASPAZ-3</b> *(p>0,05)	<b>VEGF</b> *(p>0,05)
<b>KONTROL</b>	0,45±0,61	0,13±0,42	0,18±0,39	0,26±0,10
<b>G1</b>	0,42±0,17	0,18±0,11	0,27±0,69	0,54±0,27
<b>G2</b>	0,46±0,53	0,22±0,18	0,23±0,10	0,23±0,45
<b>G3</b>	0,34±0,15	0,95±0,52	0,24±0,12	0,23±0,85
<b>G4</b>	0,27±0,96	0,14±0,94	0,13±0,46	0,27±0,11

Mean±Std. Deviation

\*İmmünotokimyasal parametrelerin p değerleri

## 4.TARTIŞMA

Testis tümörü erkek genital sistem tümörü olup erkeklerin yaşamı boyunca testis tümörüne yakalanma ihtimali %0,2 'dir. Testis tümörlerinin %90-95'i germinal dokudan kaynaklanmaktadır (Cihangiroğlu ve ark, 2008). Germ hücreli testis tümörleri tedavi edilebilir testis tümör modelidir. Tedavi şekli genellikle cerrahi yöntem olup risk faktörlerinin bulunması durumunda cerrahi yöntem ek radyoterapi ve kemoterapi tedavisi de eklenmektedir (Ünlüer ve Erkan, 2008).

Yapılan çalışmalar testis tümörlerinin sisplatine duyarlı olduğunu göstermektedir. Bu nedenle testis tümörlerinde kemoterapi tedavisi sisplatin bazlı olup, klinikte bleomisin ve etoposid ile birlikte kullanılmaktadır (Awuaha ve ark, 2016). Yapılan çalışmalar bu ajanların pek çok toksik etkisinin olduğunu göstermektedir. Sisplatin renal yetmezliğe, periferik nöropatiye, autotoksositeye; bleomisin akciğer toksisitesine neden olmaktadır. Daha ileri durumlarda ise akut lösemiye neden olduğu ileri sürülmektedir (Kayıkçı ve Çam, 2005).

Kemoterapi tedavisinin amacı tedavide kullanılan ajanların apoptotik yolları aktive ederek tümör hücrelerini öldürmesidir. Kemoterapi tedavisi testis tümörlerinde oldukça etkili olsa da yapılan çalışmalar bu yollardaki düzensizliklerin ilaca karşı direnç gelişmesine neden olduğunu ve bu durumun tedavinin etkinliğini azalttığını göstermiştir (Çetintaş ve Eroğlu, 2013). Çetintaş ve arkadaşları, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücre hattında yaptıkları çalışmada azalmış apoptotik aktivitenin sisplatin direncine neden olduğunu göstermişlerdir (Çetintaş ve ark, 2012).

Chresta ve arkadaşlarının 1996 yılında testis tümörü ve mesane tümörü hücre hattı kullanarak yapmış oldukları bir çalışmada, kemoterapi ajanı olarak etoposid kullanmışlardır. Etoposid tedavisinden sonra her iki hücre hattı için Bax ve Bcl-2 ekspresyonu değerlendirilmiştir. Sonuç olarak testis tümöründe Bax ekspresyonunun mesane tümörüne göre bariz bir şekilde yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Bcl-2 ekspresyonunun ise testis tümöründe oldukça düşük olduğu, mesane tümöründe ise

ekspresyonun değişmediği gözlemlenmiştir. Bu durumun testis kanser hücrelerinin etoposit tedavisine oldukça duyarlı olduklarını göstermektedir (Chresta ve ark, 1996).

Bizim alışmamızda da germ hücreli testis tümöründe Bax ekspresyonunun mevcut olduğu gözlenmiştir. Ancak Bcl-2 değerleri ile aralarında anlamlı farklılık olmadığı belirlenmiştir. Bax ekspresyonunun yüksek olması bize bu hücre hattında hücrelerin bax genininin proapoptotik etkisine bağlı hücre ölümünü uyardığı yönünde veri vermiş olsa da Bcl-2 ekspresyonu ile arasında anlamlı farkın olmaması bizi başka bir yolağın hücre ölümünün tetiklediği düşüncesine götürmektedir.

Son yıllarda bor bileşikleri, sağlıkta sıklıkla kullanılmaya başlanmış ve kemoterapötik ajan olarak daha fazla kabul edilir olmuş. Li ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada prostat kanseri hücre hattı kullanmışlardır. Çalışmada borik asit ve bor nitrür (BN) küreleri kullanılarak prostat kanseri hücre ölüm mekanizması değerlendirilmiş ve apoptozis göstergesi olarak Caspase-3/7 kullanılmıştır. Kaspazlar, zimojen (inaktif haberci) olarak sitoplazmada bulunan ve aktif merkezlerinde sistein yer aldığından, sistein proteazlar olarak adlandırılan bir grup enzimdir. Kaspazlar 100 farklı hedef proteini keserek apoptoza neden olurlar (Coşkun ve Özgür, 2011). Li ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada androjene duyarlı LNCap ve androjenden bağımsız DU-145 prostat kanseri hücre hatları BN kürelerin etkilerini değerlendirmek için kullanılmıştır. Daha sonra ise bu in vitro çalışmanın doğruluğunu kanıtlamak için BALB/c fareler ile BN kürelerin prostat kanseri üzerindeki etkilerini doğerulamak için in vivo çalışma yapılmıştır. Araştırmacılar hem borik asitin hemde BN kürelerinin, doza bağlı olarak hücre canlılığını azalttığını gözlemlemişlerdir. Ancak en yüksek caspaz-3/7 aktivitesi bor nitrür uygulanan hücrelerde gözlemlenmiştir. Yapılan in vivo çalışmada da in vitro çalışmaya benzer sonuç çıkmıştır. BN kürelerinin hücre canlılığını azalığını ve prostat kanseri hücre apoptozunu arttırdığını göstermiştir. Çalışma, BN kürelerinin prostat kanseri tedavisi için yeni bir ajan olarak işlev görebileceğini göstermektedir (Li ve ark, 2014).

Barranco ve Eckhert'de bor bileşiklerinden borik asidi kullanarak borun prostat kanserinde tedavi edici ve koruyucu etkilerini göstermek için çalışma yapmış ve bu çalışmada hem prostat kanseri hücre hattı hemde kanser dışı prostat hücre hattı kullanılmış ve borun doza bağımlı şekilde hücre proliferasyonunu etkilediğini göstermişlerdir. Bu çalışmada da apoptozis göstergesi olarak Caspase-3 kullanılmıştır. Çalışma sonucu borik asidin hücre proliferasyonunu etkilediğini, kaspaz-3 ekspresyonunu ve aktivitesini indüklediğini gösterilmiştir. Dahası, hücre proliferasyonunun önlenmesinin hücre ölümünün yokluğunda meydana geldiğini ortaya konmuştur. Bu sonuçlar, borik asidin, hücrede apoptozu indüklemek yerine hücre proliferasyonunu inhibe ederek büyümeyi azalttığı yorumunu desteklemektedir (Barranco ve Eckhert, 2004).

Çalışmamızda ise bir bor bileşiği olan ve günlük yaşamda çok yaygın olarak bulunan boraksın germ hücreli testis tümörü hücre hattına etkisi incelenmiştir. İn vitro ortamda yapılan bu çalışmada farklı dozlarda boraks BEP standart kombinasyonu ile birlikte uygulanmış ve hücrelerde hem viabilite hemde hücre ölüm belirteçlerinin bir kısmı olan Bax, Bcl-2 ve Caspase-3 ve ek olarak VEGF ekspresyonları değerlendirildi. Bax ekspresyonunun en belirgin 1 µg/ml boraks kullanılan grupta (Grup:2) gözlemlendi. Ancak kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık tespit edilemedi. Bax ekspresyonunun aynı zamanda 0,5 µg/ml boraks kullanılan grupta da (Grup:1) kontrol grubuna yakın olduğu görüldü. Bcl-2 ekspresyonu değerlendirildiğinde en çok 0,5 µg/ml ve 1 µg/ml boraks kullanılan gruplarda artış gözlemlendi ancak bu artışlar anlamlı düzeyde değildi. Kaspaz-3 ekspresyonu değerlendirilmesinde ise 0,5 µg/ml, 1 µg/ml ve 5 µg/ml boraks kullanılan gruplarda artış gösterdiği görüldü fakat bu artışlarda anlamlı değildi.

Anjiogenez, yeni damar yapımı anlamına gelmektedir ve kanser hücrelerinin büyümesinden, invazyonundan ve metastaz gelişiminden sorumlu tutulmaktadır. Başlangıçta çoğu tümör hücreleri damarsızdır ve çevredeki damarlardan difüzyonla beslenmektedir. Ancak tümör hücrelerinin çoğalmaları ve metastaz yapabilmeleri için anjiogenez gerekmektedir. Tümör dokusunda gerçekleşen anjiogenez patolojik anjiogenez olarak adlandırılmaktadır. Anjiogenik moleküller içinde en önemlisi



vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) dır. VEGF homodimerik, heparin-binding glikoprotein yapısında olup endotel hücrelerine özgü bir mitojendir. Anjiogenezin ana düzenleyicisidir (Atila ve ark, 2016). VEGF'ün özellikle pankreas kanseri, akciğer kanseri, melanom ve fibrosarkomlarda önemli olduğu bildirilmiştir.

Özdoğan ve arkadaşları meme karsinomunda VEGF ve nitrik oksit (NO) seviyelerinin lenf nodu durumu ve tümör büyüklüğü ile ilişkisini araştırmışlardır. Çalışmada meme kanserli 50 hastada ve 38 sağlıklı kontrolde serum VEGF ve NO seviyelerini ölçmüşlerdir. Çalışmada, meme kanserli hastalarda serum NO düzeyi yüksek olduğunu fakat bu yüksekliğin tümör çapı değişikliklerinden ve metastatik lenf nodu sayısından istatistiksel olarak etkilenmediği gösterilmiştir. Meme kanserli hastalarda serum VEGF seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Tümör çapı arttıkça serum VEGF seviyelerinde kademeli olarak artış görülmektedir. Bu bulgular ışığında meme kanserli hastalarda artmış olan serum VEGF seviyelerinin klinik tanıda bir tümör belirteci olarak ve ayrıca hastalık hakkında bilgi veren prognostik bir faktör olarak da kullanılabileceğini kabul edilmiştir (Özdoğan ve ark, 2016).

Çalışmamızda anjiogenik molekül olarak incelenmesi amacıyla VEGF kullanılmış olup diğer parametrelerdeki gibi testis tümör hücrelerinde BEP kemoterapisinin yanında artan dozlarda uygulanan boraksla ekspresyon düzeyi ilişkisine bakılmıştır. VEGF ekspresyonunun kontrol grubuna en yakın artış değerinin 0,5 µg/ml boraks kullanılan grupta (Grup 1) olduğu daha sonra ise ekspresyon düzeyinin düştüğü gösterilmiştir. Ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir. Bu bulgu bize düşük dozda boraksın VEGF ekspresyonun arttırması nedeniyle damar oluşturucu etkiyi uyardığını dolayısıyla invazyona katkı sağlayabileceğini ancak daha yüksek dozlarda VEGF ekspresyonunu baskılayarak anti invaziv bir etki oluşturabildiğini göstermektedir. Burada Grup:2,3 ve 4'te ekspresyon düzeyinin yatay bir seyir izlemesi doza bağımlı bir etki olmadığını düşündürmektedir.

## 5.SONUÇ

İnsan germ hücreli testis tümörü hücre hattında uygulanan BEP tedavisinde Borun etkinliğini araştırmak için yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz sonuçlara göre; BEP tedavisinde boraksın Bax, Bcl-2 ve Caspase-3 ekspresyonlarını anlamlı düzeyde etkilemediğini, aynı şekilde boraksın tümör oluşumunda etkili olan VEGF üzerinde de herhangi anlamlı bir etkisi olmadığını belirlemiş bulunmaktayız. Burada çalışmamızın in vitro olmasının getirebileceği limitasyonlar olmasına karşın 24000'den fazla hücre sayımı sonucu elde edilen verilerin boraksın HGCT hücre hattında yaptığı antitümör etkilerin doğru ve güvenilir şekilde olduğunu söylemek yanlış olmayacaktır. Bu bulgular ışığında boraks'ın HGCT tümörlü hastalarda tedavi etkinliğini arttırıcı yönde etkisinin olmadığını ancak bu çalışmanın in vivo çalışmalarla yapılacak çalışmalara ışık tutabilecek temel özellikte bir çalışma olduğunu ileri sürmekteyiz.

## ÖZET

### **İnsan Testiküler Germ Hücre Tümörlerinde Uygulanan Klasik BEP Tedavisinde Bor'un Tedaviyi Arttırıcı Etkinliğinin Araştırılması: İn Vitro Çalışma.**

Erkeklerin testis tümörüne yakalanma insidansı düşük olsa da son yıllarda bu oran artmaktadır. İnsan germ hücreli testis tümörlerinde (HGCT) uygulanan klasik BEP tedavisi her ne kadar etkin bir tedavi olsa da toksik etkileri nedeniyle önemli yan etkilere sahiptir. Çalışmamızda ülkemizde dünya rezervinin %70'inin bulunduğu ve birçok çalışmada olumlu tedavi edici veya destek sağlayıcı etkileri olduğu bilinen Bor elementinin BEP tedavisine yapabileceği olumlu veya olumsuz etkiyi belirleme amaçlanmıştır.

Deneysel çalışma 5 grup şeklinde HGCT hücre hattı kullanılarak yapıldı. Tüm gruplara BEP kemoterapisi uygulandı. Bir grup kontrol grubu olarak belirlendi. Onun dışında kalan dört gruba artan dozlarda boraks uygulandı. Kontrol grubu: BEP. Grup 1: BEP+0,5 µg/ml Boraks. Grup 2: BEP+1 µg/ml Boraks. Grup 3: BEP+5 µg/ml Boraks. Grup 4: BEP+10 µg/ml Boraks. Kültür ortamında MTT ile hücre viabilitesi ölçüldü. İmmünotokimyasal olarak da Bax, Bcl-2, Kaspaz-3 ve VEGF gibi parametreler bakıldı. İmmünotokimyasal boyamalar mikroskop altında değerlendirildi. Her grupta her parametre için immunopozitif ve immunonegatif hücreler sayıldı ve elde edilen rakamlar istatistiksel değerlendirme için kullanıldı.

İmmünotokimyasal parametreler tüm gruplarda kontrol grubuna yakın düzeylerde bulundu ve gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ( $p>0.05$ ). Yaptığımız çalışma boraksın Bax, Bcl-2, Kaspaz-3 ve VEGF ekspresyonları üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığını ancak geniş kapsamlı yapılan bu çalışmanın diğer çalışmalara ışık tutabileceğini ve in vivo çalışmalarla bulguların değerlendirilmesinin uygun olacağını göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Testiküler tümör, BEP, Bor, Germ hücre tümörü, Hücre kültürü

## SUMMARY

### **The Evaluation of the Favourable Effect of Boron on Classical BEP Treatment in Human Testicular Germ Cell Tumour: An In vitro study**

Although the incidence of testicular tumor is low in males, this rate has increased in recent years. Although classical BEP treatment in human germ cell testicular tumors (HGCT) is an effective treatment, it has significant side effects due to its toxic effects. In our study, it was aimed to determine the positive or negative effect of boron which is known to have positive therapeutic or supportive effects in the world.

The experimental study was performed using 5 groups of HGCT cell lines. All groups were treated with BEP chemotherapy. One group was determined as control group. Control group: BEP. Group 1: BEP + 0.5  $\mu\text{g}$  / ml Borax. Group 2: BEP + 1  $\mu\text{g}$  / ml Borax. Group 3: BEP + 5  $\mu\text{g}$  / ml Borax. Group 4: BEP + 10  $\mu\text{g}$  / ml Borax. Cell viability was measured by MTT in culture medium. Immunocytochemically, parameters such as Bax, Bcl-2, Caspase-3 and VEGF were examined. Immunocytochemical staining was evaluated under a microscope. Immuno-positive and immuno-negative cells were counted for each parameter in each group and the obtained numbers were used for statistical evaluation.

Immunocytochemical parameters were found to be close to the control group in all groups and no significant difference was found between the groups ( $p > 0.05$ ). Our study showed that borax does not have a significant effect on Bax, Bcl-2, Caspase-3 and VEGF expressions but this comprehensive study can shed light on other studies and it is appropriate to evaluate the findings by in vivo studies.

**Key Words:** Testicular tumour, BEP, Boron, Germ cell tumour, Cell culture

## KAYNAKLAR

- AKKILIÇ, M., SOLOK, V. (1977). Testis Tümörleri Patolojisi. *Türk Üroloji Dergisi*. Cilt:3. Bölüm:2 S:161-175.
- AKTÜMSEK, A., (2016). Anatomi ve Fizyoloji-İnsan Biyolojisi. Gözden Geçirilmiş 10. Basım. Nobel Akademik Yayıncılık.
- ALBERS, P., ALBRECHT, W., ALGABA, F., BOKEMEYER, C., CEDERMARK, G., HORWICH, A., LAGUNA, M. (2008). Testis Kanseri Kılavuzu. Avrupa Üroloji Derneği.
- ARINCI, K., ELHAN, A. (2006). Kemikler, Eklemler, Kaslar, İçorganlar. Anatomi 1. Cilt. Güneş Kitabevi. Ankara.
- ASLAN, Ö., VURAL, H., KÖMÜRCÜ, Ş., ÖZET, A. (2006). Kemoterapi Alan Kanser Hastalarına Verilen Eğitimin Kemoterapi Semptomlarına Etkisi. *Cumhuriyet Üniv. Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi*. 10(1).
- ATİLE, N., MEYDAN, N., BALKAYA, M., METEOĞLU, İ., ÜNSAL, C., BİLİR, B. (2016). Anti Vasküler Endotelial Büyüme Faktör Monoklonal Antikoru Bevasizumab'ın Böbrek Fonksiyonları ve Morfolojisi Üzerine Olan Etkileri. *International Journal of Basic and Clinical Medicine*. 4(1):29-38.
- AWUAHA, S., RIDDELLA, I., LIPPARDA, S. (2016). Repair shielding of platinum-DNA lesions in testicular germ cell tumors by high-mobility group box protein 4 imparts cisplatin hypersensitivity. PNAS Early Edition.
- BARRANCO, W., ECKHERT, C. (2004). Boric acid inhibits human prostate cancer cell proliferation. *Cancer Letters*. 216( 21–29).
- BULUTTEKİN, M., (2008). Türkiye Bor Madeni Ekonomisi: Türkiye'nin Dünya Bor Piyasasındaki Yeri. Ulusal İktisat Kongresi. İzmir.
- CAN, G. (2005). Antineoplastik İlaçların Yan Etkileri ve Hemşirelik Yaklaşımları. *Hemşirelikte Eğitim ve Araştırma Dergisi*. 2(2):8-15.
- CHEN, H., STANLEY, E., JIN, S., ZIRKIN, B. (2010). Stem Leydig Cells: From Fetal to Aged Animals. 90(4): 272–283.
- CHRESTA, C., MASTERS, J., HICKMAN, J. (1996). Hypersensitivity of Human Testicular Tumors to Etoposide-Induced Apoptosis is Associated with Functional p53 and a High Bax:Bcl-2 Ratio. *Cancer Res*. 56(8):18.
- CİHANGİROĞLU, G., ÇOBANOĞLU, B., PEHLİVAN, S., KARAOĞLU, A., BALCI, A. (2008). Toraks ve Boyun Metastazı Yapan Mikst Germ Hücreli Testis Tümörü. *Fırat Tıp Dergisi*. 13(2): 144-146.

- COŞKUN, G., ÖZGÜR, H. (2011). Apoptoz ve Nekrozun Moleküler Mekanizması. Çukurova Üniv. Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, ADANA. 20: 145.
- CUI, D., NAFTEL, J., DALEY, W., LYNCH, J., HAINES, D., YANG, G., FRATKİN, J. (2011). Atlas of Histology with Functional and Clinical Correlations. 1rd Ed. Lippincott Williams & Wilkins a Wolters Kluwer Business.
- ÇAĞLA, B., ABACIOĞLU, U. (2006). Evre I Seminomda Güncel Tedavi Yaklaşımları. Üroonkoloji Bülteni. Sayı 2. İstanbul.
- ÇETİN, A. (2013). Kanser Tedavisinde Yeni Yaklaşımlar. Erciyes Üniv. Eczacılık Fakültesi, Bitirme Ödevi. Kayseri.
- ÇETİNTAŞ, V., ZUHAL EROĞLU, Z. (2013). Cisplatin Direncinde Etkili Moleküler Mekanizmalar. *Süleyman Demirel Üniv. Tıp Fakültesi Dergisi*. 20(2)/72-79.
- ÇETİNTAŞ, V., KÜÇÜKASLAN, A., KOSOVA, B, TETİK A, SELVİ, N., COK, G., GÜNDOZ, C., EROĞLU, Z. (2012). Cisplatin Resistance Induced by Decreased Apoptotic Activity in Non-Small Cell Lung. *Cell Biol Int*. 36(261–265).
- DEMİRTAŞ, A. (2010). Bor'un İnsan Beslenmesi ve Sağlığı Açısından Önemi. *Atatürk Üniv. Ziraat Fakültesi Dergisi*. 41(1):75-80. Erzurum.
- DEMİRTAŞ, A., PIŞKİN, İ. (2009). Memelilerde Cinsiyet Gelişimi ve Hormonal Kontrolü. *Veteriner Hekim Dergisi*. 80(3): 23-28.
- DEMİRTAŞ, Z. (2011). Germ Hücreli Tümör Olgularının Değerlendirilmesi. Gazi Üniv. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi. Ankara.
- DENİZOT, F., LANG, R. (1986). Rapid Colorimetric Assay for Cell Growth and Survival-Modifications to the Tetrazolium Dye Procedure Giving Improved Sensitivity and Reliability. The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research.
- DESAID, L., KIIISHANP, A., FOLEY, G.(1974). Effects of Bleomicin on Cells in Culture: A Quantitative Cytochemical Study. *Cancer*. 34:1873-1877.
- EROSCHENKO, V., (2016). DiFiore'nin Histoloji Atlası. 12. Baskıdan Çeviri. Palme Yayıncılık.
- EŞREFOĞLU, M. (2018). Histoloji Atlası. 1.Baskı. İstanbul Tıp Kitabevleri.
- ETİ MADEN İŞLETMELERİ GENEL MÜDÜRLÜĞÜ, (2013). Bor Sektör Raporu.
- FUJIMURA, T., YAMADA, Y., NASU, M., HAMASAKI, K., MINOWADA, S., KITAMURA, T. (2005). Different Transformation of Mature Teratoma in a Patient with Mixed Germ Cell Tumor of the Testis. *Japan International Journal of Urology*.. 12:588–590.
- GARTNER, L., HİATT, J. (2016). Brs Hücre Biyolojisi ve Histoloji. 7. Baskı. İstanbul Tıp Kitabevi.

- GERMAİN, C., NİKNEJAD, N., MA, L., GARBUŪO,K., HAİ, T., DİMİTROULAKOS, J. (2010). Cisplatin Induces Cytotoxicity through the Mitogen-Activated Protein Kinase Pathways and Activating Transcription Factor 3. Vol: 12 Number: 7 PP: 527-538.
- GÜYAGÜLER, T., (2001). Türkiye Bor Potansiyeli. 4.Endüstriyel Hammaddeler Sempozyumu. İzmir.
- HASSA, O., AŞTI, R. (1997). Embriyoloji. Genişletilmiş 3. Baskı. Ankara.
- HUTSON, J. (2012). - Embryology of the Human Genital Tract. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- JUNQUEIRA, L., CARNEIRO, J. (2009). Temel Histoloji. Nobel Tıp Kitabevi.
- KABU, M., TOSUN, M., ELİTOK, B., AKOSMAN, M. (2015). Histological Evaluation of the Effects of Borax Obtained from Various Sources in Different Rat Organs. *Int. J. Morphol.* 33(1):255-26.
- KAYIKÇI, M., ÇAM, H. (2005). Tedavi Evre I Nonseminomatöz Testis Tümörlerinde Tedavi Yaklaşımları. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi.* 3: 40-44. Düzce.
- KAWAİ, Y., NAKAO, T., KUNİMURA, N., KOHDA, Y., GEMBA, M. (2006). Relationship of Intracellular Calcium and Oxygen Radicals to Cisplatin-Related Renal Cell Injury. *Journal of Pharmacological Sciences.* 100: 65 -72.
- KERR, J., KNELL, C. (1988). The Fate of Fetal Leydig Cells During the Development of the Fetal and Postnatal Rat Testis. The Company of Biologists Limited. 535-544.
- KIERSZENBAUM, A. (2006). Histoloji ve Hücre Biyolojisi. Palme Yayıncılık.
- KISMALI, G., SEL, T. (2012). Paraquat İle Oluşturulmuş Oksidatif Stresin HepG2 Hücrelerinde Apoptozis Üzerine Etkisinin Araştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veterinerlik Dergisi.* 26 (2): 79-85.
- KOBAYASHİ , A., BEHRİNGER, R. (2003). Developmental Genetics of the Female Reproductive Tract in Mammals. Vol 4. 971.
- KUTLUK, T., KARS, A. (1992). Kanser Konusunda Genel Bilgiler. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Sağlık Projesi Genel Kordinatörlüğü. Ankara.
- KUZGUNBAY, B., YAYCIOĞLU, Ö. (2009). Bilateral Testis Tümörlerinde Tedavi Yaklaşımları. *Üroonkoloji Bülteni.* 3:49-51. Adana.
- KWAN, E., BECK, S., AMİR, E., JEWETT, M., STURGEON, J., CARTWRİGHT, L., CHUNG, P., WARDE, P., MOORE, M., BEDARD,P., TRAN, B. (2017). Impact of Granulocyte-Colony Stimulating Factor on Bleomycin-Induced Pneumonitis in Chemotherapy-Treated Germ Cell Tumors. *Clinical Genitourinary Cancer.* , Vol 16. No 1. e193-9.
- LI, X., WANG, X., ZHANG, J., HANAGATA, N., WANG, X., WENG, Q., ITO, A., BANDO, Y., GOLBERG, D. (2016). Hollow boron nitride nanospheres as boron reservoir for prostate cancer treatment . *Nature Communications.* DOI: 10.1038/ncomms13936.

- LOOIJENGA, L., STOOP, H., LEEUW, H., BRAZAO, C., GILLIS, J., ROOZENDAAL, K., ZOELLEN, E., WEBER, R., WOLFFENBUTTEL, K., DEKKEN, H., HONECKER, F., BOKEMEYER, C., PERLMAN, E., SCHNEIDER, D., KONONEN, J., SAUTER, G., OOSTERHUIS, J. (2003). POU5F1 (OCT3/4) Identifies Cells with Pluripotent Potential in Human Germ Cell Tumors. *Cancer Research*. 63:2244–2250
- MARIEB, E. (2000). *Essentials of Human Anatomy and Physiology*. 6rd Ed. Addison Welsey Longman Inc.
- MCGEADY, T., QUINN, P., FITZPATRICK, E., RYAN, M. (2011). *Veteriner Embriyoloji*. Medipres Matbaacılık.
- MENGİ, T. (2005). *Bor Madeni ve Türkiye Açısından Önemi*. Yüksek Lisans Tezi, Atılım Üniv. Sosyal Bilimler Enstitüsü. Ankara.
- MESCHER, A. (2009). *Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas*. 12rd Ed. The McGraw-Hill Companies.
- MOORE, K., PERSAUD, T. (2001). *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*. 8. Baskıdan Çeviri. Nobel Tıp Kitabevleri.
- MOSEMAN, R., (1994). *Chemical Disposition of Boron in Animals and Humans*. *Environ Health Perspect*. 7:113-7.
- MÜEZZİNOĞLU, T., KORKMAZ, M., NEŞE, N., BAKIRDERE, S., ARSLAN, Y., ATAMAN, Y., LEKİLİ, M. (2011). *Prevalence of Prostate Cancer in High Boron-Exposed Population: A Community-Based Study*. *Biological Trace Element Research*. 144(1-3), 49-57.
- OZAN, H. (2014). *Ozan Anatomi*. *Klinisyen Tıp Kitabevleri*. Ankara.
- ÖZDOĞAN, H., ERALDEMİR, F., ÇEKMEN, M., TİRYAKİ, Ç., YAVAŞ, İ., ERÇİN, C., UTKAN, N. (2016). *İnvaziv Duktal Meme Karsinomu; Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü ve Nitrik Oksit İlişkisi*. *Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi*. Doi: 10.5505/aot.2016.79188 .
- RAO, P., BURNETT, A. (2013). *Development of the Male Reproductive System*. Chapter 2. Springer-Verlag London.
- REINA, L., MAARTENS, P., MEDINA, I., AGARWAL, A., PLESSIS, S. (2016). *Overview of the Male Reproductive System*. Springer Science Business Media New York.
- ROSS, M., PAWLINA, W. (2014). *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*. 6. Baskıdan Çeviri. Palme Yayıncılık
- RUDOLPH, C., MELAU, C., NIELSEN, J., JENSEN, K., LIU, D., DIAZ, J., MEYTS, E., RASMUSSEN, L., JORGENSEN, A. (2017). *Involvement of the DNA Mismatch Repair System in Cisplatin Sensitivity of Testicular Germ Cell Tumors*. *International Society for Cellular Oncology*. 40:341-55.



- SADLER, T. (2011). Langman Medikal Embriyoloji. 11. Baskıdan Çeviri. Palme Yayıncılık. Ankara.
- SARICI, H., TELLİ, O., EROĞLU, M. (2013). Bilateral Testiküler Germ Hücreli Tümörler. *Turkish Journal of Urology*. 39(4): 249-52.
- SAYLI, B., (1998). An Assessment of Fertility in Boron-Exposed Turkish Subpopulations: 2. Evidence That Boron Has No Effect on Human Reproduction. *Biol Trace Elem Res*. 66(1-3):409-22.
- SAYLI, B., TÜCCAR E., ELHAN, A. (1998). An Assessment of Fertility in Boron-Exposed Turkish Subpopulations. *Reprod Toxicol*. 12(3):297-304.
- SCHNEIDER, D., SCHUSTER, A., FRITSCH, M., HU, J., OLSON, T., LAUER, S., GOBEL, U., PERLMAN, E. (2001). Multipoint Imprinting Analysis Indicates a Common Precursor Cell for Gonadal and Nongonadal Pediatric Germ Cell Tumors. - American Association for Cancer Research. 61:7268-7276.
- SESTERHENN, I., DAVIS, C. (2004). Pathology of Germ Cell Tumors of the Testis. *Cancer Control*. Vol: 11. No: 6.
- SHARPE, R., MCKINNELL, C., KIVLIN, C., FISHER, J. (2003). Proliferation and Functional Maturation of Sertoli Cells, and Their Relevance to Disorders of Testis Function in Adulthood. *Society for Reproduction and Fertility*. 125: 769-784.
- SKINNER, M., NORTON, J., MULLANEY, B., ROSSELLI, M., WHALEY, P., ANTHONY, C. (1991). Cell-Cell Interactions and the Regulation of Testis Function. 637:354-63.
- SKINNER, M., GRISWOLD, M. (1980). Sertoli Cells Synthesize and Secrete Transferrin-like Protein. *The Journal of Biological Chemistry*.
- SYPIEWSKI, D., BEDNAREK, I., GAEKA, S., LOCH, T., BEASZCZYK, D., SOETYSIK, D. (2013). Cytotoxicity of Etoposide in Cancer Cell Lines in vitro after bcl-2 and c-raf Gene Silencing with Antisense Oligonucleotides. *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*. Vol:70 No:1 PP:8797.
- ŞAHİN, F., ESİN, S., CEYLANER, G., KURT, E., ÖTE, E., TERZİ, Y., ÇELİK, Z. (2013). SRY Geni High Mobility Group (HMG) Bölgesinde Tanımlanan Yeni Mutasyon. *Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi*. Cilt: 10. Sayı: 2. Sayfa: 118- 21.
- TOMBAL, T., ÖZKAN, Ş., ÜNVER, İ., OSMANLIOĞLU, A. (2016). Bor Bileşiklerinin Özellikleri, Üretimi, Kullanımı ve Nükleer Reaktör Teknolojisinde Önemi. *Bor Dergisi*. (2)86 -95. İstanbul.
- TOSUN, M. (1998). İnsan Gonadlarının İntrauterin Gelişiminin Histolojik Değerlendirilmesi. Selçuk Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. Konya.
- TÜRKİYE METALURJİ MÜHENDİSLERİ ODASI BİRLİĞİ, (2003). Bor Raporu.

- ÜNAL, M., ÖZER, M., SÖNMEZ, F., BAYRAK, G., DEMİRBAĞ, H. (2017). Seminal Sıvının Fertilizasyondaki Rolü. *Androloji Bülteni-Erkek Üreme Sağlığı*. 19(4):138-143.
- ÜNAL, T. (2012). Neoplazi. Ege Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi.
- ÜNLÜER, E., ERKAN, E. (2008). Testis Tümörleri. *Klinik Gelişim Üroloji Özel Sayısı*. Cilt:21 no:3
- YALÇINKAYA, U., ÇALIŞIR, B., UĞRAŞ, N., FİLİZ, G., EROL, O. (2008). Testis Tümörleri: 30 Yıllık Arşiv Tarama Sonuçları. *Türk Patoloji Dergisi*. 24(2):100-106. Bursa.
- YALÇIN, Ş. (2016). Teratomlar ve Diğer Germ Hücreli Tümörler. *Çocuk Cerrahisi Dergisi*. 30(Ek sayı 5):478-489. Ankara.
- YAKIŞIK, M., ÖZFİLİZ, N., ERDOST, H., ZİK, B. (2005). Veteriner Embriyoloji. Genişletilmiş 2. Baskı. Uludağ Üniv. Veteriner Fakültesi Yayınları. Bursa.
- YENMEZ, N., (2010). Stratejik Bir Maden Olarak-Bor Minerallerinin Türkiye İçin Önemi. *Coğrafya Dergisi*. Sayı 19. Sy. 59-94. İstanbul.
- YİĞİTBAŞIOĞLU, H. (2004). Türkiye İçin Önemli Bir Maden:Bor. Ankara Üniv. Dil ve Tarih-Coğrafya Fakültesi. Coğrafya Bölümü. Ankara.
- YOKUŞ, B., ÇAKIR, D. (2012). Kanser Biyokimyası. *Dicle Üniv. Veterinerlik Fakültesi Dergisi* 1(2): 7-18
- YÖRÜKOĞLU, K. (2011). Testis Tümörlerinde Prognozu Belirleyen Histopatolojik Parametreler. *Üroonkoloji Bülteni*. Sayı 3. İzmir.
- ZÜLFİKAROĞLU, G., ÖZGÜR, H., POLAT, S. (2010). Kapasitasyonun Moleküler Temelleri. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı. 19: 12. Adana.