

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL VAZEKTOMİNİN FARKLI SÜRELER
SONRASINDA ERİŞKİN SIÇAN TESTİSİNDE OLUŞTURDUĞU
MORFOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERİN STEREOLOJİK
YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

Alev CUMBUL

Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK

Yrd. Doç. Dr. Ünal USLU

2008

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL VAZEKTOMİNİN FARKLI SÜRELER
SONRASINDA ERİŞKİN SIÇAN TESTİSİNDE OLUŞTURDUĞU
MORFOLOJİK DEĞİŞİKLİKLERİN STEREOLOJİK
YÖNTEMLERLE İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

Alev CUMBUL

Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK

Yrd. Doç. Dr. Ünal USLU

2008

KABUL VE ONAY SAYFASI

Alev CUMBUL (ÇİFTÇİ)'nin Doktora Tezi olarak hazırladığı "Deneysel Vazektominin Farklı Süreler Sonrasında Erişkin Sıçan Testisinde Oluşturduğu Morfolojik Değişikliklerin Stereolojik Yöntemlerle İncelenmesi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirerek "**KABUL**" edilmiştir.

05.09.2008

Üye : Prof. Dr. Prof.Dr.Cengiz BAYÇU


Üye : Prof. Dr. Ferruh YÜCEL

Üye : Prof. Dr. Prof.Dr.Varol ŞAHİNTÜRK

Üye : Prof.Dr.Seyhun SOLAKOĞLU

Üye :Yrd.DoçDr.Ünal USLU

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 6.09.2008 tarih ve 758./3505 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof Dr. Ferruh YÜCEL
Enstitü Müdürü

ÖZET

Vazektomi, spermatogenezin durmasına ve seminifer tübüllerin dejenerasyona sebep olduğundan tüm dünyada yaygın olarak kullanılan bir korunma yöntemidir. Bu çalışmadaki amaç, erişkin Wistar Albino sıçanlarda testis yapılarını oluşturan germ ve destek hücrelerinin sayısını ve diğer morfometrik özelliklerini ortaya koyarak deneysel unilateral vazektominin etkilerini açıklamaktır.

Erkek 8 haftalık Wistar Albino sıçanlara 1, 12 ve 24 hafta ve bunların kontrolleri olmak üzere üç grup halinde unilateral vazektomi yapılmıştır. Hayvanların testisleri ışık mikroskopik ve morfometrik incelemeler için perfüzyon ile alındı. Tarafsız ve etkin stereolojik araçlar ve stereolojik yöntemler kullanıldı. Optik disektör, destek hücreleri ve germ hücrelerinin toplam sayısını hesaplamada kullanıldı. Cavalieri yöntemiyle testisin toplam hacim ve hacim oranları hesaplandı.

Seminifer epitelin bütün hücrelerinin sayı ve yoğunlukları 24. haftalık vazektomi grubunda önemli derecede azalmıştır. Vazektominin ilk etkilenen spermatidlerin sayı ve yoğunlukları tüm vazektomi gruplarında azalmıştır. 1 ve 12.haftalarda destek hücreleri ve spermatogonyumların toplam sayılarında değişiklik olmamıştır. Testisin tüm hacmi bütün vazektomi gruplarında azalmış olmasına rağmen interstisyum hacmi değişmedi. 12 ve 24. haftalarda İnterstisyumun hacim oranının artmasına rağmen adlüminal ve bazal kompartımanların hacim oranlarının azaldı. Lümenlerin genişlemesi interstisyumun artmasına paraleldir. Ayrıca ilk vazektomi grubunun başlangıcından itibaren testislerdeki bazal membranlar kalınlaştı. İnterstisyel alanda mononükleer hücre infiltrasyonu ve damarlanma artışı da 12. ve 24. haftadan itibaren artmıştır.

Bulgularımız ışığında, 1 ve 12. haftalarda etkili olan telafi mekanizmasının 24 haftada yetersiz kaldığı ileri sürülebilir. Biz 12. haftadan sonra interstisyum ve bazal membrandaki artışın, testisdeki hücrelerin etkileşimini bozduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Sözcükler: stereoloji, vazektomi, testis, sıçan

SUMMARY

Vasectomy is a contraceptive method widely used around the globe, causing degeneration of seminiferous tubules, and interruption of spermatogenesis. This study was performed to determine the effects of experimental unilateral vasectomy on germ cell and supporting cell counts, along with other morphometric characteristics of testicular structures in adult Wistar Albino rats.

Normal male Wistar Albino rats, aged 8 weeks, were subjected to unilateral vasectomy in three groups of 1, 12, 24 weeks and their control. Testes of animals were perfused for light microscopic and morphometric investigations. Unbiased and efficient stereological tools and stereological methods were used. An Optical dissector was used for counting the total number of supporting and germ cells. Total volumes and volume fraction of testes were estimated with the Cavalieri principle.

Number and numerical density of all cells of the seminifer epithelium decreased significantly in 24-week vasectomy group. Number and numerical density of spermatid is decreased in all of the vasectomy groups which. Total number of supporting cells and spermatogonium did not change 1 and 12 weeks. Although total volume of testes decreased in all of the vasectomy groups, volume of interstitial tissue did not change. Relative volume of adluminal and basal compartments decreased in 12 and 24 week groups, in spite of the increased ratio of interstitial tissue volume. The expansion of the lumen has been parallel to the increase in interstitial tissue. Furthermore, the basal membranes were thickened in testes starting with the first vasectomy group. Increased mononuclear cell infiltration and vascularization were also observed in the interstitial space following 12 and 24 weeks.

Implications: Our data suggest that the compensation mechanism that are effective in 1 and 12 weeks fails in 24 weeks. We believe that the increase in the interstitial tissue and basement membrane damage cell interaction in testes starting after 12 weeks.

Key words: stereology, vazectomy, testes, rat

İÇİNDEKİLER

1	GİRİŞ VE AMAÇ	1
2	GENEL BİLGİLER	3
2.1	Testis ve Boşaltım Yollarının Anatomisi	3
2.2	Testisin Embriyolojisi	6
2.3	Testisin Histolojisi	10
2.3.1	Testisin Genel Yapısı	10
2.3.2	Seminifer Tübül Epiteli	11
2.3.2.1	Sertoli Hücreleri	12
2.3.2.2	Spermatogonyum	14
2.3.2.3	Birincil ve İkincil Spermatozitler	15
2.3.2.4	Erken ve Geç Dönem Spermatidler	16
2.3.3	İnterstisyel Alan	17
2.3.3.1	Leydig Hücreleri	17
2.3.3.2	Myoid Hücreler	19
2.3.4	İnterstisyel Bağ Dokusu	19
2.3.5	Spermatogenez	20
2.3.5.1	Spermatozitogenez	20
2.3.5.2	Mayoz	21
2.3.5.3	Spermiyogenez	22
2.3.5.3.1	Golgi Fazı	23
2.3.5.3.2	Kep Fazı	23
2.3.5.3.3	Akrozom Fazı	23
2.3.5.3.4	Olgunlaşma Fazı	24
2.4	Testisin Histofizyolojisi	26
2.5	İnfertilite Hakkında Genel Bilgiler	28
2.5.1	İnfertilite Nedir?	28
2.5.2	İnfertilite Nedenleri	28
2.5.2.1	Kadınlarda İnfertilite nedenleri	29
2.5.2.2	Erkeklerde İnfertilite Nedenleri	29
2.6	Vazektomi Hakkında Genel Bilgiler	31
2.6.1	Kontrasepsiyon Yöntemleri	31

2.6.1.1	Kadının Kullanabileceği Yöntemler	31
2.6.1.2	Erkeğin Kullanabileceği Yöntemler	32
2.6.1.2.1	Vazektomi (Gönüllü sterilizasyon)	32
2.7	Stereoloji Hakkında Genel Bilgiler	35
2.7.1	Stereolojinin Tarihçesi	35
2.7.2	Stereolojinin Temel İlkeleri	37
2.7.2.1	Sistemik Rastgele Örnekleme	38
2.7.2.2	Geometrik Sondalar	39
2.8	Disektör Prensibi	40
2.8.1	Cavalieri İlkesi ile Hacim Hesaplanması	41
2.8.1.1	Optik Parçalama	42
3	GEREÇ VE YÖNTEM	44
3.1	Deney Hayvanları	44
3.1.1	Kontrol (Sham) Grubu	46
3.1.2	Vazektomi Grubu	49
3.2	Perfüzyon Yöntemi:	52
3.2.1	Perfüzyon fiksasyon yöntemi için gerekli araç ve gereçler	52
3.2.2	Tampon hazırlanması	52
3.2.3	Fiksatifin Hazırlanması	53
3.2.4	Antikoagülan madde verilmesi	54
3.2.5	Deney Sonunda hayvanların anestezisi	54
3.2.6	Perfüzyon yapılması	54
3.3	Testislerin Alınması	58
3.4	Testis Ağırlıklarının Ölçülmesi	59
3.5	Histolojik Yöntem	59
3.5.1	Bouin Fiksatifinin Hazırlanışı	59
3.5.2	Doku Takip Yöntemi	60
3.6	Genel Işık Mikroskopik İnceleme	61
3.7	Stereoloji Yöntemi	61
3.7.1	Kalın Kesit Alma	61
3.7.2	PAS+Hematoksilin ile Boyama	61

3.7.2.1	Boyama Solüsyonlarının Hazırlanması	62
3.7.2.2	Boyama Tekniği	62
3.7.3	Pilot Çalışma	63
3.7.4	Stereoloji Ölçüm ve Hesaplamaları	64
3.7.4.1	Kullanılan Donanım	64
3.7.4.2	Fiziksel Parçalama	64
3.7.4.3	Optik Parçalama	65
3.7.4.4	Optik Disektör	66
3.7.4.5	Cavallieri Yöntemi	69
3.8	İstatistiksel Analiz	70
4	BULGULAR	71
4.1	Vücut ve Sol Testis Ağırlığı	71
4.1.1	Başlangıç vücut ağırlığı	71
4.1.2	Deney sonu vücut ağırlığı	72
4.1.3	Sol Testis Ağırlığı	72
4.2	Stereolojik Bulgular	73
4.2.1	Hacimsel Bulgular	73
4.2.1.1	Toplam Sol Testis Hacmi	73
4.2.1.2	Sol Testisin Toplam İnterstisyum Hacmi	75
4.2.1.3	Sol Testisin Toplam Adlüminal Kompartıman Hacmi	75
4.2.1.4	Sol Testisin Toplam Bazal Kompartıman Hacmi	76
4.2.1.5	Sol Testisin Toplam Seminifer Tübül Lümeni Hacmi	77
4.2.2	Sol Testisin Birim Hacimdeki Hacim Oranları	78
4.2.3	Toplam Hücre Sayıları	80
4.2.3.1	Leydig Hücre Sayısı	80
4.2.3.2	Myoid Hücre Sayısı	81
4.2.3.3	Sertoli Hücre Sayısı	81
4.2.3.4	Spermatogonyum Hücre Sayısı	82
4.2.3.5	Spermatid Hücre Sayısı	83
4.2.4	Sol Testisin Birim Hacim Başına Düşen Hücre Sayıları	84
4.3	Histopatoloji	87

5	TARTIŞMA	111
5.1	Vücut Ağırlığı	111
5.2	Testis Ağırlığı	112
5.3	Hacimler	113
5.3.1	Toplam Testis Hacmi	113
5.3.2	İnterstisyum Hacmi	113
5.3.3	Adlüminal Kompartıman Hacmi	114
5.3.4	Bazal Kompartıman Hacmi	115
5.3.5	Seminifer Tübül Lümeni Hacmi	115
5.4	Toplam Hücre Sayıları	116
5.4.1	Leydig Hücresi	116
5.4.2	Myoid Hücre	117
5.4.3	Sertoli Hücresi	117
5.4.4	Spermatogonyum Hücresi	118
5.4.5	Spermatid Hücresi	119
5.4.6	Birim Hacim Başına Düşen Hücre Sayıları	119
5.5	Histopatoloji	121
6	SONUÇ	125
7	KAYNAKLAR DİZİNİ	127
8	ÖZGEÇMİŞ	150

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Erkek ve Dişi Embriyolardaki Yapıların Yetişkindeki Türevleri. Carlson tarafından gösterilmiştir.

Tablo 2: Çalışmanın deney grupları ve sıçan sayıları.

Tablo 3: Hayvanların deney öncesi vücut ağırlıklarının karşılaştırması (ortalama± standart sapma).

Tablo 4: Hayvanların deney sonu vücut ağırlıklarının karşılaştırması (ortalama± standart sapma).

Tablo 5: Vazektomi ve kontrol grubu hayvanların sol testis ağırlıkları (ortalama± standart sapma).

Tablo 6: Cavalieri yöntemi ile ölçülen sol testis hacimleri (ortalama± standart sapma).

Tablo 7: Cavalieri yöntemi ile ölçülen sol testisin interstisyum hacimleri (ortalama± standart sapma)

Tablo 8: Cavalieri yöntemi ile ölçülen sol testis adlüminal kompartıman hacimleri (ortalama± standart sapma).

Tablo 9: Cavalieri yöntemi ile ölçülen sol testis bazal kompartıman hacimleri (ortalama± standart sapma).

Tablo 10: Cavalieri yöntemi ile ölçülen sol testisin seminifer tübül lümeni hacimleri (ortalama± standart sapma)

Tablo 11: Sol testis interstisyum, adlüminal kompartıman, bazal kompartıman ve seminifer tübül lümeni hacimlerinin tüm sol testis hacmi oranları= V_v (ortalama± standart sapma).

Tablo 12: Kontrol ve vazektomi gruplarının sol testislerindeki toplam Leydig hücresi sayılarının karşılaştırılması (ortalama± standart sapma).

Tablo 13: Kontrol ve vazektomi gruplarının sol testislerindeki toplam myoid hücre sayılarının karşılaştırılması (ortalama± standart sapma).

Tablo 14: Kontrol ve vazektomi gruplarının sol testislerindeki toplam Sertoli hücresi sayılarının karşılaştırılması (ortalama± standart sapma).

Tablo 15: Kontrol ve vazektomi gruplarının sol testislerindeki toplam spermatogonyum hücresi sayılarının karşılaştırılması (ortalama± standart sapma).

Tablo 16: Kontrol ve vazektomi gruplarının sol testislerindeki toplam spermatid hücresi sayılarının karşılaştırılması (ortalama± standart sapma).

Tablo 17: Sol testiste birim hacim başına düşen hücre sayıları (ortalama± standart sapma, hücre/mm³= N_v).

ŐEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Deney malzemeleri.

Şekil 2: Hayvanın cerrahi işlem için hazırlanması.

Şekil 3: Cildin açılması

Şekil 4: Kontrol grubundaki bir hayvana yapılan sham operasyon.

Şekil 5: Testisin karın dışına alınması.

Şekil 6: Spermatik kordun bağlanması.

Şekil 7: Operasyon sonrası cildin kapatılması.

Şekil 8: Operasyon sonrası bakım.

Şekil 9: Perfüzyon düzeneği. İki adet birer litrelik serum Şişesinin (A), birinde serum fizyolojik, diğerinde ise tamponlu glutaraldehit bulunmaktaydı. Bu Şişeler üç yollu vanaya (C) takılmış bir intra venöz sete (B) bağlanmıştı. Şişeler tezgahtan 120 cm yukarıya asıldı. Vana çıkışına kelebek seti bağlandı.

Şekil 10: Hazırlanmış perfüzyon düzeneğimiz.

Şekil 11: Torakotomi uygulaması.

Şekil 12: Torakotomi sonrası kalbin gösterilmesi.

Şekil 13: Kalbin apeksinden 18G'lik iğne ile girilmesi

Şekil 14: Kullandığımız optik parçalama yöntemine göre sayımın yapılış biçimine ait görüntü. Sağda görülen cetvel z-metreyi, z-metre üzerindeki kırmızı veya yeşil ibre disektör yüksekliğini ve kırmızı –yeşil çizgiler sayım çerçevesini göstermektedir. Artı işareti de sayıma başlanabileceğini göstermektedir.

Şekil 15: 1 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüller ve interstisyel alanın normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=260 µm.
(ST: Seminifer tübül, asteriks: İnterstisyel alan)

Şekil 16: 1 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübül duvarındaki hücrelerin normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 µm.
(SE: Seminifer epitel)

Şekil 17: 1 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. İnterstisyel alanda makrofaj(*boş ok*) ve Leydig hücrelerinin (*dolu ok*) normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 µm.

Şekil 18: 1 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübül duvarındaki hücrelerin normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 µm. (SE: Seminifer epitel)

Şekil 19: 12 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüller ve interstisyel alanın normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=27 µm.
(SE: Seminifer epitel, asteriks: İnterstisyel alan)

Şekil 20: 12 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüller ve interstisyel alanın normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 µm.
(SE: Seminifer epitel, asteriks: İnterstisyel alan)

Şekil 21: 12 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. İnterstisyel alandaki normal görünümlü makrofaj ve Leydig hücrelerine dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 µm.
(asteriks: İnterstisyel alan)

Şekil 22: 24 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüller ve interstisyel alanın normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=55 µm.
(ST: Seminifer tübül, asteriks: İnterstisyel alan)

Şekil 23: 24 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüller ve interstisyel alanın normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=110 µm.
(ST: Seminifer tübül, asteriks: İnterstisyel alan)

Şekil 24: 24 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüllerin duvarındaki hücrelerin normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=27 µm.
(SE: Seminifer epitel)

Şekil 25: (A) Kontrol grubuna ait testis kesitleri. Seminifer epitel, interstisyum ve bazal membranların normal görünümüne dikkat ediniz, bar=27 µm. (B) spermatogenez hücrelerinin seminifer tübülde düzenli sıralandığı ve Sertoli hücrelerinin tipik çekirdek görünümü izleniyor, bar=11 µm. İki kesit de PAS+H ile boyanmıştır.(SE: Seminifer epitel, ok başı: Sertoli, BM: Bazal membran, asteriks: İnterstisyel alan)

Şekil 26: 1 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüllerin duvarındaki hücrelerin dejenere olmaya başladığı ve interstisyel alanda Leydig hücrelerinin var olduğuna dikkat ediniz. Masson'un trikrom boyası, bar=27 µm.
(ok başı: Leydig hücresi)

Şekil 27: 1 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüllerin duvarındaki hücrelerin dejenere olmaya başladığına dikkat ediniz.
PAS+H, bar=17 µm.(SE: Seminifer epitel)

Şekil 28: 1 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüllerin duvarındaki hücrelerin dejenere olmaya ve tübül lümenine dökülmeye başladığına ve lümeninde dev cisimlerin bulunduğuna dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 µm. (DC: Dev hücreli cisim)

Şekil 29: 1 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesitleri. (A) Seminifer epitelde düzensiz dizilmiş hücreler ve lümeninde dev hücreli cisim, bar=55 µm, (B) dev hücreli cismin büyütülmüş görüntüsü, bar=11 µm. İki kesit de PAS+H ile boyanmıştır. (DC: Dev hücreli cisim)

Şekil 30: 12 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübülün duvarındaki hücrelerin dejenere olduğu ve bazal membranın kalınlaştığına dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 µm. (ST: Seminifer tübül)

Şekil 31: 12 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübülün duvarındaki hücrelerin döküldüğü ve Leydig hücrelerinin azaldığına dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 µm. (SE: Seminifer epitel, ok başı: Leydig hücresi)

Şekil 32: 12 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüllerin duvarlarının oldukça inceldiğine ve tunika albugineanın kalınlaştığına dikkat ediniz. PAS+H, bar=260 µm. (SE: Seminifer epitel, TA: Tunika albuginea)

Şekil 33: 12 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübülün duvarındaki hücrelerin dejenere olarak lümeneye döküldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 µm. (SE: Seminifer epitel)

Şekil 34: 12 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesitleri. (A) Seminifer epiteldeki hücrelerin aralarındaki bütünlüğün kaybolduğu, bar=27 µm, (B) spermatogenez hücrelerinin aralarında vakuollerin oluştuğu görülmektedir, bar=11 µm. İki kesit de PAS+H ile boyanmıştır. (SE: Seminifer epitel, asteriks: Vakuol)

Şekil 35: 12 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesitleri. (A) Seminifer epiteldeki hücrelerin aralarındaki bütünlüğün kaybolduğu ve dejenerasyonların oluştuğu, bar=55 µm, (B) spermatogenez hücrelerinin aralarında vakuollerin oluştuğu, spermatogonyum ve Sertoli hücrelerinin dejenerasyona uğradıkları görülmektedir, bar=17 µm. İki kesit de PAS+H ile boyanmıştır. (SE: Seminifer epitel, asteriks: Vakuol, ok başı: Sertoli hücresi)

Şekil 36: 24 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüllerin lümenlerinin kapandığına ve interstisyel alanların genişlediğine dikkat ediniz. Masson'un trikrom boyası, bar=55 µm. (LÜ: Lümen)

Şekil 37: 24 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüllerin lümenlerinin kapandığına ve interstisyel alanların genişlediğine dikkat ediniz. PAS+H, bar=110 µm. (asteriks: İnterstisyum, LÜ: Lümen)

Şekil 38: 24 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüllerin duvarında incelme ve interstisyel alanlardaki genişlemelere dikkat ediniz. PAS+H, bar=55 µm. (asteriks: İnterstisyum, SE: Seminifer tübül)

Şekil 39: 24 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesitleri. (A) Kollajen artışına bağlı olarak interstisyumdaki genişlemeye ve bazal membrandaki kalınlaşmaya, bar=55 µm, (B) myoid hücre çekirdeklerinin üçgen biçimini aldığına dikkat ediniz (*oklar*), bar=11 µm. İki kesit de Masson'un trikrom boyası ile boyanmıştır. (asteriks: İnterstisyum, ok başı: Myoid hücresi, BM: Bazal membran)

Şekil 40: 24 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesitleri. (A) İnterstisyumdaki genişlemeye ve seminifer tübüllerdeki küçülmeye, bar=110 µm, (B) interstisyumdaki bağ dokusu hücrelerinin yerini çoğunluğunu makrofajların oluşturduğu mononükleer hücrelerin aldığına dikkat ediniz, bar=27 µm. İki kesit de PAS+H ile boyanmıştır. (ok başı: Makrofaj, ST: Seminifer tübül)

Şekil 41: 24 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesitleri. (A) İnterstisyumdaki genişlemeyle birlikte hücre mononükleer infiltrasyonuna ve seminifer epiteldeki hücre kayıplarına, bar=55 µm, (B) interstisyumda küçük kan damarı çevresinde bazı Leydig hücrelerinin *bulunduğuna*, bar=11 µm dikkat ediniz. İki kesit de PAS+H ile boyanmıştır. PAS+H. (SE: Seminifer epitel, ok başı: Leydig)

Şekil 42: 24 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesitleri. (A) Testisin genel görünümüne bakıldığında, bar=110 µm, (B) daha büyük büyültmede interstisyumdaki hücre artışına ve bazal membrandaki kalınlaşmaya, bar=17 µm, dikkat ediniz. İki kesit de Masson'un trikrom boyası ile boyanmıştır. (asteriks: İnterstisyum, BM: Bazal membran, ST: Seminifer tübül)

Şekil 43: (A) Kontrol grubu ve (B) 1 haftalık, (C) 12 haftalık ve (D) 24 haftalık vazektomi gruplarına ait testis kesitlerinin karşılaştırılması. Kontrol grubuna göre 1, 12 ve 24 haftalık deney gruplarında deney süresinin artmasına bağlı olarak seminifer tübüllerin giderek küçüldüğü, interstisyumun genişlediği ve bağ dokusu içeriğinin arttığı ve tunika albugineanın giderek kalınlaştığı dikkati çekmektedir. Tüm kesitlerde bar=110 µm olup kesitler Masson'un trikrom boyası ile boyanmıştır. (TA: Tunika albuginea)

Şekil 44: (A) Kontrol grubu ve (B) 1 haftalık, (C) 12 haftalık ve (D) 24 haftalık vazektomi gruplarına ait testis kesitlerinin karşılaştırılması. Kontrol grubuna göre 1, 12 ve 24 haftalık deney gruplarında deney süresinin artmasına bağlı olarak interstisyumun genişlediği, hyalinizasyonu ve damarların arttığı dikkati çekmektedir. Tüm kesitlerde bar=55 µm olup kesitler PAS+H yöntemi ile boyanmıştır. (ok başı: Damar)

Şekil 45: (A) Kontrol grubu ve (B) 1 haftalık, (C) 12 haftalık ve (D) 24 haftalık vazektomi gruplarına ait testis kesitlerinin karşılaştırılması. Kontrol grubuna göre 1, 12 ve 24 haftalık deney gruplarında deney süresinin artmasına bağlı olarak seminifer tübüllerin giderek küçülerek duvarlarındaki hücrelerin kaybolduğu, interstisyumun genişleyerek bağ dokusu ve hücre miktarının arttığı dikkati çekmektedir. Tüm kesitlerde bar=55 µm olup kesitler PAS+H yöntemi ile boyanmıştır. (SE: Seminifer epitel)

SİMGE ve KISALTMALAR

cm	:Santimetre
g	:Gram
°C	:Santigrat derece
V	:Toplardamar
A	:Atardamar
N	:Sinir
Nn	:Sinirler
TDF	:Testis Belirleyici Faktör
SRY	:Y'nin cinsiyeti belirleyen bölgesi
AMH	:Anti Mülleriyan Hormon
m	:Metre
µm	:Mikrometre
DNA	:Deoksi ribo nükleik asit
cAMP	:Döngüsel Adenozin Trifosfat
ABP	:Androjen Bağlayıcı Protein
FSH	:Folikül Uyarıcı Hormon
LH	:Lüteinleştirici Hormon
PAS	:Periyodik Asit Schiff
ml	:Mililitre
dk	:Dakika
U	:Ünite
kg	:Kilogram
M	:Molar
L	:Litre
mg	:Miligram
i.p.	:Periton içi
G	:Çap
ns	:Önemli bir fark yok
n	:Kromozom sayısı
C	:DNA miktarı

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Üreme işlevinin eksiksiz ve sorunsuz olarak gerçekleşmesi, erkek ve kadındaki anatomik, fizyolojik, hormonal ve immunolojik sistemlerin tam bir bütünlük ve uyum içinde çalışmasına bağlıdır. Ters bir durumda üreme işlevi bozularak infertilite meydana gelmektedir. İnfertilite kadar önemi bir sorun da toplumlardaki nüfus artışıdır. Bunu engellemek amacıyla geliştirilen birçok gebelikten korunma yöntemi mevcuttur. En etkili, kalıcı ve ucuz olan yöntem vazektomidir (6, 39, 41, 137, 158).

Vazektomi yöntemi, bölgesel anestezi altında, testislerde üretilen spermelerin üretraya kadar taşınmasını sağlayan vas deferensin cerrahi yöntemlerle ayrılıp bağlanmasıdır. Bu yöntemde erkeklerde cinsel yaşamda bir değişiklik olmaz. Geriye dönüş operasyonları yapılsa da başarı şansı düşüktür. Dolayısıyla deneysel vazektomi uygulanması, testisteki yapısal değişikliklerin anlaşılması açısından önemlidir. Vazektominin uygulanması, etnik köken, sosyoekonomik konum, yaş, evlilik ve eğitime bağlı olarak değişebilir. Vazektomi yaygın olarak Amerika, İngiltere ve Yeni Zelanda'da uygulanmaktadır (6, 30, 31, 99, 102,161).

Diğer önemli bir nokta da vazektominin komplikasyonlara yol açmasıdır. Bunlardan bazıları epididimit, kalp-damar hastalıkları ve prostat kanseridir (10,30, 31, 41, 86, 99, 161, 166).

Vazektomi, infertilite nedenlerinin ortaya konması ve tedavisinin geliştirilebilmesi için uzun yıllardan beri araştırmalarda deneysel bir model olarak kullanılmaktadır.

Son yıllarda stereolojik yöntemleriyle sayısal verilere kavuşan histoloji, incelenen mikroskobik yapılarla ilgili sadece görsel öğeleri değil aynı zamanda sayısal verileri de değerlendirmeye başlamıştır.

Vazektomi yöntemi uygulanarak yapılan infertilite araştırmaları incelendiğinde, bu çalışmalar daha çok testis seminifer epiteline odaklanmıştır. Her ne kadar testis stromasının nitel özellikleri incelense de, bu bölgenin seminifer epitel ve buradaki hücreler üzerine etkilerinin nicel analizi yapılmamıştır. Özellikle interstisyum alanı, kollajen ve elâstik liflerin dağılımı, myoid hücreler, Leydig hücreleri gibi özellikler sayısal olarak ortaya konulmamıştır.

Bu çalışmamızda, vazektominin testis morfolojisi üzerindeki etkilerinin stereolojik yöntemlerle nesnel olarak ortaya konulması, elde edilen verilerle testisteki hücresel etkileşimlerin daha iyi anlaşılması ve erkek infertilitesinin teşhis ve tedavisine katkıda bulunulması amaçlandı.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Testis ve Boşaltım Yollarının Anatomisi

Testisler oval şekilli olup yetişkin insanlarda yaklaşık 4-5 cm uzunluğunda, 2-5 cm eninde ve 20-30 g ağırlığında, funiculus spermaticusa asılı olarak skrotum içinde yerleşmiş, erkek üreme hücrelerinin (sperm) yapıldığı sert ve hareketli bir çift organdır. Kıvrımlı bir deri kesesi olan skrotumun iç yüzü skrotal septum (septum scrotum) ile iki ayrı bölüme ayrılır. Testisler bu boşluklarda bulunur (34).

Testislerin skrotum içindeki duruşları vertikal olmayıp, organın uzun eksenini yukarıdan aşağı ve önden arkaya eğik, biri (genellikle sol testis) diğerine göre 1 cm kadar daha aşağıda bulunur. Böylelikle günlük hareketlerde rahatsızlık verici çarpmalar olmaz (43, 62, 145).

Testisin, iç ve yan iki yüzü, ön ve arka iki kenarı, üst ve alt olmak üzere iki de ucu vardır. Alt kenar, periton ile kaplıdır. Arka kenarın iç bölümünde epididimisin gövdesine (corpus epididimidis) yerleşir. Arka kenarın orta kısmında testis damar ve sinirleri ile sperm kanallarının geçtiği vertikal bölme (mediastinum testis) denilen yapı bulunur. Epididimisin başına (caput epididimidis) testisin üst ucu üzerine yerleşmiştir. Testisin alt ucu ise cauda epididimidis ile örtülüdür (43, 62, 145).

Doğum öncesi dönemde karın boşluğunda yer alan testis, doğumdan hemen önce inguinal kanalı (canalis inguinalis) geçerek skrotuma iner. Testisler skrotuma yerleştikleri zaman karın içi sıcaklığından 3°C daha düşük sıcaklıkta bulunurlar. Skrotum içindeki testislerin sıcaklığının ne şekilde kontrol edildiği tam olarak anlaşılamamıştır. Fakat dartos kasının kasılmaları refleks olarak skrotum derisinin yüzey alanını değiştirebilir. Olasılıkla, testislerin sıcaklığının sabitlenmesinde ters yönde sıcaklık değişim mekanizması ile katkıda bulunur. Karından atardamarla gelen kanın sıcaklığı toplardamar tarafından alındığından testislere düşük sıcaklıktaki kan ulaştırılır (43, 62, 145).

Testis dıştan içe tunika vaginalisin lamina visseralis (epiorchium), tunika albuginea ve tunika vasküloza olmak üzere üç tabaka ile sarılıdır. Testisi örten lamina visseralisin altında tunika albuginea denilen fibröz bir tabaka bulunur. Bu tabaka testisin arka kenarından organın içine sokularak vertikal bölmeyi (mediastinum testis) oluşturur. Mediastinum testisin ön ve yan kısımlarından çıkan uzantılara septula testis adı verilir. Bu uzantılar testis yüzeyine doğru ışınal tarzda dağılarak tunika albugineanın iç yüzeyine tutunur ve testisi lobüllere ayırır. Her lobül içinde de tubuli seminiferi kontorti denilen kanalcıklar yer alır. Spermiler bu kanalcıkların duvarlarında gelişmelerini tamamlarlar. Seminifer tübüllerin başlangıç kısmı kıvrıntılı son kısmı ise düzdür. Bu düz kısımlar mediastinum testiste duktuli efferentes denilen testis kanalları aracılığıyla epididimise açılırlar. Epididimis ise testisin arka kenarı boyunca uzanan ve testisin damar ve sinirleriyle yan yana duran vas deferense bağlanır. Bütün bu yapılar spermatik kordu oluşturmaktadır. Spermatik kord içinde bulunan vas deferens, inguinal kanal tarafından karın duvarı boyunca uzanır. Daha sonra pelvik boşluğun yan duvarını geçerek idrar kesesinin arka yüzünde prostatla yakınlaşır yaklaşık olarak uzunluğu 45 cm olan bu kanal prostat bezine gelmeden genişleyerek ampulla duktus deferensi oluşturur (29, 34, 62, 138)

Mediastinum testisten duktuli efferenteslerden başka testisin damar ve sinirleri de girer ve çıkarlar. Testisin arterleri Abdominal aortun (aorta abdominalis) dalları olan testikular atardamarıdır (A.testicularis). Her bir testisin arka tarafından çıkan küçük venler birleşerek plexus pampiniformis denilen toplardamar ağı oluştururlar. Bu toplardamar ağdan önce iki, sonra da birer testikular toplardamar (V. testicularis) oluşur. Sağ V. testicularis V. cava inferiyora, sol V. testicularis ise V.renalis sinistraya açılır. Testisin sempatik sinirleri omuriliğin T10–11 segmentlerinden, parasematik sinirleri ise Vagus sinirinden (N. vagus) gelir. Bu sinirler damarların çevresinde organa ulaşır (34, 62).

Lenf damarları ise funiculus spermaticusu izler ve Nodi lymhatici preaortiki ve Nodi lymhatici lateralise açılır.

2.2 Testisin Embriyolojisi

Her ne kadar embriyonun genetik ve kromozomsal cinsiyeti, ovumu dölleyen sperm çeşidi ile dölleme sırasında belirleniyorsa da erkek ve dişi morfoloji özellikleri, embriyo döneminin 7. haftasına kadar gelişime başlayamazlar. Bu dönem her iki cinsten birbirine benzeyen genital sistemin “farklılaşmamış dönemi” olarak adlandırılır (22, 44, 49, 71).

Gonadlar üç kaynaktan gelişir.

- ◆ Karın arka duvarını döşeyen mezotel (mezoderm epiteli)
- ◆ Mezoderm epitelinin altındaki mezenşim (embriyonik bağ dokusu)
- ◆ Primordiyal germ hücreleri

Boyutları ve kromatin içerikleri soma hücrelerinden farklı olan insan primordiyal germ hücreleri 4. hafta başında kaudalde allantois çıkışının önündeki vitellüs kesesi içinde yer alır. Embriyonun katlanmasıyla beraber vitellüs kesesinin arka bölümü embriyonun içerisine geçer. Bu sırada primordiyal germ hücreleri amipsi hareketlerle arka mezenter üzerinden geçerek vitellüs kesesinden gonad kıvrımına göç ederler. 6. haftada da birincil cinsiyet kordonlarına yerleşmiş olurlar (95, 106, 133, 171).

Farklılaşmamış gonad taslağı mezenter kökü ile mezonefroz arasında yer alan sölom epitelinin kalınlaşması sonucu ortaya çıkar. Sölom epiteli, alttaki mezenşime doğru dallanan epitel kordonları (germ kordonları) şeklinde büyür ve vücut boşluğuna doğru çıkıntı oluşturan genital kıvrımı meydana getirir.

Mezonefroza oluşturduğu dar bağlantı, gelecekte meydana gelecek olan gonad mezenterinin k6k6n6 oluşturur (95, 106, 133, 171).

Kromozomsal cinsiyet d6llenmeyle belirlenir ve haploid spermin yeni organizmaya Y veya X kromozomunu aktarmasına bağlıdır. Y kromozomu varlığında farklılaşmamış gonad testise d6n6şmeye başlar. Testis belirleyici fakt6r6n sentezlenmesi (TDF) i7in, Y kromozomundaki d6zenleyici SRY genine (Y'nin cinsiyeti belirleyen b6lgesi) gereksinim vardır. Y kromozomu tarafından d6zenlenen testis belirleyici fakt6r testis farklılaşmasını sağlamaktadır. Bu d6zenleyici fakt6r6n etkisi ile medulladaki birincil cinsiyet kordonları seminifer t6b6llere farklılaşır (22, 44, 49, 71).

Erkek embriyoda germinal kordonlar gonad taslağının merkezinde ayrı olarak sınırlanarak testis kordonlarını oluşturur. Bu kordonlar tarafından sarılan germ h6creleri spermatogonyumları oluşturur. Spermatogonyumlar 7oğalmalarına ara vererek ergenliğe kadar dinlenme evresine girerler. Seminifer t6b6ller arasındaki gonad mezenşiminde Leydig h6creleri farklılaşır. Germ kordonlarının soma h6creleri ise seminifer t6b6llerin Sertoli h6crelerine d6n6ř6rl6r (71, 95, 106, 133, 171).

Testisin tunika albugineası i7inde gelişen damarlı bir bağ dokusu testis kordonlarını s6lom epitelinden ayırmaktadır. S6lom epiteli i7indeki germ h6creleri 6l6r ve epitel testisin periton 6rt6s6 halini alır (95, 106, 133, 171).

Testisin kordonları TDF etkisiyle gonadın medullasına doğru uzanarak birbirleriyle anastomoz yapar ve u7ları birleşen atnalı şeklinde kangallar rete testisi oluşturur. Her kangal testis lob6l6n6n seminifer t6b6lleri mezoneferik kanaldan

ortaya çıkan efferent kanalcıklara bağlanır. Seminifer tübüllerin lümeni ilk olarak ergenlikte spermatogenezin başlamasıyla ortaya çıkar (71, 95, 106, 133, 171).

Testisin Sertoli hücreleri Anti Mülleriyan Hormon (AMH), Leydig hücreleri ise testosteron üretirler. Hormonların salgılanması 8. haftada başlamaktadır. AMH ile Müller (paramezonefroz) kanallarının ileri gelişimi engellenir. Testosteron ile de Wolf (mezonefroz) kanalı epididimise dönüşerek erkek cinsiyet organlarının gelişmesini uyarır.

Mezonefroz kanalları duktus epididimis ve vas deferense farklılaşır. Bu yapılar mezonefroz tübüllerinden gelişen efferent kanalcıklarla testise bağlanmaktadır. Mezonefrozun giderek dejenere olmasıyla karnın her iki tarafında uzanan ve testislerin skrotuma inişinde kılavuzluk eden gubernakulum adı verilen bir bağ yer alır (22, 95, 106, 133).

28. haftada gubernakulum kasılırken testis ve epididimis karnın arka duvarı boyunca aşağıya kayar ve skrotuma iner. Testisin skrotuma inişinde karnın içi organların büyümesi ve karnın içi basıncın artmasının rol oynadığı düşünülmektedir. Periton inguinal kanalda ilerleyerek testis ve epididimisin üzerini sarar (22, 44, 71).

Tablo 1: Erkek ve Dişi Embriyolardaki Yapıların Yetişkindeki Türevleri (Carlson)

Farklılaşmamış Yapı	Erkek	Dişide
Genital kabartı	Testis	Ovaryum
Primordiyal germ hücreleri	Spermatozoa	Ovosit
Cinsiyet kordonları	Seminifer tübüller (Sertoli hücreleri)	Folikül (Granuloza) hücreleri
Mezonefroz tübüleri	Efferent kanallar Paradidimis	Epooforon Paraoforon
Mezonefroz (Wolf) kanalları	Epidimis apendiksi Duktus epididimis Duktus deferens Duktus ejakulatoryus	Ovaryum apendiksi Gartner kanalı
Paramezonefroz (Müller) kanalları	Testis apendiksi Utriculus prostaticus	Uterus tüpleri Uterus Vajinanın üst bölümü
Gelişmiş Ürogenital sinüs (alt kısım)	Üretranın penis bölümü	Vajinanın alt bölümü Vajina vestibülü
Erken Ürogenital sinüs (yukarı kısım)	İdrar kesesi Prostat üretra	İdrar kesesi Üretra
Genital tuberkül	Penis	Klitoris
Genital kıvrımlar	Penile üretranın tabanı	Labia minora
Genital şişlikler	Skrotum	Labia majora

2.3 Testisin Histolojisi

2.3.1 Testisin Genel Yapısı

Testis, epididimis ve vaza deferensin başlangıç kısmı, tunika vaginalis denilen mezotel döşeli boşluğu içine alan ve deriyle kaplı bir cep olan skrotum kesesi içinde yer alan çift organlardır. Bu yerleşim, testislerin vücut sıcaklığından 2–3°C daha düşük (yaklaşık 34°C–35°C'lik) ve spermatogenez için ile uygun sıcaklık sağlanmış olur (27, 32, 48, 51, 53, 57, 59, 69, 87, 90, 96, 110, 111, 130, 150, 153)

Testisler, haploid erkek gametin (spermatozoon veya sperm) devamlı olarak üretilmesi, beslenmesi ve geçici olarak depolanması ile erkek cinsiyet hormonlarının (androjenler) sentez ve salgılanmasından sorumludur.

Testis, stroma ve parenkimden oluşur. Testis stroması, rete testisin bulunduğu yerde kalınlaşarak mediastinumu oluşturan tunika albugina ile çevrelenir. Mediastinumdan testise doğru uzanan fibröz septumlar dokuyu lobüllere böler. Testis parenkimi ise her bir lobül içindeki seminifer tübüllerden oluşmaktadır (27, 32, 53, 57, 59, 153).

2.3.2 Seminifer Tübül Epiteli

Testisteki fibröz septumlar dokuyu 250–300 lobüle böler. Her bir lobül 1-4 seminifer tübülü içerir. İnsanda, iki testiste toplam olarak 800–1200 seminifer tübül bulunur. Her bir seminifer tübül yaklaşık 150 µm çapta ve 80 cm uzunluğundadır. Tübüllerin toplam uzunluğu 300–900 m'dir. Tüplerin iki ucu U şeklinde olup rete testise açılır. Rete testis seminifer epitel ürünlerini (spermiler, salgısal proteinler ve iyonlar) toplayan kanallar ağıdır (59, 87, 90, 96, 110, 130, 150, 153).

Seminifer tübül, merkezdeki bir lümen çevresinde bulunan ve Sertoli hücreleri ile spermatogenik hücreleri içeren özelleşmiş seminifer epitelden oluşur.

Seminifer tübüllerin aralıkları, lamina propria denilen ve iyi damarlanmış gevşek bağ dokusuyla doludur. Gevşek bağ dokusu içerisinde damarlar ve bunların da çevresinde Leydig hücresi kümeleri vardır. Bu dokunun fibröz bir karakter alarak kalınlaşması erkek infertilitesinde önemli bir durumdur (59, 87, 90, 96, 110, 130).

Seminifer epitel bazal bir membran ile kollajen lifler, fibroblastlar ve kasılabilir miyoid hücrelerden bir duvarla çevrelenmiştir.

2.3.2.1 Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri ergenliğe kadar seminifer epitelde bulunan baskın hücre tipidir. Bu hücreler, ergenlikten sonra seminifer tübüleri döşeyen hücrelerin yaklaşık %10'unu oluşturur. (27, 32, 59, 87, 90, 96, 110).

Sertoli hücreleri bazal laminadan seminifer tübül lümenine doğru uzanan prizmatik hücrelerdir. Tübüller arası boşluk ve seminifer tübül lümeni arasında köprü hücreler olarak görev yaparlar. Sertoli hücrelerinin apikal ve lateral hücre zarlarının düzensiz sınırları vardır. Çünkü gelişmekte olan spermatogenik hücelere kriptalar sağlayarak ev sahipliği yaparlar (27, 32, 59, 87, 90, 96, 110, 150).

Sertoli hücrelerinin çekirdekleri genellikle elips şekilli olup 1-2 derin çentik taşır. Çekirdek heterokromatinden fakir olduğundan soluk renkte gözüktür ve içinde koyu boyanan bir çekirdekçiği bulunur. Sitoplazmadaki mitokondri sayısı çok fazladır ve bunlar hücre eksenine paralel düzenlenmiştir. Golgi kompleksi çok büyüktür, fakat yanında salgı vezikülü ya da granülü yoktur. Granüllü endoplazma retikulumu ender olarak görülür ve hücrenin tabanında yerleşir. Granülsüz endoplazma retikulumu, spermatogenik döngünün bazı evrelerinde komşu spermatidin gelişmekte olan akrozomuna yakın olarak yerleşir. Sertoli hücresinde çok sayıda birincil lizozom, yoğun pleomorfik ikincil lizozom ve düzensiz şekilli lipokrom pigment çökeltileri bulunur. Hücreye özgü olan inklüzyonlara Charchot-Bottcher kristaloidleri denmektedir. Kristaloidlerin çapı 10–25 µm çapındadır (27, 32, 59, 87, 90, 110, 130).

Sertoli hücresinin zengin bir hücre iskeleti (vimentin, aktin, mikrotübüller) vardır. Aktin filamentleri hücre zarının hemen altında ve çekirdeğin etrafında bulunur. Mikrotübüller çekirdeğin yakınında ve üst bölgesinde bulunan

sitoplazmada aynı şekilde düzenlenirler. Bazolateral bölgelerinde, Sertoli hücreleri komşu Sertoli hücreleri ile sıkı bağlantıları oluşturur. Yan yana Sertoli hücreleri arasındaki bu sıkı bağlantılar (zonula okludens) kan-testis bariyerini oluşturur. Sıkı bağlantılar seminifer epiteli bazal ve adluminal kompartıman olmak üzere ikiye ayırır. Spermatogonyumlar bazal kompartımanda, spermatositler ise adluminal kompartımanı doldurur (27, 32, 48, 51, 96, 110, 150).

Bariyer, antikor dahil proteinlerin gelişmekte olan spermatogenik hücrelere ulaşmasını engeller. Spermier bağışıklık sistemi tarafından yabancı olarak tanınırlar. Çünkü cinsel olgunlaşma immün yeteneğın gelişmesinden çok sonra ergenlikte oluşur. Bu nedenle, farklılaşan spermatogenetik hücreler yabancı olarak tanınırlar ve bağışıklık yanıtı harekete geçerek eşey hücrelerinin haraplanmasına neden olan antikorları oluşturabilirler. Ancak, kan-testis bariyeri, bağışıklık sistemi ile eşey hücreleri arasında her türlü etkileşimi ortadan kaldırarak, antikorların seminifer tübüllere geçmesini önler ve spermatogenetik hücreleri oto-immün tepkilere karşı korur (35, 46, 48, 59, 87, 90, 110).

Sertoli hücreleri insanda ve diğier hayvanlarda üreme dönemi süresince bölünmezler. Bu hücreler, enfeksiyon, kötü beslenme, X-ışını irradyasyonu gibi olumsuz koşullara karşı spermatogenik seri hücrelerine göre çok daha dayanıklıdırlar.

Spermatozoonların salınımı olasılıkla hücresele hareketlerin sonucunda gerçekleşir. Bu hareketler, Sertoli hücresinin tepesinde bulunan mikrotübüller ve mikrofilamentler ile sağlanır. Sertoli hücreleri spermatogenetik hücrelerin bazal membrandan lümene doğru hareketlerinde etkin rol oynar (26, 32, 47, 50, 81, 84, 123).

Sertoli hücrelerinin işlevleri:

- ◆ Gelişmekte olan spermatogonik hücreleri desteklemek, korumak ve beslemek.
- ◆ Oluşturdukları bariyer ile gelişen sperm hücrelerini immünolojik saldırıdan korumak.
- ◆ Seminifer tübül lümenine genital kanallar yönünde akan ve sperm taşınması için kullanılan bir sıvı salgılamak.
- ◆ Seminifer tübül içinde spermatogenez için gerekli olan testosteronun yoğunlaşmasını sağlayan androjen-bağlayıcı proteini (ABP) salgılamak.
- ◆ Testosteronu östradiyol haline çevirmek.
- ◆ Ön hipofiz bezinden Folikül uyarıcı hormon (FSH) sentez ve salınmasını önleyen inhibin adlı peptidi ve FSH salınımı üzerine olumlu bir etki gösteren aktivini salgılamak.
- ◆ Embriyo gelişimi sırasında erkek fetüste Müller (paramezonefroz) kanallarının gerilemesini sağlayan bir glikoprotein olan AMH'yi salgılamak.
- ◆ Üreme hücrelerine demir taşıdığına inanılan testiküler transferrinin sentezlenmesi ve salgılanmasında görev almak.

2.3.2.2 Spermatogonyum

Spermatogonyumlar bazal kompartımanda bazal lamina ile doğrudan ilişkide olan diploid spermatogonik hücrelerdir. Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların altında bulunurlar ve bu nedenle kan-testis bariyerinin dışında yer alırlar.

Spermatogonyumlar spermatogonyum kök hücrelerinden köken alırlar. Ergenlikle beraber mitoz hücre bölünmeye başlarlar. Morfolojik olarak birbirinden

farklı iki tip spermatogonyum hücresi vardır: (1) Tip A spermatogonyum (insan testislerinde A-koyu ve A-açık spermatogonyumlar olarak gözlenir); (2) Tip B spermatogonyum. Tip A spermatogonyumlar, bazal membranda yerleşiktir ve granüllü bir çekirdekçiği bulunur. Tip B spermatogonyumun çekirdekçiği merkezde yerleşmiştir (53, 59, 87, 90, 173, 174).

Spermatogonyum kök hücrelerinin erkek fertilitesinde önemli etkileri vardır. Bu hücreler sessiz hücrelerdir. Bu nedenle radyasyon ve kanser kemoterapisine dirençlidirler. Mitoz ile bölünen spermatogonyumlar, mayotik olarak bölünen spermatositler ve farklılaşmakta olan spermatidler ise kanser kemoterapisine ve radyasyona duyarlıdır. Radyoterapi veya kanser kemoterapisinin sonlandırılmasından sonra, spermatogonyum kök hücreleri spermatogenik süreci tekrar başlatabilirler. Mitozu tamamlamış Sertoli hücreleri de bu tedavilere yüksek oranda dirençlidirler (53, 59, 87, 90).

2.3.2.3 Birincil ve İkincil Spermatositler

Mitoz bölünmeler geçirdikten sonra, tip B spermatogonyumlar, son S fazını (DNA sentezi) tamamladıktan hemen sonra mayoz bölünmenin profaz aşamasına girerler. Spermatogenik hücrelerin yaşam süresindeki asıl DNA sentez aktivitesinin bu son turu, mayozun profaz I aşamasına başlayan bir birincil spermatositin spermatogonyumuna göre iki kat DNA miktarına sahiptir (53, 59, 87, 90, 173, 174).

Spermatositler iki mayotik hücre bölünmesi geçirirler ve Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların hemen üzerinde, seminifer tübülün adluminal

kompartımanında yer alırlar. Dolayısıyla, mayoz bölünmeler kan-testis bariyerinin içinde gerçekleşir (26, 32, 173, 174).

Bir birincil spermatozoid iki adet ikincil spermatozoidi oluşturmak üzere birinci mayoz bölünmeye (veya redüksiyon bölünmesi) gider. İkincil spermatozoidler çok hızlı bir şekilde interfaz aşaması belirgin bir DNA sentezi olmadan geçer ve (sadece tamir DNA sentezi meydana gelir) ikinci mayoz bölünmeye (veya eşitleme bölünmesi) giderler. Her bir ikincil spermatozoid artık herhangi bir hücre bölünmesi göstermeden sperm şeklinde olgunlaşan iki adet spermatid meydana getirir.

Birinci mayoz bölünmenin sonunda, birincil spermatozoidin 4C DNA miktarı ikincil spermatozoidte 2C'ye düşer. İkinci mayoz bölünmenin sonunda 2C DNA miktarı C'e düşer. Meydana gelen spermatidler haploid spermatidlerdir ve spermiyogenez denilen karmaşık farklılaşma sürecini başlatırlar.

Birinci mayoz bölünme, çok kısa süren (dakikalar) ikinci mayoz bölünmeye göre uzun (günler) bir süreçtir. Bundan dolayı birincil spermatozoidler seminifer tübüllerde en bol gözlemlenen hücrelerdir.

2.3.2.4 Erken ve Geç Dönem Spermatidler

Mayoz bölünme sonucunda oluşan, haploid spermatidler seminifer tubul lümenine yakın adlüminal kompartımanında bulunan hücrelerdir. Spermatogenez aşamasında, spermatozoonun oluşumundan önceki en son hücrelerdir. Sertoli hücreleri tarafından beslenerek yeniden şekillenirler.

Erken spermatidler, yuvarlak ve poligonal şekillidirler. Çekirdeklerinde kaba heterokromatin bulunmaz. Belirgin bir golgi kompleksleri bulunur. Akrozom gelişmesinin kep aşamasında Periyodik asit Schiff (PAS) ile pozitif reaksiyon göstererek yuvarlak şekilli gözükürler (26, 32, 173, 174).

Geç spermatidler ise yine PAS pozitif reaksiyon göstererek akrozomlarının uzamış haliyle görünürler.

2.3.3 İnterstisyel Alan

2.3.3.1 Leydig Hücreleri

Leydig hücreleri, kıvrıntılı seminifer borucukları arasındaki üçgenlerde gruplanırlar. Ergenlik sırasında belirgin hale gelen, yuvarlak, poligonal şekilli merkezi bir nükleusu vardır. Küçük lipid damlacıklarından oluşan zengin eozinofilik bir sitoplazması bulunmaktadır. İki çekirdekli hücreler olağandır. Golgi kompleksi çekirdeğe yakındır. Salgısını, testosteron ihtiyacına göre sentezler ve biriktirmeden salgılar. Daha sonra bekletilmeden kana verildiğinden salgı granülleri yoktur. Çok sayıda tübüler kristali mitokondriyonlara sahiptir ve asidofil sitoplazmalarında yağ damlacıkları içerirler. Dikkat çekici özelliği geniş granülsüz endoplazma retikulumudur. Granülsüz endoplazmik retikulum sitoplazmalarında androjenik steroidlerin biyosentezi için gerekli enzimler bulunur. Sitoplazmalarında, ayrıca peroksizom, lizozomlar ve yaşla artan miktarlarda lipokrom pigment birikintileri de mevcuttur. Leydig hücreleri bu özellikleri ile steroid salgısı yapan hücelere benzerler (53, 59, 87, 90).

Leydig hücrelerinde insana özgü olan renksiz, azokarmin ile boyanan ve büyüklükleri değişabilen Reinke kristalleri bulunmaktadır. İşlevleri bilinmemektedir. Bu kristaller, elektron mikroskobunda düzgün kristal kafesler şeklinde izlenir (53, 59).

Leydig hücreleri, ikincil seks hareketlerinin gelişmesinden sorumlu erkeklik hormonu olan testosteronu üreterek spermatogenezisi devam ettirir. Testosteron, mitokondri ve düz endoplazma retikulumunda bulunan enzimlerce sentezlenir. İnterstisyel hücrelerin hem aktiviteleri ve hem de miktarları hormonal uyarımlara bağlıdır. Embriyonik gelişim sırasında, plasental gonadotropik hormon anne kanından fetusa geçerek, androjenik hormonları üreten fetal testiküler interstisyel hücreleri uyarır. Hormonlar, embriyonik farklılaşmada erkek genital organlarının gelişmesi için gereklidir. Embriyonik interstisyel hücreler insan hamileliğinin 4 ½ ayına kadar farklılaşmış olarak kalırlar. Daha sonra ise testosteron sentezindeki azalmaya bağlı olarak gerilerler. Hücreler, gebelik boyunca ve hipofizden salınan luteinizan hormon uyarımı altında testosteron sentezini yeniden yapmaya başladıkları ergenlik öncesi döneme kadar dinlenmede kalırlar (53, 69, 87, 90).

Olgun Leydig hücreleri, doğumdan sonraki birkaç hafta dışında, 10 yaşına kadar erkek çocuk testisinde bulunmaz. Leydig hücrelerinin sayıları, ergenlikle birlikte artarak ileri yaşlarda azalır. Leydig sayısı, 60 yaşındaki bir erkekte göre 20 yaşındaki bir erkekteki sayının yarısından da az sayıdadır (53, 69).

2.3.3.2 Myoid Hücreler

Seminifer tübül epitelini çevreleyen lamina propria bağ dokusundan oluşmaktadır. Myoid hücreleri (peritübüler kontraktıl hücreleri) ve kollajen lifler seminifer epitelin dış bazal laminasında yer alır. Spermatogenez ile ilgili olarak kemirgenlerde yapılan çalışmalarda lamina propriyanın tek katlı myoid hücrelerden oluştuğu bildirilmiştir (90, 130).

Myoid hücreler ultrastrüktürel olarak incelendiğinde, sitoplazmasında aktin filamentlerini içerdiği ve bazal zarının olmasıyla düz kas hücrelerine benzediği gösterilmiştir. Fibroblastlarda bulunan granüllü endoplazma retikulumları sayesinde kollajen sentezinde görev almaktadır (53, 90, 130).

Miyoid hücreler, hareketsiz spermleri rete testise ilerleten ritmik kasılma hareketlerinden sorumludur. Spermler bu sayede duktus epididimise ulaşır ve burayı geçtikten sonra hareket etme özelliklerini kazanırlar.

2.3.4 İnterstisyel Bağ Dokusu

Testis kütleinin %25-30'unu gevşek bağ dokusu oluşturur. Bu ara doku içerisinde Leydig hücreleri, fibroblastlar, mast hücreleri, Leydig hücrelerine dönüşebilen farklılaşmamış mezenkimal kökenli hücreler, kılcıl damarlar, lenf damarları ve sinirler bulunur (96, 130, 145,).

2.3.5 Spermatogenez

Spermatogenez, birçok karmaşık olaylar dizisini içeren, spermilerin üretilme işlemidir. Bu işlem, hipofiz gonodotropinleri etkisiyle ergenlikten hemen önce başlayarak, bütün yaşam boyunca devam etmektedir (75, 90, 130, 173, 174).

Spermatogenez olayı, spermatogonyumdan sperm oluşumu sırasındaki çoğalma ve hücresel değişiklikleri kapsamaktadır.

2.3.5.1 Spermatozitoz

Tip A spermatogonyaya bir dizi bölünmeye uğrayarak sayıca çoğalır ve Tip B spermatogonyayı oluşturur. Oluşan son spermatogonyumun da bölünmesiyle birincil spermatozitler meydana gelir.

İlkel Tip A spermatogonyumlar, 4 kez mitoz bölünme geçirerek 16 adet daha ileri farklılaşmış Tip B spermatogonyumları meydana getirir. Bu evrede spermatogonyaya Sertoli hücrelerine doğru ilerleyerek, Sertoli hücreleriyle taban ve yan yüzlerinden sıkı bir bariyer oluşturur. 24 günlük bir zamandan sonra, Sertoli bariyerinden geçen her spermatogonyum büyüyerek, daha büyük yuvarlak hücreler olan birincil spermatozitler halini alır. Tip B spermatogonyumdan oluşan birincil spermatozitler, birinci mayozun profazına girerler (26, 59, 75, 90, 130, 173, 174,).

2.3.5.2 Mayoz

Spermatositlerin interfaz olmadan ardışık iki bölünme sonrası kromozom sayısını yarıya indirmesi ve spermatid kümelerini oluşturması olayıdır. Spermatositler oluşuktan hemen sonra birinci mayoz bölünmenin profazına girerler. İnirgenme bölünmesine giren birincil spermatositin 46 (2n) kromozomu vardır ve DNA'sı da 4 C'dir. n haploid kromozom sayısını (insanlarda 23 adettir) C'de bu kromozomlardaki DNA miktarını belirtmektedir. Birincil spermatositler, kromozomların şekil farklılıkları, homolog kromozom çiftlerinin ilişkisi ve yoğunlaşma derecelerine göre ayırt edilebilmektedir. Leptoten evresinde kromozomlar uzundur ve histolojik olarak ayırt edilmesi zordur. Zigoten evresinde, homolog kromozomlar eşleşerek, haploid sayıda sinaptik çift yaparlar. Pakiten evresinde, kromozom çiftleri boylamasına kasılır, kalınlaşır ve krosingover başlar. Bu şekilde görünümüleri kolaylaşır ve bu görünüme tetrat denir. Diploten evresinde krosingover sonlanır, en son faz olan dikinezde homolog kromozomların krosinover yapan bölümleri birbirinden ayrılır (26, 75, 130, 173, 174).

Birinci mayoz bölünmeden sonra ikincil spermatositler denilen ve 23 (n) kromozom (22+X veya 22+Y) içeren, daha küçük hücreler oluşur. Kromozomlardaki sayıca azalma (46'dan 23'e) her hücredeki DNA miktarının eksilmesi (4 C'den 2 C'ye) ile birlikte olur. İkincil spermatositler, interfazda kısa süre kalır ve bunu takiben ikinci mayoz bölünmeye girer. Bu nedenle testis kesitlerinde gözlenmesi zordur (26, 95, 75, 130, 173, 174).

Spermatidler, 23 kromozom içeren ikincil spermatositlerin bölünmesi ile meydana gelmektedir. Birinci ve ikinci mayoz bölünmeleri arasında spermatositlerde S fazı (DNA sentezi) görülmediği için ikinci bölünmeden sonra her bir hücredeki DNA miktarı yarıya iner (C) ve haploid (n) hücreler meydana gelir. Döllenme ile bunlar normal diploid sayıya dönerler. Hücre bölünmesindeki indirgeyici işlev nedeniyle mayoz süreci kromozom sayısının türler için sabit, belirli bir miktarda kalmasını sağlar (75, 95, 130,173, 174).

2.3.5.3 Spermiyogenez

Spermatidin spermatozoaya dönüştüğü mayoz sonrasındaki geçirdiği değişiklikleri içermektedir. Haploid spermatidler seminifer tübül lümenine yakın adluminal kompartmanında yerleşmişlerdir. Spermatidler, Sertoli hücre sitoplazma kriptaları içinde gömülüdürler.

Spermatidlerin sitoplazmasında mitokondri, bir sentriyol çifti, serbest ribozomlar ve granülsüz endoplazma retikulumu bulunur, çekirdeğinin hemen yanında ise Golgi kompleksi yer almaktadır.

Spermatidler, spermiyogenez adı verilen hücrenin spermatozoaya dönüştüğü süreçten geçerler. Spermiyogenez, spermatogenezin son aşamasıdır.

Spermiyogenez dört faza ayrılabilir (26, 75, 90, 95, 130, 173, 174).

2.3.5.3.1 Golgi Fazı

Bu fazda PAS ile pozitif boyanan granüller spermatidin Golgi komplekslerinde yoğunlaşırlar. Bu proakrozomal granüller glikoproteinden zengindir ve birleşerek zarla çevrili akrozom vezikülüne dönüşürler.

Bu faz sırasında vezikül, içerikleriyle beraber genişlemeye başlar. Akrozom vezikülü, gelişen spermin ön kutbunda yerleşiktir. Bu fazın sonlarına doğru sentriyol spermatidin ön kutbundan arka kutbuna göç eder.

2.3.5.3.2 Kep Fazı

Akrozom kesesi büyüyerek çekirdek zarına tutunan bir kep oluşturur ve bu kep çekirdeğin çevresini sarmaya başlar. Bu arada çekirdekteki yoğunlaşma devam eder.

2.3.5.3.3 Akrozom Fazı

Akrozom kesesi ve granülü, yoğunlaşan çekirdeğin ön yarısını kaplayacak şekilde yayılır ve artık akrozom adını alır. Akrozom hyaluronidaz, nörominidaz, asit fosfataz ve tripsin benzeri aktivitesi olan proteaz gibi bazı hidrolitik enzimleri içerir. Bu yüzden akrozom lizozomun özelleşmiş bir tipi gibidir.

Bu fazda spermatid kendisini yeniden düzenleyerek başını Sertoli hücrelerine doğru gömülü bir biçimde tutar. Gelişen flagellum ise seminifer tübül lümenine uzanır. Spermatidin yoğunlaşan çekirdeği yassılaştır ve uzar. Aynı zamanda akrozom hücre zarının ön kısmına hareket eder. Sitoplazmadaki mikrotübüller organize olarak silindir haline gelirler ve çekirdeği çevreleyen manşet meydana gelir.

Spermatidin flagellumu distal sentriyolden oluşmaktadır. Flagellum keratin içeren dış yoğun lifler ve bir fibröz kılıf ile çevrilidir. Aksonem eş merkezli 9 + 2 mikrotübül çiftlerinden oluşur. Kuyruğun proksimal bölümünde ise sarmalımsı bir kılıf oluşturan mitokondri vardır. Hücre zarı gelişen flagellumu da sarar. Bu sırada manşet kaudale doğru ilerler. Mitokondri ise flagellumun proksimal parçası etrafında toplanarak orta parçayı oluşturur (75, 95, 173, 130, 174).

Çekirdekteki kromatin yoğunlaşır. Somatik histonlar arjinin ve lizinden zengin protaminlerle yer değiştirerek sperme özel histonlara dönüşür.

2.3.5.3.4 Olgunlaşma Fazı

Bu son fazda spermatid sitoplazmasında oluşan artık cisimler spermiyasyon aşamasında bırakılır ve Sertoli hücrelerince fagosite edilir.

Spermatidin olgunlaşma evresi sırasında mitokondri gelişen flagellum boyunca dizilişlerini tamamlarlar. Spermatidler tübülün lümenine doğru hareket ederler. Sertoli hücreleri ile aralarındaki sitoplazmik köprüler varlığını sürdürmektedir.

Seminifer epitelde belirli spermatogenetik hücreler sadece diğer belirli spermatogenetik hücrelerle bağlantılıdır. Seminifer tübül şeritinde farklı hücre gruplarının bir serisi bir döngü tamamlanıncaya kadar devam eder.

Belirgin bir seminifer tübül alanında, aynı hücresel gruplaşmanın, iki defa ortaya çıkması arasındaki ardışık basamaklar serisi, seminifer tübül döngüsüdür. İnsanda bir döngü 6 evreden oluşur ve her döngü 16 gün sürer. Bir spermatogonyumun olgun bir sperm haline gelebilmesi için 4 döngü sonunda 64 gün geçirmesi gereklidir Canlı sıçanda ise bir seminifer tübül şeridi boyunca bir döngü 14 basamaktan oluşur ve 12–14 gün sürer. 3H timidin ile yapılan çalışmalar sonucunda spermatogonyumdan spermin meydana gelme süresi toplam 54 gün olarak hesaplanmıştır (26, 75, 90, 95, 130, 173, 174).

2.4 Testisin Histofizyolojisi

Spermatogenezin düzenlenmesinde sıcaklık çok önemlidir. Spermatogenez, 37°C olan vücut içi sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda meydana gelir. Testis sıcaklığı yaklaşık olarak 35°C'dir. Zengin bir venöz ağ olan pampiniform pleksus testis arterlerinin etrafını sarar. Bu ağlar testis sıcaklığının sürdürülmesinde önemlidir ve sıcaklığı dağıtmak için ters yönlü akımla sıcaklık değişimini sağlamaktadır. Soğuk günlerde, skrotum kası refleks olarak kasılarak testisleri yukarı doğru çeker, testislerin vücuda yaklaştırılması ile 2°C'lik farkın sürekliliği sağlanabilir. Bu şekilde, skrotum teorik olarak, testislere özgül soğutma mekanizması olarak görev yapar (57, 69, 90, 138).

Spermatogenez üzerinde endokrin faktörler de etkilidir (26, 57, 61, 69, 75, 95, 130).

Testosteron: Leydig hücreleri tarafından salgınır ve spermatogenetik hücrelerin gelişmesi için gereklidir.

Folikül Uyarıcı Hormon (FSH): Ön hipofizden salgınır. Sertoli hücrelerini etkiler. Adenil siklaz yapımını, döngüsel adenozin trifosfat (cAMP) artışını uyarır. Aynı zamanda ABP'nin sentez ve salgılanmasını harekete geçirir. Daha sonra bu protein testosterona bağlanarak bu hormonu seminifer tübül lümenine taşır. Böylece spermatogenez uyarılmış olur. Bu uyarı olmazsa spermatidlerin sperme dönüşmesi gerçekleşmez.

Östrojen: FSH sonucunda uyarılan Sertoli hücrelerinde testosterondan yapılmaktadır.

Luteinleştirici Hormon (LH): Leydig hücreleri üzerine etki ederek normal spermatogenik hücrelerin gelişimi için gerekli olan testosteron yapımını uyarır. Hipofizden LH salgılanması negatif geri besleme ile düzenlenir. Testosteron sentezinin artması LH salımını baskılar.

İnhibin: Bu hormon Sertoli hücrelerinde yapılır ve FSH salınımını geri besleme mekanizmasıyla düzenler. İnhibin sürekli salınırsa FSH baskılanır. Üreme hücresi sayısı azalınca da FSH artar.

İnsanda günlük sperm üretimi testis başına 94,6 milyon olarak hesaplanmıştır. Spermier dişi üreme yollarında normalde mevcut olan sıvı akıntısına karşı hareket etme yeteneğine sahiptir ve bu özelliğine pozitif reotaksis denir. Spermier dişi üreme yollarında bazı kimyasal maddeler tarafından ise kendisine doğru çekilir ve bu özelliğe de pozitif kemotaksis denir (53, 57, 69, 75).

Kan ve seminifer tübüllerin iç bölgesi arasında bir bariyerin olması testiküler sıvı içinde kandan birkaç maddenin bulunduğu anlamına gelmektedir. Kan testis bariyerinden Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar sorumludurlar ve erkek germ hücreleri kandan gelecek zararlı maddelere karşı bu şekilde korunurlar (53, 57, 90, 110).

Sertoli hücrelerinin farklılaşması sperme özgü proteinlerin ortaya çıkmasına yol açar. Cinsel olgunlaşmanın immünokompetansın gelişmesinden uzun bir süre sonra ortaya çıkması sebebiyle farklılaşan sperm hücreleri yabancı olarak tanınabilir ve germ hücrelerinin ölümüne sebep olabilecek bir bağışıklık yanıtını tetikleyebilirler. Kan-testis bariyeri, gelişen spermier ve bağışıklık sistemi arasındaki herhangi bir etkileşimi önler. Bu bariyer seminifer tübüllere immünoglobulinlerin geçmesini önler, bu da serumlarında çok yüksek düzeylerde sperm antikorları bulunan hastalarda döllemedeki bozukluğu açıklar. Sertoli hücre bariyeri böylece seminifer epiteli herhangi bir otoimmün tepkiden de korumuş olur (1, 26, 90, 110, 130).

2.5 İnfertilite Hakkında Genel Bilgiler

2.5.1 İnfertilite Nedir?

İnfertilite, çiftlerin çocuk istemelerine, düzenli cinsel ilişkide bulunmalarına ve korunma yöntemlerini kullanmamalarına karşın 1 yıl içerisinde kadının gebe kalamamasına denir. Normal koşullarda çiftlerin %80-85'i ilk yılın sonunda gebe kalmaktadır. Geri kalan %10-20'lik çiftlerde ise infertilite sorunu bulunmaktadır (2, 18, 75, 158).

2.5.2 İnfertilite Nedenleri

Kadın ve erkeklerde üreme sistemlerinin temel işlevi kadın ve erkek gamet hücrelerinin üretilmesi ve üreme hormonlarının salgılanmasıdır. Bu işlevlerin kusursuz olarak yerine getirilebilmesi için, her iki cinsten de normal genetik yapı, anatomik olarak sağlam ve işlevsel bir hipotalamus ve hipofiz gereklidir (2, 39, 158).

Üreme işlevinin eksiksiz ve sorunsuz olarak gerçekleşebilmesi hem kadın hem de erkeğin anatomi, fizyoloji, endokrin ve bağışıklık sistemlerinin tam bir bütünlük ve uyum içerisinde çalışmasına bağlıdır. Tersine bir durum, üreme işlevinde bozulmaya ve infertilite sorununun yaşanmasına neden olmaktadır (2, 18, 39, 45, 134, 137).

2.5.2.1 Kadınlarda İnfertilite nedenleri

- ◆ Yumurtlama bozuklukları
- ◆ Fallop tüplerinin hasarlı veya tıkalı olması
- ◆ Endometriyoz
- ◆ Serviks uteriye ait nedenler
- ◆ Uterusa ait nedenler
- ◆ Diğer nedenler

2.5.2.2 Erkekte İnfertilite Nedenleri

Çiftlerin %40-45'inde infertilite nedeni erkek kaynaklıdır. Erkek infertilitesi, sperm sayısı ve kalitesini etkileyen üretim bozukluklarından ve sperm dışarıya taşınmasını sağlayan kanallardaki bozukluklardan kaynaklanabilmektedir (18, 50, 137, 144).

- ◆ Anormal sperm üretimi ve işlevi
- ◆ Azoospermi
- ◆ Düşük sperm konsantrasyonu
- ◆ Varikosel
- ◆ İnmemiş testis (kriptorşidizm)

- ◆ Testosteron eksikliği (erkek hipogonadizmi)
- ◆ Klinefelter Sendromu (47, XXY)
- ◆ Enfeksiyonlar
- ◆ Sperm taşınma yollarında bozukluklar

2.6 Vazektomi Hakkında Genel Bilgiler

2.6.1 Kontrasepsiyon Yöntemleri

İnsanların üreme isteği soyunu sürdürme gereksiniminden kaynaklanmaktadır. İnfertilite kadar önemli bir sorun da bütün dünyada yaşanan ve nüfus artışına sebep olan istenmeyen gebeliklerdir. Gerek annenin ve gerekse çocuğun sağlığı açısından ailenin bakabileceği kadar çocuk yapması hedeflenmektedir. Bunun aynı zamanda hem aile ekonomisine hem de ülke ekonomisine önemli katkıları olabileceği düşünülmektedir. Gebelik doğal bir olay olsa da gebelik kanaması, gebelik zehirlenmesi, doğum sonu kanama ve iltihaplanmalar gibi birçok zorluğu da bulunmaktadır (6, 18, 50, 74, 76, 99, 103, 161).

Ülkemizde çiftlerin %39'una aile plânlaması için kontrasepsiyon yöntemleri uygulanmaktadır (50, 92).

2.6.1.1 Kadının Kullanabileceği Yöntemler

- ◆ Rahim içi araç (spiral)
- ◆ Doğum kontrol hapları
- ◆ Aylık ve üç aylık enjeksiyon yöntemleri
- ◆ Ön kola takılan cilt altı çubuklar (implant)
- ◆ Spermisitler (sperm öldürücüler)
- ◆ Kadınlarda tüplerin bağlanması

2.6.1.2 Erkeğin Kullanabileceği Yöntemler

- ◆ Geri çekme
- ◆ Kondom (prezervatif, kaput, kılıf)
- ◆ Hormonal kontrasepsiyon yöntemi
- ◆ Vazektomi (gönüllü sterilizasyon)

2.6.1.2.1 Vazektomi (Gönüllü sterilizasyon)

Vazektomi, erkeklerde bütün dünyada giderek yaygınlaşarak uygulanan, diğer kontrasepsiyon yöntemlerine göre en etkili, güvenilir ve kalıcı bir kontrasepsiyon yöntemidir. Her yıl Çin’de yaklaşık 8 milyon, ABD’de ise 500 bin erkeğe bu yöntem uygulanmaktadır. Türkiye’de ise bu sayılar çok düşüktür. Erkeklerle uygulanan vazektomi yöntemi, kadınlara uygulanan tüplerin bağlanmasına oranla daha az kullanılmaktadır. Erkeklerde uygulanan vazektomi yöntemi aslında kadınlara uygulanan tüplerin bağlanması yöntemine göre daha ucuz, kolay ve komplikasyonları daha az olmasına rağmen erkekliklerini kaybedecekleri korkusu nedeniyle pek tercih edilmemektedir (6, 9, 17, 30, 31, 37, 80, 92, 99, 103, 112, 117, 137, 146, 161).

Vazektominin ilk olarak uygulanması 1785 yılına kadar uzanmaktadır. 1822 yılında testisin yapısı ve hastalıklarını anlamak amacıyla köpeklerin testis arteri ve veni bağlanmıştır. Daha sonra 1847 yılında araştırmacılar, insan kadavraları üzerinde de vas deferensini bağlamışlardır. Deneysel olarak vas deferensini bağlanması ise köpeklerde denenmiş, çalışmalar tavşanla devam etmiştir. İnsanlarda vas deferensini bağlanması, ilk olarak 1897 yılında Dr. H. G. Lennander tarafından İsveç’de

uygulanmıştır. Yine o yıllarda Dr. Sharp, o zamanki ırksal sterilizasyonu sağlamak amacıyla operasyonu daha uygun bir hale getirmiştir. 1900 yılından itibaren bilim adamları bu konudaki çalışmalarını deneysel olarak geliştirmiştir. Köpekler ve keçiler üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda testisteki germinal dokunun dejenerasyona uğradığını gözlemişlerdir. Çalışmalar daha sonra 1921'de sıçanlardaki uygulama ile sürmüştür. Bu yıllarda Kaliforniya'da 6 bin insana vazektomi yapılmıştır. 1951 yılından başlayarak, vazektomili olduğu halde eşi gebe kalan bir kişi nedeniyle vazektomi konusundaki çalışmalar giderek hız kazanmıştır (13, 45, 160, 176, 179).

Vazektomi sonrasında görülebilecek değişikliklerden bazıları aşağıda belirtilmiştir (9, 17, 30, 31, 76, 77, 85, 86, 92, 117, 137, 146, 148, 155, 161).

Sperm granülomu: Granülom oluşumu, vazektomi yerinde meydana gelir. Vas deferensin testiküler ucundaki vas deferens sıvısının sızıntısı sonucu şekillenir. Yapılan çalışmalarda, granülomun epididimis ve rete testisteki bir deliğin yaptığı zarardan da kaynaklanabileceği bulunmuştur. Sperm ve testiküler sıvının bu delikten sızmasına bağlı olarak önceden korunan bu gametlerin antijenlerine karşı antikorlar üretilir. İnce duvarlarla çevrili epididimis ve rete testis, koyulaşan sperm ve epididimis sıvısının ve buradaki materyale karşı oluşan antijen antikor komplekslerinin çökmesiyle tıkanır. Tıkanma sonucu oluşan bu yapıya sperm granülomu denir.

Ateroskleroz: Vazektomi sistemik olarak ateroskleroza neden olabilir. Kişinin kendi spermelerine karşı olan antikorlar dolaşımında gözükür.

Epididimit: Vazektomi yerindeki inflamasyon sonucunda epididimisteki şişmeye bağlı olarak gelişir. Bu durum genellikle ilk 2 yıl içerisinde görülür.

Prostat ve testis kanserleri: Testosteron vazektomili erkeklerde uzun süre için yüksek kalmaktadır. Bu durum prostat ve testis kanseri riskini artırabilir.

Rekanalizasyon: Vas deferensin geriye doğru büyümesidir. Bu durumda vazektomili erkek tekrar fertil hale gelir. Tekrar gelişen kanal orijinal kanaldan genelde daha küçüktür.

2.7 Stereoloji Hakkında Genel Bilgiler

2.7.1 Stereolojinin Tarihçesi

Stereoloji Yunancadan köken alan ve bir nesnenin 2 boyutlu mikroskobik görüntüleri üzerinde yapılan ölçümlerle, nesnenin 3 boyutlu bilgilerine ulaşılması yöntemi anlamına gelen bir terimdir. Stereoloji terimi bilim dünyasına 1961 yılından itibaren girmiştir. Biyologlar, materyal bilimciler, jeologlar ve mühendisler tarafından kullanılmaya başlanmıştır. Almanya’da bir biyolog olan Prof. Dr. Hans Elias bu terimi nesnelerin iki boyutlu görüntüsünden 3 boyutlu yorumunu yapabilme olarak açıklamış ve bilim dünyasına bu terimi tanıtmıştır (21, 94, 108, 109, 136).

1637’de Galileo’nun öğrencisi Bonaventura Cavalieri üç boyutlu bir nesnenin birbirine paralel dilimlere ayrılarak hacminin hesaplanabileceğini bulmuştur. 1777’de George Leclere Buffon iğne problemini geliştirmiştir. Bir grid üzerine rastgele attığı iğnelerle grid çizgilerine raslayan iğne kısımlarının sayısını hesaplamıştır. Bu problemle tarafsız bir biçimde yüzey alanını ve biyolojik nesnelerin uzunluklarını ölçmede kolaylık sağlamıştır. 1847’de jeolog ve mühendis Auguste Delesse, kaya parçasındaki minerallerin kaya parçasının yüzeyine ve şekilleri klâsik olmayan nesnelerin rastgele seçtiği iki boyutlu kesitlerine bakarak, tahmini hacimlerini hesaplayarak o yapıyı nasıl temsil ettiğini araştırmıştır. Delesse’nin ilkesi homojen yapıları temel almıştır. Günümüzde bu ilke ile izotropik ve tek tip rastgele kesitler olan homojenize yapıların uzunluk, alan ve hacimleri ölçülebilmektedir. 1925 yılında matematikçi S.D. Wicksell biyolojik nesnelerin sayısını hesaplamada “tanecik” problemini geliştirmiş ve tiroid bezindeki tiroid foliküllerinin sayısını örneklemiştir. Tiroid bezinden aldığı doku kesitlerini

inceleyerek gördüğü belirli doku hacmindeki foliküllerin sayısını hesaplamış ve birim hacim veya yoğunluğu N_v olarak belirtmiş ve bir doku kesitine bakarak bütün foliküllerin sayısının (N_A) hesaplanamayacağını göstermiştir. 1984 yılında D.C. Sterio tarafından disektör yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntemle, verilen bir doku hacminde nesnelere sayısı boyutları doğru olarak hesaplanabilecekti. Bu yöntem corpuscle probleminin düzenlenmiş haliydi. Daha sonra 1970'lerde H. J. Gundersen iki sanal düzlemi bir disektör çifti olarak kullanmış ve disektör yöntemini iyileştirmiştir. 1960'lı yıllardan itibaren stereolojik metodoloji ve mikroskopi biyologlarca kullanılarak dokuları, hücreleri, damarları ve diğer üç boyutlu yapılar hakkında iki boyutlu görüntülerinden yola çıkarak yorumlar yapılmaya başlanmıştır. Farklı alanlarda çalışan bilim adamları çeşitli pratik yaklaşımları da beraberinde getirmişlerdir (21, 108, 136).

2000'li yıllara gelindiğinde modern stereolojinin temelleri atılmıştır. Son yıllarda gelişen yeni kuşak görüntü analiz programları ile entegre, Z ekseninde de hareket eden mikroskopların üretilmesi ile ve gerçelliği matematiksel olarak kanıtlanan sondaların çeşitliliğinin artması, araştırmalarda alan çeşitliliği geliştirmiş ve stereoloji daha yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Böylece nitel ağırlıklı yapılan çalışmalara objektif nicel parametreler getirmiştir (12, 52, 79, 114, 147, 151, 170).

2.7.2 Stereolojinin Temel İlkeleri

Stereoloji mikroskobik yapıların sayı, uzunluk, alan ve hacim gibi sayısal verileriyle uğraşan bir bilim dalıdır. Stereoloji metodolojisinin bazı ilkeleri bulunmaktadır (21, 28, 65, 66, 108, 109, 120, 124, 131, 139, 149, 165).

Bilimin temelini *tarafsızlık (objektivite)* oluşturur. Her bilimsel çalışmada olduğu gibi stereolojinin kendine özgü ve tarafsızlık temelli yöntemi bulunmaktadır. Örneklemeye yöntemi ancak belli kurallara göre yapıldığında gerçek değerlere yakın tarafsız veriler elde edilebilir. Tarafsızlık ilkesi, tekrarlayan ölçümlerle gerçekliğe yaklaşan, tekrarlandıkça gerçek değerlerden sistematik bir sapma göstermeyen ölçümleri belirtmede kullanılır. *Etkinlik*, kısa zamanda daha az değişkenlik gösteren sonuçların elde edilmesini sağlamaktır. Stereolojiye uygun örneklemeye yapılarak bütün yapı hakkında daha kısa zamanda ve gerçeğe yakın sonuçlar elde edilebilir. *Kesinlik*, yapılan ardışık sayımların birbirine yakın sonuçlar vermesidir. Stereoloji ile çalışırken bilimsel çalışmalardaki *doğruluk* önem kazanmaktadır. Doğruluk gerçeğe yaklaşmak anlamındadır. Örneğin, bir dokuda 1 milyon adet hücre olsun ve biz 500 bin adet saymış olalım. Eğer bir tahmin doğrudan uzaklaşırsa uzaklaşma oranına göre doğruluğu zayıflar (21, 28, 66, 63, 108, 136).

Genel bir toplum ya da bütünde örneklemeye yapıldığında yine de hata payı vardır. Stereolojideki diğer bir kavram da izdüşüm ve boyut azalması ilkesidir. Bu stereolojik çalışmalarda da geçerlidir. Burada kabul edilebilir hata payı %2–5

arasında olmalıdır. İzdüşüm, boyut azalması, herhangi bir nesne 2 boyutlu bir düzlemle kesişmesi durumunda normalde 3 boyutlu uzaydaki n boyutlu yapısına bağlı olarak $n-1$ boyutlu bir kesişim (izdüşümü) verirler. Bu kesitleri oluşturan her bileşen, sayısı, büyüklüğü, kapladığı uzunluk, alan ve hacim oranıyla ilişkili bir biçimdeki izdüşümler (profiller) oluşturur. Dolayısıyla 2 boyutlu kesitlerde hacime sahip olan yapılar tek boyutlu çizgiler olarak ve tek boyutlu çizgiler ise boyutsuz (sıfır boyutlu) noktalar olarak örneklenirler. Bu izdüşümler de yapının içerdiği bileşenler hakkında bilgi almak üzere kullanılmaktadır (21, 65, 66, 108, 109, 120, 124, 127, 131, 139).

2.7.2.1 Sistemik Rastgele Örneklem

Canlı dokular üzerinde yapılan niceliksel (sayısal) çalışmalarda, sistemik ve tarafsız bir örneklem yapılmalıdır. Çalışılan yapının her noktasına eşit örneklem şansı verilmesi sistemik rastgele örneklem değildir. Çoğunlukla bir yapı ya da topluluğu temsil eden küçük örnekler temel alınır. Eğer yapılan bu yorum, tüm yapı ya da topluluklar için geçerli olacaksa, örneğin de o yapı ya da topluluğu doğru temsil etmesi istenmektedir. Yeterli örneklem yapıldığına inanılırsa ölçümler toplanıp ortalaması alınır. Bu farklı kesitlerde aynı yöntemle tekrar edilirse sonuçlar birbirinden farklı olsa da fikir sahibi olunur (65, 66, 108, 109, 119, 120, 124, 131, 139)

2.7.2.2 Geometrik Sondalar

Stereolojide kullanılan sonda (prob) ilgilenilen yapıya, elde edilmek istenen veriye bağı olarak sorulan geometrik sorulardır. Sondalar, ilgilenilen parametrenin boyutsal özelliklerine göre 1, 2, 3 boyutlu olabilmektedir (108, 109, 124).

Tanecik (çekirdek gibi) sayı ile gösterilmektedir. 3 boyutlu bir hacim içersinden alınan sınırlı küçük bir hacimde 3 boyutlu bir sonda olarak düşünülebilir ki, bu tanecik sayımında kullanılan bir sonda bu şekildedir. Çünkü sayı kavramı hiçbir boyutsal özellik ile ilgili değildir. Büyük ya da küçük olması önemli değildir ve tüm taneciklerin sayısal olarak değeri 1'dir. Dolayısıyla sayı parametresi boyutsuz bir parametredir. Tek boyutlu uzunluk parametresi 2 boyutlu bir düzlem sondası ile 2 boyutlu yüzey parametresi de tek boyutlu bir çizgi sondası ile ölçülür. 3 boyutlu hacim parametresi ise sıfır boyutlu nokta sondası ile örneklenmektedir. Burada dikkat edilmesi gereken nokta, ilgili parametre ve onun örneklediği sondaların boyutlarının toplamının 3'e eşit olmasıdır. Uygun sondalarla yapılan uygun örneklemeler, bize ilgilenilen parametrenin gerçekte olduğu 3 boyutlu uzaydaki durumu hakkında bilgi verir (108, 109, 122, 124).

2.8 Disektör Prensipli

Stereoloji için bir bütün içinden alınan belli en, boy ve yükseklik içerisinde ölçüm yapmak gerekir. Bu belli hacme disektör denir. Bilinen bir “t” mesafesi ile birbirinden optik veya fiziksel olarak ayrılmış, ardışık kesit düzlemlerden oluşan ve 3 boyutlu bir hacimde sayı parametresinin hesaplanmasına olanak veren bir yöntemdir. Tanecik sayımında kullanılan bu yöntem 3 boyutlu bir stereolojik sonda olarak da tanımlanabilmektedir. Disektörün temel amacı, taneciklerin kesit alma doğrultusu boyunca ilk ortaya çıktıkları veya son görüldükleri kısımları bulabilmektir. Fiziksel disektör; 1984 yılında Sterio D. C. tarafından ilk olarak ortaya konulan bir yöntemdir. Bu yöntemde, birbirinin ardışığı ve birbirinden belli bir mesafe ile ayrılmış iki kesit incelenmektedir (66, 67, 108, 109, 116, 149, 154, 156, 157).

1970 yılında, sayım çerçevesi için tarafsız sayım çerçevesi geliştirilmiştir. Tarafsız sayım çerçevesi, dikdörtgen veya kare şeklindedir. Çerçeveyi oluşturan dikdörtgen veya karenin kenarlarından ikisi, ince ve kesit çizgiler hariç veya yasak anlamındayken, kalın ve düz çizgiler dahil kenarlar anlamındadır. Tarafsız sayım çerçevesinde, yasak kenarların uzantıları görüntü alanının tamamını kapsamaktadır (33, 42, 66).

Optik disektör sayım metodunun esası, kalın bir doku kesiti içerisinde, sanal optik kesitlerle ilerleyerek tanecik sayımı yapmaktır. Bu sayım yönteminin tek şartı, sayılması düşünülen taneciklerin kesit alma doğrultusuna dik olan yüksekliklerinden daha fazla kalınlığa sahip kesitler elde etmektir. Her doku için gereken kesit kalınlığı farklı olmakla beraber, sinir dokusunda yapılacak bir nöron sayım çalışması için, boyama ve kapatma işlemlerinden sonra ortalama 20–25 µm kalınlığa sahip olan kesitlerin alınması yeterlidir (63, 66, 67, 109, 149, 154, 156, 157).

Optik disektör yönteminin uygulanması kısaca şu şekildedir: Doku üzerinde belirlenen herhangi bir örnekleme alanında, şeffaf olan kalın bir kesit içerisinde optik olarak ilerlemektir. Söz konusu olan örnekleme alanına gelindiğinde, öncelikle kesitin üst yüzeyine odaklama yapılarak, ilk net görüntünün elde edildiği düzey, kesitin üst yüzeyi olarak belirlenir. Daha sonra, kesit yüzeyinde bulunması olası olan artefaktlardan sakınmak için, önceden belirlenmiş olan bir derinliğe kadar inilerek, belli bir “güvenlik mesafesi” bırakılır. Disektör yüksekliği, kesitin alt yüzüne ulaşmadan, bu kez de (alt yüzeydeki artefaktlardan etkilenmemek amacıyla) bir alt güvenlik kuşağı bırakılarak inceleme yapılır. Dolayısıyla, bu şekilde gerçekleştirilen bir sayım ile o disektör hacmi içerisinde bulunan tanecik sayısı tespit edilir (66, 67, 109, 149, 154, 156).

2.8.1 Cavalieri İlkesi ile Hacim Hesaplanması

Düzensiz bir şekle sahip nesnelerin hacmini hesaplamaya yarayacak bir yöntem İtalyan matematikçi Bonoventura Cavalieri tarafından geliştirilmiştir. Cavalieri düzenli bir geometrik şekle sahip olmayan üç boyutlu hacimlerini birbirine paralel dilimlere ayırarak hesaplanabileceğini ortaya koymuştur.

Cavalieri yöntemi ile önce hacmi hesaplanacak yapı dilimlere ayrılır, her dilimin kesit yüzey alanı bulunup kesit kalınlığı ile çarpılarak ilgili dilimin hacmi hesaplanır ve nihayet dilimlerin hacimleri toplanarak ilgilenilen yapının toplam hacmi hesaplanır. Bu yöntem non-invaziv görüntüleme yöntemlerinde uygulanarak ilgilenilen nesne ya da organı baştan sona kadar kapsayacak biçimde

alınan kesit görüntüleri üzerinden hacim hesaplamalarında yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır (19, 20, 38, 58, 64, 65, 66, 89, 93, 105, 109, 113, 115).

Bazı yarı otomatik makineler ya da özel yazılıma sahip görüntü analiz sistemleri görüntülerde ortaya çıkan kesit yüzey alanlarını hesaplayabilmektedir. Ancak, noktalı alan ölçüm cetveli kullanılarak yapılan ölçümler diğer planimetrik ölçümlerden daha kısa sürede güvenilir sonuçlar vermekte ve maliyeti oldukça düşük olmaktadır. Kesitlerde ortaya çıkan yüzey alanını hesaplamak için kullanılan noktalı alan ölçüm cetveli, eşit aralıkta noktaların basılı olduğu şeffaf bir asetattır. Bu asetat ilgilenilen yapının üzerine rastgele atılır ve ilgilenilen yapıya isabet eden noktalar sayılarak alan hesaplanır (20, 38, 64, 65, 89, 93, 105, 109).

2.8.1.1 Optik Parçalama

Optik disektörün uygulanmaya başlamasından sonra, optik parçalama yöntemi de kendiliğinden ortaya çıkmıştır. Optik parçalama kısaca, basamaklı örneklemelerden elde edilen ve tüm yapıya olan oranı (parçalama oranı) bilinen örnekler üzerinde, optik disektörler ile tanecikleri örneklemektir. Uygulanması, fiziksel parçalamaya göre çok daha kolaydır ve daha az zaman alan bir yöntemdir. Bu kolaylık, optik disektör uygulamasının sağladığı kolaylıklardan kaynaklanmaktadır. İki ayrı fiziksel kesitin karşılaştırılması zorunluluğu bulunmadığından, çok daha yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Özellikle sinir sistemi ile ilgili çalışmalarda yaygın olarak kullanılan optik parçalama, bazı durumlarda, fiziksel parçalama olduğu gibi uygulanamamaktadır. Kalın kesitlerin alınamaması, boyanın kesitlere geçişinde zorluk, büyük yapıların söz konusu olduğu çalışmalar gibi durumlarda, fiziksel parçalama kullanılması bir zorunluluktur. Stereolojik yöntemlerin en önemli özelliği, gerçek değerden sistematik bir sapma göstermeye neden olabilecek hatalı varsayımlardan bağımsız olmasıdır. Bir başka

Özellik ise, çalışmanın gerçek değerden ne kadar sapma gösterebileceğinin hesaplanabilir olmasıdır. Yöntem ne kadar tarafsız olursa olsun, istatistiksel bir çalışma yapıldığından gerçek değere göre bir farklılık zorunlu olarak karşımıza çıkar. Fakat bu farkın kabul edilebilir sınırlar içersinde tutulması, çalışmanın güvenirliği açısından önemlidir. (19, 20, 67, 116).

Hata katsayısı hesaplanması, deneyde kullanılan bireyler arası farklar hesaba katılmaksızın, ne kadar kesinlikli bir hesaplama sağlayabileceği hakkında niceliksel bir değer sağlar. Çalışmanın her grubu için değişim katsayısı (coefficient of variation) hesaplanmalıdır. Hata katsayısı için genellikle 0.05, değişim katsayısı için ise 0.10 kabul edilebilir değerlerdir. Bu katsayıların altında kalan hesaplama sonuçları, çalışmanın yeterli kesinlikte olduğunun niceliksel kanıtlarıdır (20, 66, 67, 152, 157)

3 GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Deney Hayvanları

Bu çalışmada Wistar Albino cinsi, 8 haftalık ve 200–300 g ağırlığında erişkin erkek sıçanlar kullanıldı.

Hayvanlar, tabanı ve duvarları tek parça, kapağı ve yan duvarları tel örgülü ve boyutları 50x30x30 cm olan kafeslerde barındırıldı. Ancak, hayvanlara vazektomi uygulandığından, cerrahi işlem sonrası bakımın en iyi şekilde yapılabilmesi için her kafese bir hayvan yerleştirildi. Hayvanların buldukları oda sıcaklığı 20–22°C'ye ve nem oranı %55-60'a ayarlandı. Hayvanların bulunduğu oda düzenli olarak havalandırıldı ve 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olacak şekilde aydınlatıldı. Sıçanlar standart yem (MBD Yem, Kocaeli) ile beslendi. Hayvanların bakım, beslenme ve cerrahi işlemleri yapılırken ilgili kaynaklardan yararlanıldı (123, 168, 177, 178, 180, 181).

Genellikle, bir çalışmanın yeterli niceliksel bilgi verebilmesi için, toplam hata katsayısının (coefficient of error; CE) 0.05 değerinden daha az olması yeterlidir. Bunu sağlamak için ise, her bir örnekleme basamağının, toplam değişkenliğe ne kadarlık bir katkı yaptığıının bilinmesi gerekir. Bu katkılar, her bir çalışma için, çalışma öncesinde birkaç hayvanda yapılacak bir ön çalışma ile belirlenmelidir.

Belirlenen tüm örnekleme şeması, aynı çalışma için sabit tutulmalıdır. Çoğu çalışma için 6–8 hayvanın alt sınır olarak kabul edilmesiyle toplam değişkenlik azaltılabilmektedir. Ayrıca, daha fazla kesit örnekleme, daha fazla alanda sayım yapmak ve geniş sayım çerçeveleri kullanarak bol miktarda tanecik sayımı yapmak belli derecelerde toplam değişkenliği azaltarak çalışmanın kesinliğini artırır. Bütün bu etkenler eşliğinde yapılan ön çalışma ile yöntem uygulanmasında izlenebilecek en uygun istatistiksel yaklaşım ve en uygun örnekleme şemasına karar verilir. Belirlenen örnekleme ile her denek için, 700–1000 partikül sayımı yapılması sonuçların istatistiksel olarak güvenilir olmasını sağlar (41, 65, 109, 136.).

Bu çalışmada sterolojik yöntemlerin uygulanması ve hayvan sayısının belirlenmesi yukarıda açıklanan ilkeler doğrultusunda yapılmıştır. Çalışmamızdaki deney grupları ve hayvan sayıları Tablo 3’te görülmektedir.

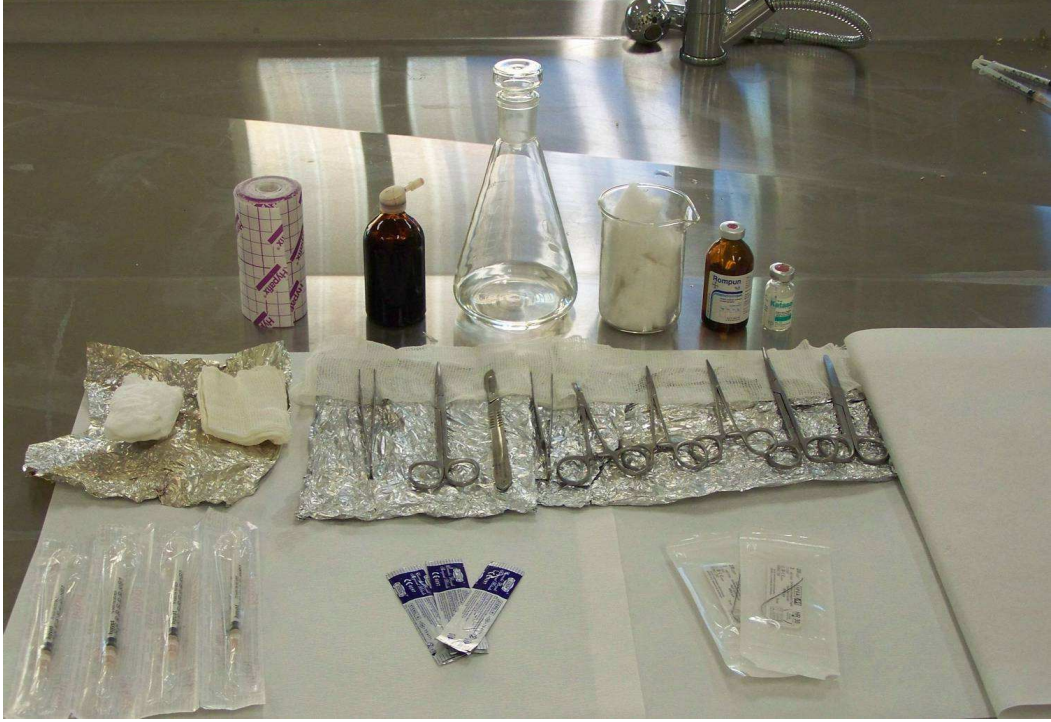
Tablo 2: Çalışmanın deney grupları ve sıçan sayıları.

GRUPLAR	SÜRE			
	1 Hafta	12 Hafta	24 Hafta	
Kontrol (Sham)	8+1	8+1	8+1	
Vazektomi (Unilateral)	8+1	8+1	8+1	
Toplam				48(6)

3.1.1 Kontrol (Sham) Grubu

- ◆ Her bir sıçana 5 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun %2, Bayer Türk Kimya, İstanbul) ve 60 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketasol %10, Richter pharma ag., Austria) intraperitoneal (i.p) yolla verilerek hayvan anesteziye edildi.
- ◆ Uygulanacak bu iki madde 1 saatlik anestezi sağladı.
- ◆ Anesteziye hayvan sırt üstü yatırıldı ve karın bölgesi %70 alkol ile silindi.
- ◆ Penisin 1.5 cm üzerinden, 0.5 cm uzunluğunda transvers yapılan deri ve karın duvarı kesisi ile karın boşluğu açıldı.
- ◆ Karın duvarına (2/0 Katgüt, Medeks A.Ş., İstanbul), deriye (3/0 İpek, Medeks A.Ş., İstanbul) ile dikiş atıldı ve bölge batikom ile temizlendikten sonra cerrahi işlem tamamlandı (7, 41, 163, 166, 177, 178,)
- ◆ Cerrahi işlemden sonra, hayvan kafesine alındı ve kafesiyle birlikte önceden hazırlanmış 36–37°C'deki kapağı açık etüve yerleştirildi. Uyanma işlemi gerçekleşince kafes etüvden alınarak hayvan barınağına taşındı.

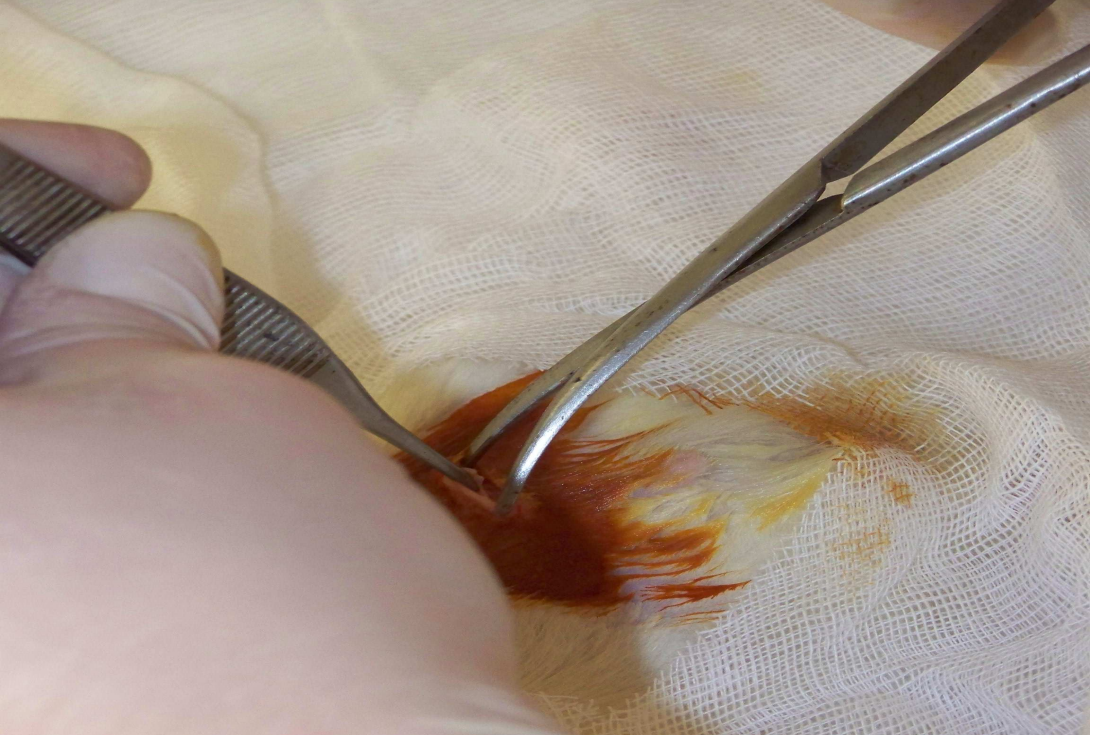
Deneyde kullandığımız bazı malzemeler ve kontrol grubuna yapılan cerrahi işlemlere ait görüntüler Şekil 1-4'te görülmektedir.



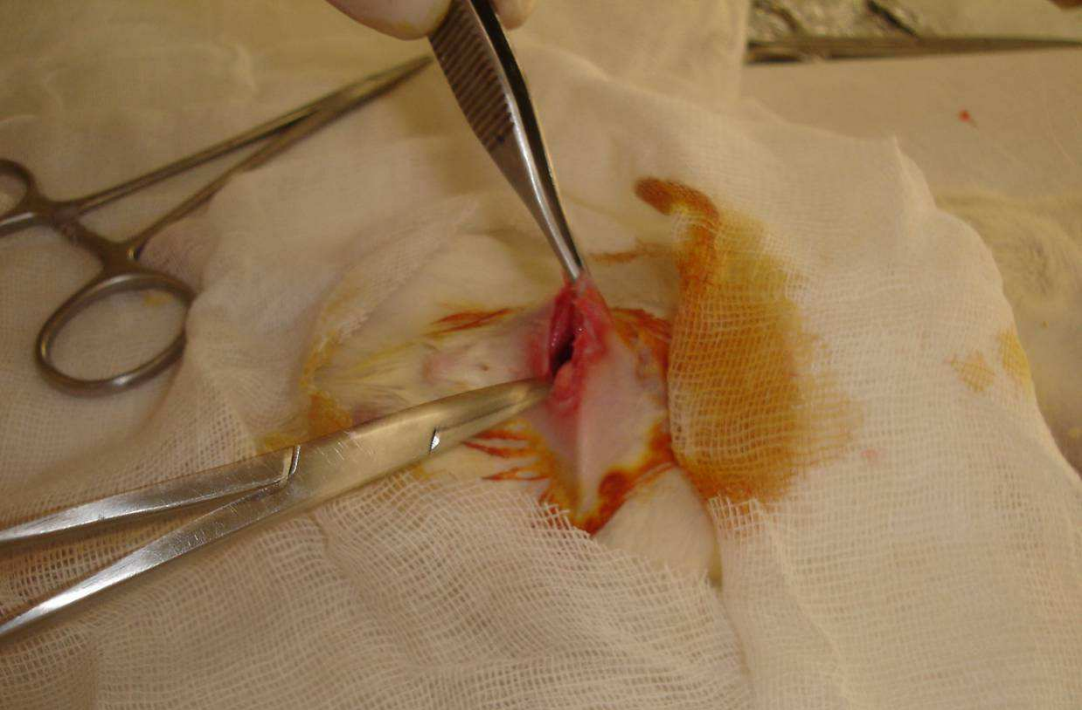
Şekil 1: Deney malzemeleri.



Şekil 2: Hayvanın cerrahi işlem için hazırlanması.



Şekil 3. Cildin açılması

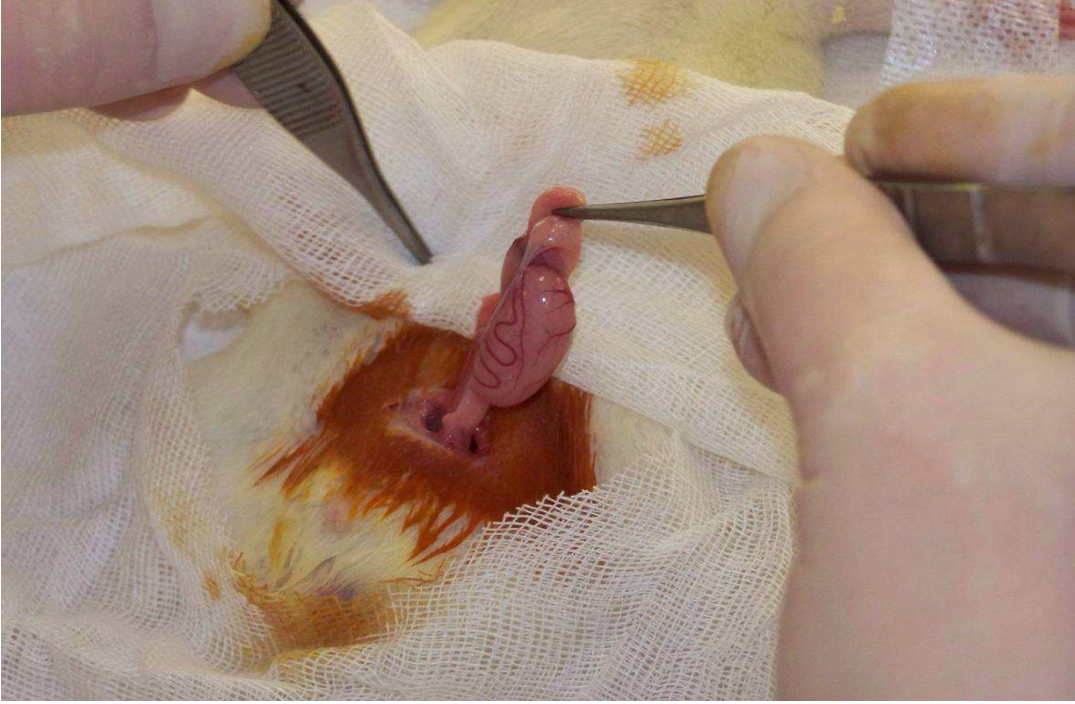


Şekil 4: Kontrol grubundaki bir hayvana yapılan sham operasyon.

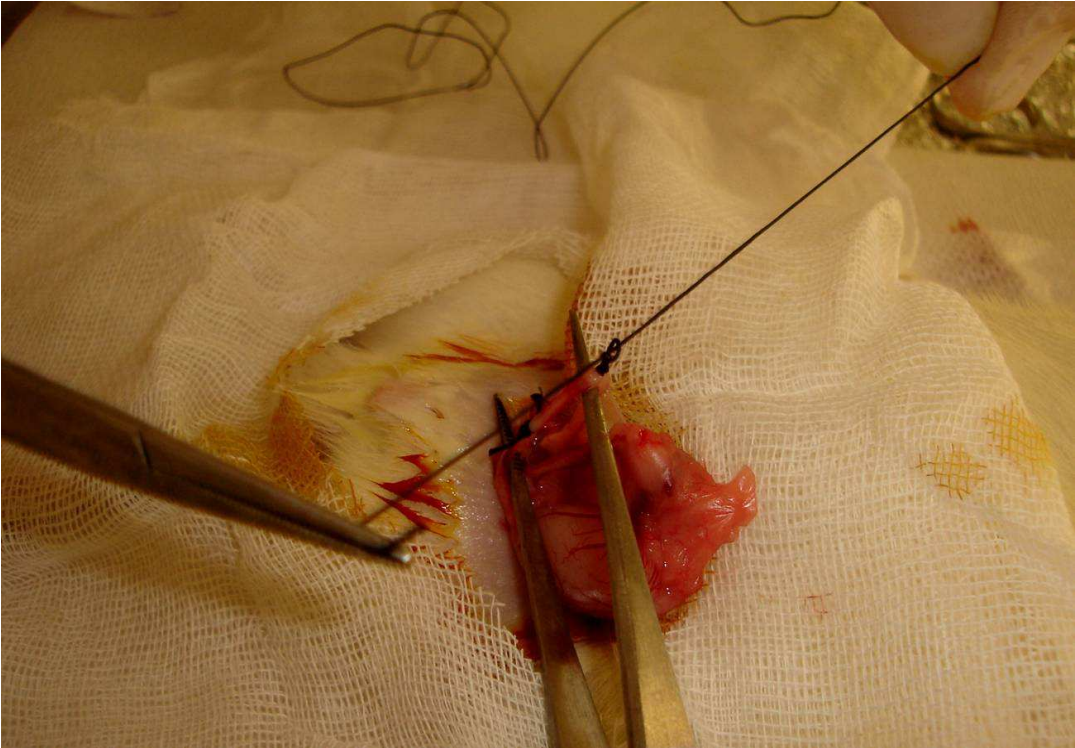
3.1.2 Vazektomi Grubu

- ◆ Bu gruptaki sıçanlar kontrol grubu hayvanlara uygulandığı biçimde anestezi edildi.
- ◆ Anesteziye hayvan sırt üstü yatırıldı ve karın bölgesi %70 alkol ile silindi.
- ◆ Penisin 1,5 cm üzerinden, 0,5 cm uzunluğunda transvers yapılan deri ve karın duvarı kesisi ile karın boşluğu açıldı.
- ◆ Karın boşluğunda kasık bölgesinde yağ dokusu pensle tutulup çekildi. Testis, vas deferens ve epididimis bu yağ dokusuyla beraber geldi.
- ◆ Vas deferensin altına pens yerleştirildi. Pensin uçları arasında kalan kanalın her iki başına 2/0 İpek (Medeks A.Ş., İstanbul), ile bağlandı. Bağlanan kısımlar arasında kalan bölümden kesildi ve bir parça çıkarıldı (7, 41, 163, 166, 177, 178).
- ◆ Organlar karın içine geri yerleştirildi ve karın duvarı ile deriye dikiş atıldı. Bölge tendürdiyot ile temizlendikten sonra cerrahi işlem tamamlandı.
- ◆ Cerrahi işlem sonrasında hayvanlara kontrol grubundaki hayvanlara yapılan bakım uygulandı.

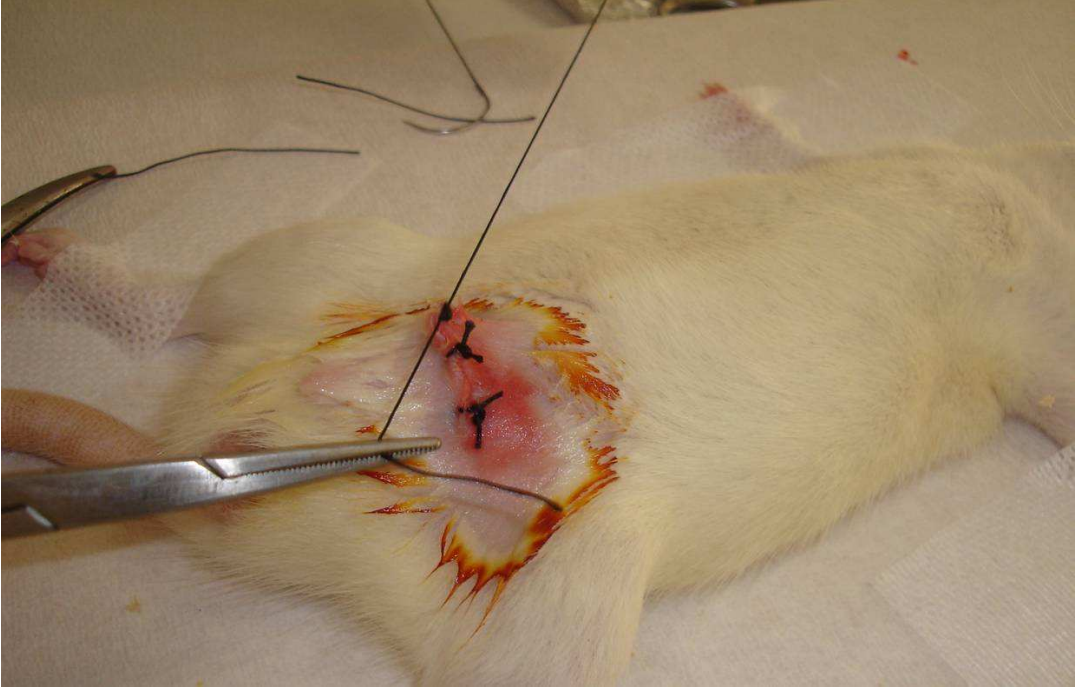
Vazektomi grubundaki hayvanlara yapılan cerrahi işlemlere ait görüntüler Şekil 5-8'de görülmektedir.



Şekil 5: Testisin karın dışına alınması.



Şekil 6: Spermatik kordun bağlanması



Şekil 7: Operasyon sonrası cildin kapatılması



Şekil 8: Operasyon sonrası bakım

3.2 Perfüzyon Yöntemi:

3.2.1 Perfüzyon fiksasyon yöntemi için gerekli araç ve gereçler

- ◆ Cerrahi makas, bistüri sapı, bistüri ucu
- ◆ Düz dişsiz pens, kıvrık dişsiz pens, enjektör (1 ml, 5 ml, 50 ml tek kullanımlık)
- ◆ Serum seti, üçlü vana, 18 çaplık (G) iğne
- ◆ Steril eldiven, flaster, maske
- ◆ Filtre kâğıdı, pamuk, gazlı bez, hayvan için cerrahi tahtası
- ◆ 1000 ml'lik serum şişesi
- ◆ %0.9'luk NaCl solüsyonu (serum fizyolojik)
- ◆ Anestezi maddesi (Ketalar+Rompun)

3.2.2 Tampon hazırlanması

Stok A solüsyonu: 0,2 M sodyum kakodilat için 4.28 g sodyum kakodilat ($\text{Na}(\text{CH}_3)_2\text{ASO}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, molekül ağırlığı:214 g/mol) 100 ml distile su içerisinde çözdürüldü.

Stok B solüsyonu: 0,2 M Hidro klorik asit için 1.65 ml Hidro klorik asit (molekül ağırlığı:36.46 g/mol, %37'lik derişimde, yoğunluk:1.19kg/L) 100 ml distile suyla titre edildi.

Çalışma solüsyonu: 0.05 M pH=7.4 olan sodyum kakodilat tamponu için Stok A solüsyonundan 25 ml alındı ve pH=7.4 olması amacıyla stok B ile titre edildi. Titre edilen stok B miktarı not edilerek pH tablosuyla kontrol edildi. Elde edilen bu karışım distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

3.2.3 Fiksatifin Hazırlanması

0.05 M Sodyum Kakodilat Tamponlu (pH=7,4), %2,5 'lik Gluteraldehit fiksatifi için:

Kakodilat tamponu	900 ml
%25'lik Gluteraldehit	100 ml

Yöntemin Uygulanması:

Malzemeler ve solüsyonlar hazırlandıktan sonra şekildeki gibi bir düzenek hazırlanır. Bu düzenek de: Perfüzyon aparatı bir litrelik iki adet intravenöz serum şişesi ve bunlara bağlı üç yollu intravenöz kanülden oluşmaktadır. Kanüllün ucuna kelebek seti bağlanmıştır. İntravenöz serum şişeleri sıçanların perfüze edileceği tezgâhın yaklaşık 120- 125 cm yukarısına asılmıştır.

Serum şişelerinden birinde %0,9 sodyum klorür, diğesinde ise Kakodilat tamponu içinde %2,5'lik glutaraldehit kondu (0.05 M sodyum kakodilat; pH = 7,3–7,4)

3.2.4 Antikoagülan madde verilmesi

Perfüzyon fiksasyonu öncesinde hayvana verilecek heparin dozu 150 U/kg'dır. Bu çalışmamızda antikoagülan madde olarak heparin (Nevparin, Mustafa Nevzat İlaç anayi A.Ş. İstanbul) kullanıldı. Her bir hayvan için 0,1 ml nevparin alınarak üzerine 0,9 ml serum fizyolojik eklendi ve i.p olarak verildi ve 15 dk beklendi.

3.2.5 Deney Sonunda hayvanların anestezisi

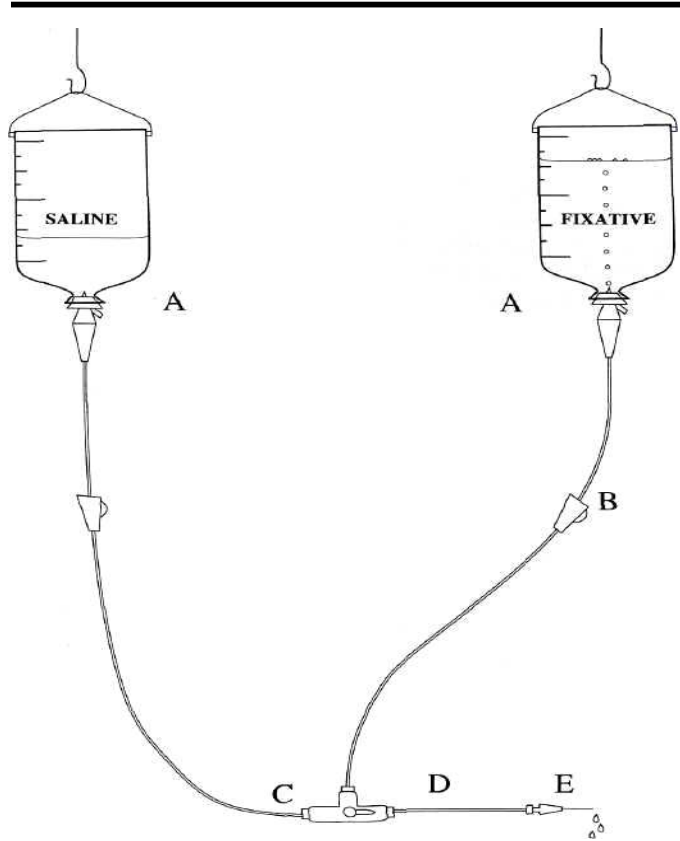
Çalışmamızın vazektomi ve kontrol gruplarındaki hayvanlara cerrahi işlem yapıldıktan sonraki 1. 12. ve 24. haftalarda vücut ağırlıkları ölçüldü ve anestezi maddesi verilerek uyuşturuldular.

3.2.6 Perfüzyon yapılması

Perfüzyon fiksasyonu için gerekli düzenek Şekil 9 ve 10'da görülmektedir. Bu düzenek hazırlandıktan sonra aşağıda belirtilen şekilde perfüzyon uygulandı (14, 60, 60, 78, 88, 104, 107, 128).

- ◆ Hayvanın uyuduğu doğrulandıktan sonra, sıçanın ekstremiteleri ve kuyrukları kesim paneline flaster ile sabitlendi
- ◆ V kesi ile sternum kaldırılarak toraks boşluğu açıldı. Kalbin tepesinden 18G kelebek iğne ile girilerek sol ventriküle dikkatli bir biçimde yerleştirildi. Daha sonra sağ atriyum kesildi ve üç yollu kanülden 10 dk süreyle %0,9 NaCl verildi (Şekil 11-13).

- ◆ Sağ atriyumdan akan sıvının berraklaştığı görüldüğünde kanülün vanası diğer girişe çevrilerek kakodilat tamponu içinde %2,5 glutaraldehit çözeltisi 12,5 ml/dk olacak şekilde verilerek 20 dk süreyle perfüzyon fiksasyonu gerçekleştirildi.
- ◆ Her sıçan için yaklaşık 250ml tespit sıvısı kullanıldı.



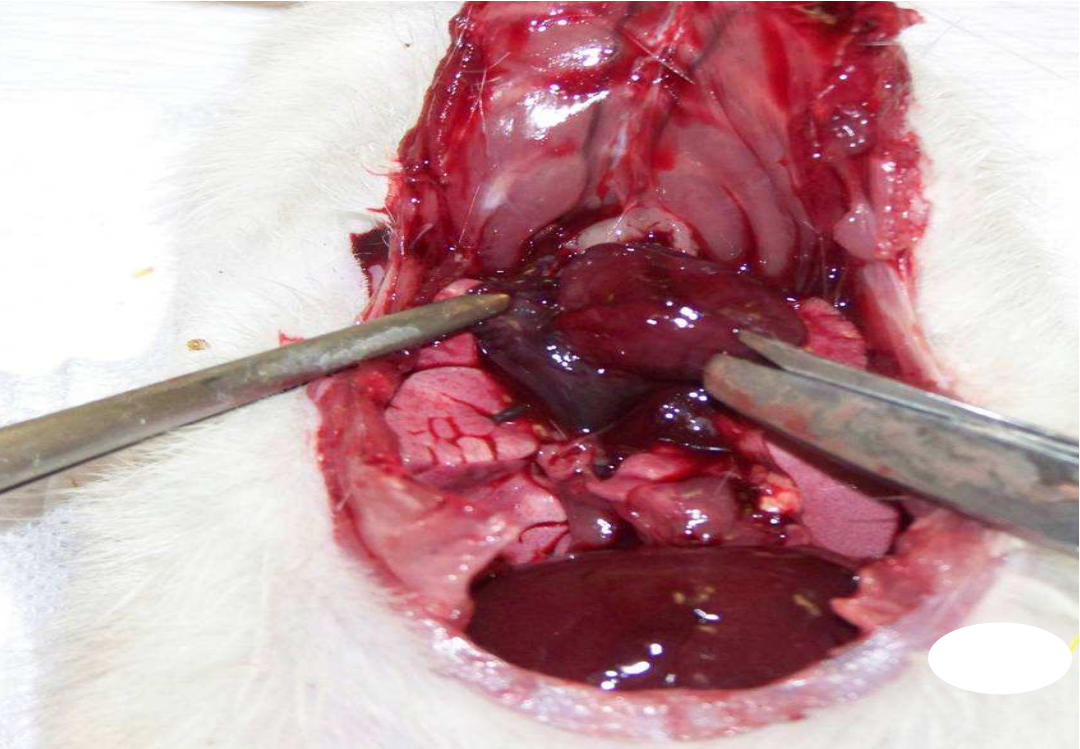
Şekil 9: Perfüzyon düzeneği. İki adet birer litrelik serum şişesinin (A), birinde serum fizyolojik, diğerinde ise tamponlu glutaraldehit bulunmaktaydı. Bu şişeler üç yollu vanaya (C) takılmış bir intra venöz sete (B) bağlanmıştı. Şişeler tezgâhtan 120 cm yukarıya asıldı. Vana çıkışına kelebek seti bağlandı.



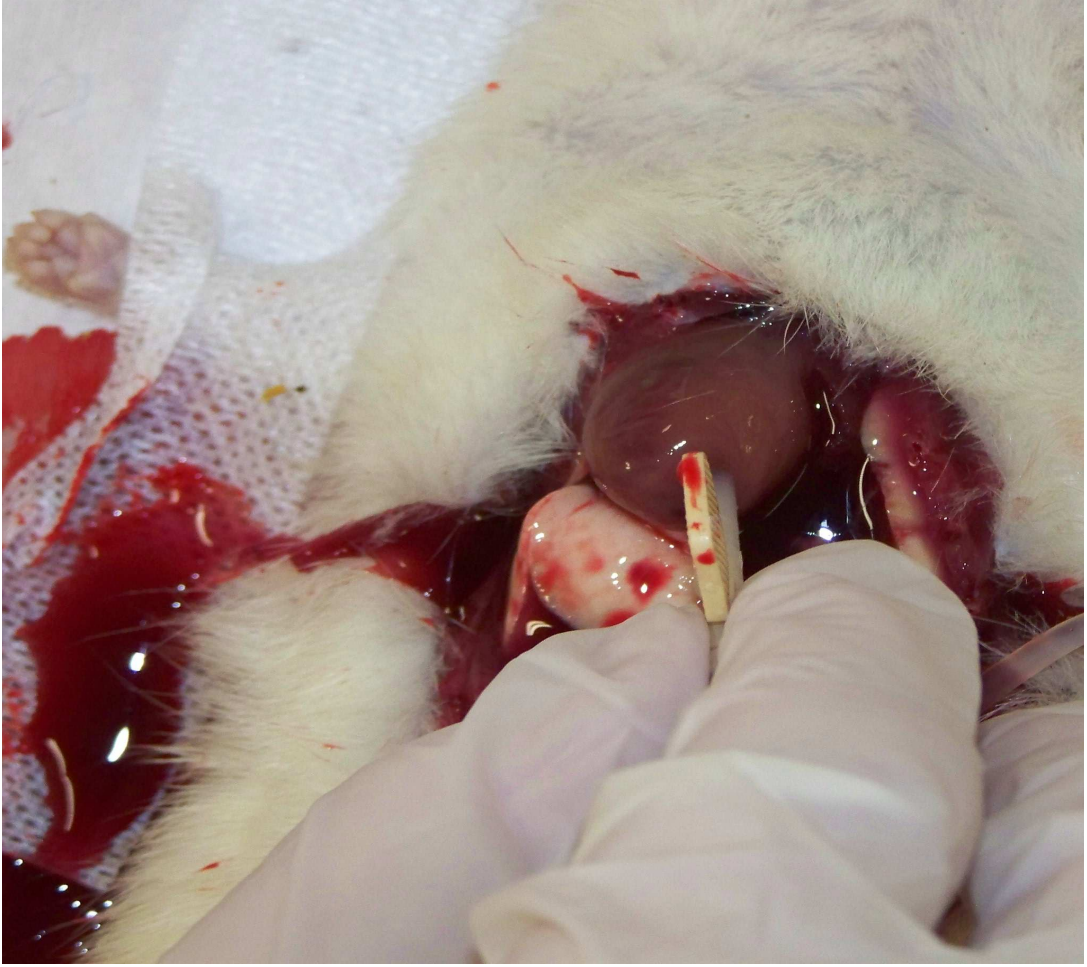
Şekil 10: Hazırlanmış perfüzyon düzeneğimiz.



Şekil 11: Torakotomi uygulaması.



Şekil 12: Torakotomi sonrası kalbin gösterilmesi.



Şekil 13: Kalbin apeksinden 18G'lik iğne ile girilmesi

3.3 Testislerin Alınması

Her hayvanın tespiti tamamlandıktan sonra karın boşluğu açıldı. Pens yardımıyla testisler çevre dokularıyla birlikte çıkarıldı. Daha sonra çevre dokular dikkatlice ayrıldı.

3.4 Testis Ağırlıklarının Ölçülmesi

Her bir hayvandan alınan sol ve sağ testisin ağırlığı hassas terazi ile ölçülerek kaydedildi.

3.5 Histolojik Yöntem

3.5.1 Bouin Fiksatifinin Hazırlanışı

Doymuş pikrik asit solüsyonu:

Pikrik asit	1.22 g
Distile su	100 ml

Bouin fiksatif:

Doymuş pikrik asit solüsyonu	75 ml
%37-40'lık formaldehit	25 ml
Glasiyal asetik asit	5 ml (11, 13, 40).

3.5.2 Doku Takip Yöntemi

Ağırlığı ölçülen her testis kutuplarından ve yanlarından toplu iğne ile birkaç kez hafifçe delindi. Testisler 2 gün süre ile Bouin fiksatifinde bekletildikten sonra boyuna ortadan ikiye bölünerek bu şekilde 1 gün daha fiksatifte bekletildi. Daha sonra testisler 1 saat akan suda yıkandı ve otomatik doku takip cihazına yerleştirilerek aşağıda belirtilen şekilde doku takibi yapılarak bloklar elde edildi.

◆ %70'lik alkol	1 saat
◆ %80'lik alkol	1 saat
◆ %90'lık alkol	1 saat
◆ %96'lık alkol	1 saat
◆ %96'lık alkol	30 dk
◆ %96'lık alkol	30 dk
◆ Absolüt alkol	1.5 saat
◆ Absolüt alkol	1.5 saat
◆ Ksilen	1 saat
◆ Ksilen	1 saat
◆ Paraplast	1 saat
◆ Paraplast	3 saat

3.6 Genel Işık Mikroskopik İnceleme

Her deney grubunda fazladan yer alan 9. hayvanlara aynı cerrahi ve doku takip işlemleri yapıldıktan sonra 5 µm'lik kesitler alınarak PAS+Hematoksin ve Masson'un trikrom yöntemleri ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi.

3.7 Stereoloji Yöntemi

3.7.1 Kalın Kesit Alma

Stereoloji yöntemlerini uygulayabilmek için dokudan 40 µm kalınlığında 1/8 örneklenmiş kesitler poli-L-lizin kaplı lamlara alındı.

3.7.2 PAS+Hematoksin ile Boyama

40 µm kalınlığında kesitlerin özelliği nedeniyle, boyama aşamasından önce lamlara sıkı yapışması gerekmektedir. Bu nedenle 65–70°C 'lik etüvde nemlendirici odacık içinde 45 dk bekletildi.

3.7.2.1 Boyama Solüsyonlarının Hazırlanması

Periyodik asit solüsyonu:

Periyodik asit	1 g
Distile su	200 ml

Schiff Reaktifi:

Bazik fuksin	1 g
Distile su	200 ml
Potasyum metabisülfid	2 g
Hidroklorik asit	2 ml
Aktif kömür	2 g

Bazik fuksin ve distile su karıştırılarak kaynatıldıktan sonra soğutuldu. Karışım 50°C'ye geldiğinde, 2 g potasyum metabisülfid eklendi. Daha sonra karışımın sıcaklığı oda sıcaklığına uygun hale getirildi. Bu aşamada 2 ml hidroklorik asit eklendi. Son olarak da 2 g aktif kömür eklenerek solüsyon oda sıcaklığında ve gece karanlıkta dinlenmeye bırakıldı. Kullanmadan önce filtre kâğıdından süzüldü (11, 13, 40).

3.7.2.2 Boyama Tekniği

- ◆ Kesitler deparafinize ve hidrate (96 II, 96 I, 90, 80, 70, 50 derecelik alkoller) edilerek distile suya getirildi.
- ◆ Periyodik asit solüsyonunda 5 dk tutuldu.
- ◆ Distile su ile iyice yıkandı.
- ◆ Schiff solüsyonunda 15 dk bekletildi.
- ◆ 5–10 dk boyunca akan su altında yıkandı.

- ◆ Hematoksilin ile çekirdekler boyandı. Asit alkolde uygun olarak diferansiye edilerek çekirdeklerin mavi olması sağlandı. Bu aşama mikroskop altında kontrol edildi.
- ◆ Çeşme suyunda yıkandı.
- ◆ Absolüt alkolde dehidrate edildi.
- ◆ Ksilenden geçirildi
- ◆ Lamel yapıştırıcı ile kapatıldı.

3.7.3 Pilot Çalışma

Stereoloji çalışmalarında asıl ölçümlere başlamadan önce bir pilot çalışma yapılması önerilmektedir. Böylece aşağıda belirtilen amaçlara ulaşılması sağlanır.

- ◆ İstenilen stereolojik parametreleri değerlendirmek amacıyla, incelenecek yapıdaki biyolojik farklılıklar hakkında bilgi sahibi olabilmek,
- ◆ Çalışma sonrasında elde edilen sayısal veriler yardımıyla araştırmanın istatistiksel anlamlılığı hakkında kaba tahminler yapabilmek,
- ◆ Histolojik doku takip ve boyama yöntemlerini geliştirerek, ilgilenilen dokunun en iyi görüntülenebilirliğini sağlayabilmektir (23, 41, 102, 109).

3.7.4 Stereoloji Ölçüm ve Hesaplamaları

3.7.4.1 Kullanılan Donanım

Boyanan kesitler, stereoloji çalışma düzeneği ile incelendi. Bu sistem, analizlerin ve görüntülerin incelendiği CCD dijital kamera (Optronics Microfire 1600x1200P, Goleta, CA, USA), görüntü kartı (ATI FireGL Advance Micro Device, Camberly, UK), bilgisayar kontrollü motorize stage, (Bioprecision, Howtrone, NY, USA), Mikrokatör (Heidenhein, Traunreut, Germany) ve ışık mikroskobundan (Leica DM 4000B, Wetzlar, Germany) oluşuyordu. Ölçümler yukarıda belirtilen düzenekte Sterioinvestigator 7.0.5 (Microbrightfield, Williston, VT, USA) programı kullanılarak yapıldı. Hücreler sayılırken Leica HC plan APO, X63 objektif (NA=0.60-1) ve X2379'luk büyültme kullanıldı

3.7.4.2 Fiziksel Parçalama

Fiziksel parçalamadaki amaç elde edilen oranın fiziksel yöntemlerle parçalara ayrılarak, bunlar arasından sistematik ve rastgele bir seçim yapıldıktan sonra disektör metodu ile tanecik sayımını gerçekleştirmektedir.

Çalışmamızda bir testisin tamamından elde edilen kesit sayısı 200 ile 210 arasındadır. Yaptığımız pilot çalışma sonucunda 1/8 örnekleme oranı kullanıldı. Bu örnekleme sonucunda kontrol ve vazektomi gruplarında birey başına en düşük, 17 en yüksek 32 tane kesit elde edildi ve bunlar incelendi.

3.7.4.3 Optik Parçalama

Optik parçalama; tek bir kalın kesit ardışık optik parçalara ayrılmasıdır.

Daha önceden yaptığımız pilot çalışmada, her kesit başına ortalama 10 adım sayısı (grid sayısı) düşürülerek, adım aralığı (grid size) boyutları hesaplandı. Kesitler daha sonra, uygun örnekleme ölçütleri doğrultusunda mikroskopik olarak incelendi ve hata katsayısı %10'dan küçük olacak şekilde optik parçalama parametreleri düzenlendi.

Pilot çalışma sonucu hücre sayımları için belirlediğimiz adım aralığı (grid size) aşağıda gösterilmiştir (36, 121, 129, 172, 173, 174, 175).

Spermatid	1250 μm x 1250 μm ,
Spermatogonyum	1100 μm x 1100 μm ,
Sertoli hücresi	1100 μm x 1100 μm ,
Myoid hücre	900 μm x 900 μm ,
Leydig hücresi	900 μm x 900 μm .

3.7.4.4 Optik Disektör

Optik disektör sayım metodu her optik parçadan seçilen örnekleme hacminde (disektör) tanecik sayılmasına prensibine dayanır. Bu sonda ile sanal optik kesitlerle ilerleyerek tanecik sayımı yapmaktır.

Çalışmamızda saymak istediğimiz Leydig, Sertoli, spermatogonyum, spermatid ve myoid hücrelerin kesit alma doğrultusuna dik olan yüksekliklerinden daha fazla kalınlığa sahip kesitler elde edildi. Böylece birbirine paralel kesitler arasındaki aralık yani disektör yüksekliği, hücrelerin boyutlarına uygun olarak ayarlandı.

Hücreleri sayarken uygun büyüklükteki belli bir bölgenin bir sayım çerçevesiyle sınırlandırılması ise disektör sayım metodunda önemlidir.

Sonuç olarak, disektör yüksekliği ve sayım çerçevesi hücreler için sırasıyla şu şekilde saptandı.

Spermatid	10 μm , 10 μm x 10 μm ,
Spermatogonyum	10 μm , 20 μm x 20 μm ,
Sertoli hücresi	10 μm , 20 μm x 20 μm
Myoid hücre	10 μm , 20 μm x 20 μm
Leydig hücresi	10 μm , 20 μm x 20 μm boyutlarındadır.

İlgilenilen yapıdaki toplam partikül sayısını ($N=\sum Q$) hesaplamak için, aşağıdaki formül kullanılmaktadır.

$$N (\sum Q) = \frac{1}{ssf} \times \frac{1}{asf} \times \frac{1}{hsf} \times Q$$

Örnekleme oranıdır.

N: Toplam hacimde ilgilenilen tanecik sayısı.

Ssf (Section sampling fraction): Kesit örnekleme payıdır.

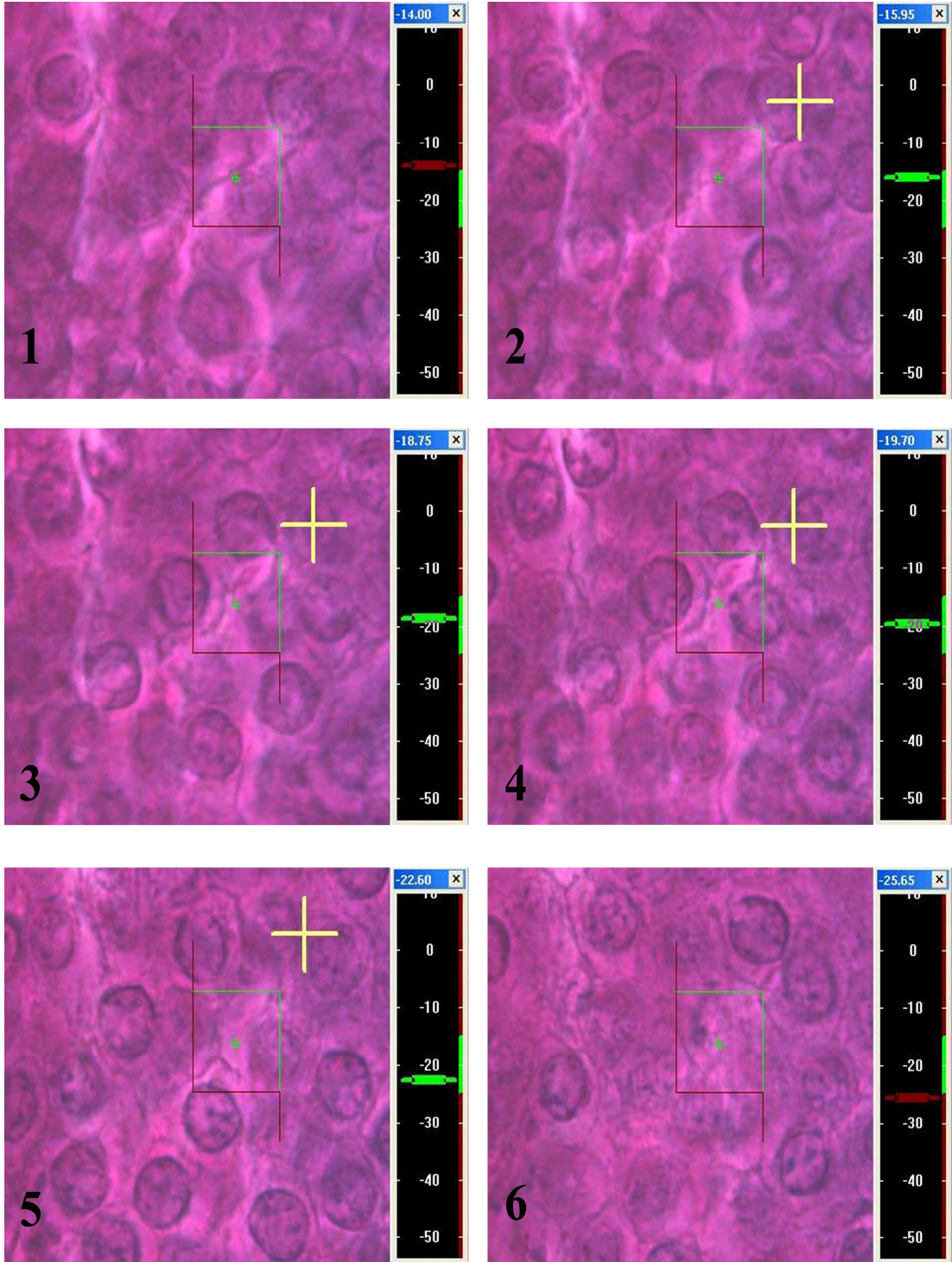
Asf (Area sampling fraction): Alan örnekleme payıdır.

Hsf (Height sampling fraction): kesit kalınlığı örnekleme payıdır.

Q: Optik parçalam sonasıyla sayılan tanecik sayısı

Bu değer bizim Sterio Investigator (SI) programı ile bulduğumuz 'Estimated Total by Optical Fractionator' optik parçalama sondasıyla tahmin edilen toplam tanecik sayısına eş değerdir.

Şekil 14 de örnek bir optik disektör sayım yöntemi görülmektedir.



Şekil 14: Kullandığımız optik parçalama yöntemine göre sayımın yapılış biçimine ait görüntü. Sağda görülen cetvel z-metreyi, z-metre üzerindeki kırmızı veya yeşil ibre disektör yüksekliğini ve kırmızı –yeşil çizgiler sayım çerçevesini göstermektedir. Artı işareti de sayıma başlanabileceğini göstermektedir.

3.7.4.5 Cavallieri Yöntemi

Bu yöntemin esasında hacmi hesaplanmak istenen yapı eşit aralıklı ve birbirine paralel bir şekilde kesitlere ayrılır. İlgilenilen bölgenin kesitlerdeki görüntülerinin alanları ve ortalama kesit kalınlığının birbiriyle çarpılması sonucunda toplam hacim elde edilmiş olur. Kullandığımız SI programı bu hesaplamayı yaparak bize son değerleri vermektedir.

Pilot çalışma sonucunda, testis kesitlerinden toplam testis, interstisyum, adlüminal kompartıman, bazal kompartıman ve seminifer tübül lümeni hacimleri iki nokta arası mesafesi 500 μm 'den oluşan sayım cetveli kullanılarak ölçüldü.

3.8 İstatistiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel analizleri Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda Statistical Package For The Social Sciences (SPSS) paket programının 15,0 sürümü kullanılarak yapıldı. Bu paket programı içerisinde One-Way ANOVA ve Post Hoc test olarak Tukey testi kullanarak gruplar arasında karşılaştırmalar yapılmış. İstatistik anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

4 BULGULAR

Çalışmamızın bulguları aşağıda belirtilmiştir.

4.1 Vücut ve Sol Testis Ağırlığı

Çalışmaya alınan sıçanların deneye başlamadan hemen önce ve deney sonunda ölçülen vücut ağırlıklarına ilişkin veriler aşağıda tablo ile verilmiştir.

4.1.1 Başlangıç vücut ağırlığı

Çalışmamızın hayvanların ilk ölçülen vücut ağırlıklarına ilişkin bulguları Tablo 3'de verilmiştir.

Hayvanların ilk ağırlıklarının istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda gruplar arasında önemli bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Tablo 3: Hayvanların deney öncesi vücut ağırlıklarının karşılaştırması (ortalama± standart sapma).

İlk Ağırlık (gram)	Kontrol (n=6)	Vazektomi (n=6)	P
1 hafta	203.833±17.440	224.167±16.905	ns
12 hafta	230.667±3.204	222.167±10.797	ns
24 hafta	212.5±4.183	210±12.329	ns

ns: önemli fark yok

4.1.2 Deney sonu vücut ağırlığı

Hayvanların deney sonrası ağırlıklarının bulguları Tablo 4’de gösterilmiştir.

Hayvanların deney sonrası vücut ağırlıkları arasında istatistiksel bir fark saptanmadı ($P>0.05$).

Tablo 4: Hayvanların deney sonu vücut ağırlıklarının karşılaştırması (ortalama± standart sapma).

Son Ağırlık (gram)	Kontrol (n=6)	Vazektomi (n=6)	P
1 hafta	210.833±22.675	228.833±21.330	ns
12 hafta	360.317±13.318	361.5±26.576	ns
24 hafta	380.233±42.132	377.057±42.219	ns

ns: önemli fark yok

4.1.3 Sol Testis Ağırlığı

Deney ve kontrol gruplarına ait sol testis ağırlıkları ortalamalarının istatistik açıdan değerlendirilmesi Tablo 5’de verilmiştir.

Kontrol ve vazektomili grupların testis ağırlıkları karşılaştırıldığında, 1 haftalık grupta önemli bir fark saptanamaz iken ($P>0.05$) 12 ve 24 haftalık gruplarda önemli fark olduğu (sırasıyla $P=0.024$ ve $P=0.000$) görüldü. Tablo 6’da görüldüğü üzere vazektomi sonrasında geç dönemlerde testis ağırlıkları önemli derecede azalmaktadır.

Tablo 5: Vazektomi ve kontrol grubu hayvanların sol testis ağırlıkları (ortalama± standart sapma).

Sol Testis Ağırlığı (gram)	Kontrol (n=6)	Vazektomi (n=6)	P
1 hafta	1.211±0.115	1.037±0.439	ns
12 hafta	1.57±0.125	1.086±0.216	0.024
24 hafta	1.61±0.270	0.681±0.203	0.000

ns: önemli fark yok

4.2 Stereolojik Bulgular

4.2.1 Hacimsel Bulgular

Pilot çalışma sonucunda belirlenen 500 µm'lik grid boyutu esas alınarak Cavalieri yöntemi ile yapılan hacimsel ölçümlere ait bulgular aşağıda yer almaktadır.

4.2.1.1 Toplam Sol Testis Hacmi

Çalışmamızdaki hayvanların sol testis hacimlerine ait bulgular ve istatistiksel açıdan karşılaştırması Tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablodan görüldüğü üzere, 1, 12 ve 24 haftalık grupların tümünde kontrol gruplarına göre vazektomili gruplarda yer alan hayvanların toplam sol testis hacimlerinde istatistiksel bakımdan önemli derecede azalma saptanmıştır (sırasıyla $P=0.002$, $P=0.000$ ve $P=0.000$).

Tablo 6: Cavalieri yöntemi ile ölçülen toplam sol testis hacimleri (ortalama± standart sapma).

Sol Testis Hacmi (milimetre küp)			
	Kontrol (n=6)	Vazektomi (n=6)	P
1 hafta	786.72±99.970	517.52±80.916	0.002
12 hafta	939.893±42.109	559.44±95.300	0.000
24 hafta	1178.24±257.830	424.73±144.680	0.000

4.2.1.2 Sol Testisin Toplam İnterstisyum Hacmi

Cavalieri yöntemi ile yaptığımız toplam interstisyum hacim ölçümleri ve istatistiksel değerlendirmesi Tablo 8’de gösterilmiştir.

Tablodan görüldüğü üzere, sol testislerde toplam interstisyum bölgelerinin hacimleri arasında önemli bir fark saptanmamıştır (hepsinde $P>0.05$).

Tablo 7: Cavalieri yöntemi ile ölçülen sol testisin toplam interstisyum hacimleri (ortalama± standart sapma).

İntersitisyum (milimetre küp)	Kontrol (n=6)	Vazektomi (n=6)	P
1 hafta	239.627±29.551	233.867±42.079	ns
12 hafta	248.106±33.938	250.4±58.822	ns
24 hafta	228.8±36.130	175.15±43.030	ns

ns: önemli fark yok

4.2.1.3 Sol Testisin Toplam Adlüminal Kompartıman Hacmi

Sol testislerde Tablo 9’da toplam adlüminal kompartıman ait hacim değerleri görülmektedir.

Adlüminal kompartımana ait hacimler karşılaştırıldığında, vazektomili grupların tamamında kontrole göre bir azalma olduğu görüldü. Ancak, bu azalma 1. haftada istatistiksel bakımdan önemli değil iken ($P>0.05$), 12 ve 24 haftalık gruplarda önemli idi (ikisinde de $P=0.000$).

Tablo 8: Cavalieri yöntemi ile ölçülen sol testis toplam adlüminal kompartıman hacimleri (ortalama± standart sapma).

Adlüminal Kompartıman (milimetre küp)			
	Kontrol (n=6)	Vazektomi (n=6)	p değeri
1 hafta	189.76±36.417	126.64±17.400	ns
12 hafta	302.026±61.130	109.52±54.174	0.000
24 hafta	392.42±72.700	56.22±46.900	0.000

ns: önemli fark yok

4.2.1.4 Sol Testisin Toplam Bazal Kompartıman Hacmi

Tablo 10'da hayvanların sol testislerine ait toplam bazal kompartıman hacimleri gösterilmiştir.

Bazal kompartıman hacimleri karşılaştırıldığında, vazektomili grupların tamamında kontrollere göre bir azalma olduğu ve bu azalmanın 1, 12 ve 24 haftalık gruplarda önemli idi (hepsi P=0.000).

Tablo 9: Cavalieri yöntemi ile ölçülen sol testis toplam bazal kompartıman hacimleri (ortalama± standart sapma).

Bazal Kompartıman (milimetre küp)			
	Kontrol (n=6)	Vazektomi (n=6)	P
1 hafta	161.653±22.677	74.186±7.610	0.000
12 hafta	195.786±16.121	88.933±15.764	0.000
24 hafta	265.280±14.410	78.830±40.280	0.000

4.2.1.5 Sol Testisin Toplam Seminifer Tübül Lümeni Hacmi

Çalışmamızdaki hayvanların sol testislerindeki toplam seminifer tübül lümenlerinin hacimleri ve istatistiksel karşılaştırması Tablo 11’de görülmektedir.

Tablodaki verilerden görüldüğü üzere, tüm vazektomi gruplarında kontrol gruplarına kıyasla seminifer tübül lümeni hacimlerinde önemli derecede azalma olduğu saptandı (1. haftada P= 0.000, 12. ve 24. haftalarda P=0.004).

Tablo 10: Cavalieri yöntemi ile ölçülen sol testisin toplam seminifer tübül lümeni hacimleri (ortalama± standart sapma).

Seminifer Tübül Lümeni (milimetre küp)	Kontrol (n=6)	Vazektomi (n=6)	P
1 hafta	189.547±27.350	78.186±19.054	0.000
12 hafta	191.786±17.121	101.786±43.530	0.004
24 hafta	220.64±37.030	109.57±37.650	0.004

4.2.2 Sol Testisin Birim Hacimdeki Hacim Oranları

Sol testislerden elde edilen interstisyum, adlüminal kompartıman, bazal kompartıman ve seminifer tübül lümeni hacimlerinin sol testis hacmine oranlanması sonucu elde edilen hacim oranları ve bu değerlerin istatistiksel karşılaştırmaları Tablo 12’de gösterilmiştir.

Adlüminal ve bazal kompartıman hacimlerinin tüm testis hacmine oranlanmadan yapılan karşılaştırmaları ile tüm testis hacmine oranlanarak yapılan karşılaştırmaları birbiriyle uyumlu olarak saptandı.

İnterstisyum hacminin tüm testis hacmine oranlanmadan yapılan gruplar arası karşılaştırmalarında önemli bir fark saptanmamasına (hepsi $P>0.05$) karşın, tüm testis hacmine oranlanarak yapılan karşılaştırmada 12. ve 24. haftalarda interstisyum hacim oranının vazektomili gruplarda daha yüksek olduğu saptandı (sırasıyla $P=0.014$ ve $P=0.000$).

Seminifer tübül lümeni hacminin tüm testis hacmine oranlanmadan yapılan gruplar arası karşılaştırmalarında tüm haftalarda gruplar arasında önemli farklar saptanmasına (hepsi $P<0.05$) karşın, tüm testis hacmine oranlanarak yapılan karşılaştırmada, yalnızca 24. haftada seminifer tübül lümeni hacim oranı olarak vazektomili grupta daha yüksek olduğu saptandı ($P=0.004$).

Tablo 11: Sol testis interstisyum, adlüminal kompartıman, bazal kompartıman ve seminifer tübül lümeni hacimlerinin tüm sol testis hacmine oranları= V_V (ortalama± standart sapma).

		KONTROL (n=6)	VAZEKTOMİ (n=6)	P
İntersitisyum (hacim oranı= V_V)	1 Hafta	35.57±5.64	45.06±2.25	ns
	12 Hafta	25.70±4.40	43.70±15.90	0.014
	24 Hafta	19.89±1.51	36.05±10.57	0,000
Adlüminal Kompartıman (hacim oranı= V_V)	1 Hafta	22.00±1.86	24.57±1.45	ns
	12 Hafta	31.90±7.00	17.80±7.60	0.000
	24 Hafta	37.50±3.30	12.33±5.20	0,000
Bazal Kompartıman (hacim oranı= V_V)	1 Hafta	19.71±1.03	14.49±1.50	0.030
	12 Hafta	20.80±2.90	14.40±0.20	0.005
	24 Hafta	23.00±2.37	19.13±4.60	0.028
Seminifer Tübül Lümeni (hacim oranı= V_V)	1 Hafta	21.30±3.50	15.00±1.56	ns
	12 Hafta	17.20±1.70	15.70±4.80	ns
	24 Hafta	17.00±2.30	25.40±6.30	0.004

ns: önemli fark yok

4.2.3 Toplam Hücre Sayıları

Çalışmamızda her bir sol testisten elde edilen toplam hücre sayılarına ait bulgularımız aşağıda verilmiştir.

4.2.3.1 Leydig Hücre Sayısı

Sol testisteki toplam Leydig hücresi sayıları ve gruplara göre karşılaştırması Tablo 13’de görülmektedir.

Leydig hücrelerinin sayım sonuçlarına göre 1, 12 ve 24. haftalarda vazektomi gruplarında kontrol gruplarına göre toplam Leydig hücre sayılarının önemli derecede azaldığı saptandı (hepsi $P=0.000$).

Tablo 12: Kontrol ve vazektomi gruplarının sol testislerindeki toplam Leydig hücresi sayılarının karşılaştırılması (ortalama \pm standart sapma).

Leydig Hücresi (Toplam hücre sayısı ($\sum Q$))	Kontrol (n=6)	Vazektomi (n=6)	P
1 hafta	33 324 372 \pm 1 199 550	29 200 392 \pm 654 105	0.000
12 hafta	35 458 695 \pm 1 245 983	20 014 722 \pm 775 323	0.000
24 hafta	36 341 433 \pm 1 381 528	8 005 785 \pm 2 057 674	0.000

4.2.3.2 Myoid Hücre Sayısı

Sol testisteki toplam myoid hücre sayıları ve gruplara göre karşılaştırması Tablo 14’de görülmektedir.

Myoid hücrelerin sayım sonuçlarına göre gruplar arasında 1. ve 12. haftalarda önemli bir fark görülmez iken (ikisinde de $P>0.05$) 24. haftada vazektomi grubunda kontrol grubuna göre toplam myoid hücre sayısının önemli derecede azaldığı saptandı ($P=0.000$).

Tablo 13: Kontrol ve vazektomi gruplarının sol testislerindeki toplam myoid hücre sayılarının karşılaştırılması (ortalama \pm standart sapma).

Myoid Hücre (ΣQ)	Kontrol (n=6)	Vazektomi (n=6)	P
1 hafta	27 827 820 \pm 746 575	28 435 617 \pm 918 251	ns
12 hafta	28 782 729 \pm 988 853	28 587 600 \pm 702 664	ns
24 hafta	33 350 373 \pm 667 146	4 648 034 \pm 1 312 666	0.000

ns: önemli fark yok

4.2.3.3 Sertoli Hücre Sayısı

Sol testisteki toplam Sertoli hücre sayıları ve gruplara göre karşılaştırması Tablo 15’de görülmektedir.

Sertoli hücrelerinin sayım sonuçlarına göre gruplar arasında 1. ve 12. haftalarda önemli bir fark görülmez iken (ikisinde de $P>0.05$) 24. haftada vazektomi grubunda kontrol grubuna göre toplam Sertoli hücre sayısının önemli derecede azaldığı saptandı ($P=0.000$).

Tablo 14: Kontrol ve vazektomi gruplarının sol testislerindeki toplam Sertoli hücresi sayılarının karşılaştırılması (ortalama± standart sapma).

Sertoli Hücresi (ΣQ)	Kontrol (n=6)	Vazektomi (n=6)	P
1 hafta	45 125 861±2 270 535	41 711 535±5 813 662	ns
12 hafta	43 239 027±1 379 418	41 695 188±171 0695	ns
24 hafta	44 429 788±1 446 564	4 748 559±331 130 9	0.000

ns: önemli fark yok

4.2.3.4 Spermatojonyum Hücre Sayısı

Sol testisteki toplam spermatojonyum hücre sayıları ve gruplara göre karşılaştırması Tablo 16’da görülmektedir.

Spermatojonyum hücrelerinin sayım sonuçlarına göre gruplar arasında 1. ve 12. haftalarda önemli bir fark görülmez iken (ikisinde de $P>0.05$) 24. haftada vazektomi grubunda kontrol grubuna göre toplam spermatojonyum hücre sayısının önemli derecede azaldığı saptandı ($P=0.000$).

Tablo 17: Kontrol ve vazektomi gruplarının sol testislerindeki toplam spermatojonyum hücresi sayılarının karşılaştırılması (ortalama± standart sapma).

Spermatojonyum Hücresi (ΣQ)	Kontrol (n=6)	Vazektomi (n=6)	P
1 hafta	86 259 448±6 553 769	75 194 102±7 597 168	ns
12 hafta	93 117 325±5 474 440	89 500 473±4 033 346	ns
24 hafta	95 970 263±5 739 707	5 734 190±5 368 277	0.000

ns: önemli fark yok

4.2.3.5 Spermatid Hücre Sayısı

Sol testisteki toplam spermatid hücre sayıları ve gruplara göre karşılaştırması Tablo 17’de görülmektedir.

Spermatid hücrelerinin sayım sonuçlarına göre 1, 12 ve 24. haftalarda vazektomi gruplarında kontrol gruplarına göre toplam spermatid hücre sayılarının önemli derecede azaldığı saptandı (hepsi P=0.000).

Tablo 18: Kontrol ve vazektomi gruplarının sol testislerindeki toplam spermatid hücresi sayılarının karşılaştırılması (ortalama± standart sapma).

Spermatid Hücresi ($\sum Q$)	Kontrol (n=6)	Vazektomi (n=6)	P
1 hafta	530 205 416±120 442 837	150 787 143±102 171 905	0.000
12 hafta	675 450 000±25 892 759	196 618 750±14 316 012	0.000
24 hafta	684 981 041±33 689 448	25 891 071±24 593 961	0.000

ns: önemli fark yok

4.2.4 Sol Testisin Birim Hacim Başına Düşen Hücre Sayıları

Sol testislerden elde edilen hücre sayıları ve testis dokusundaki hacimler dikkate alınarak yapılan birim hacim başına düşen hücre sayıları ve gruplara göre istatistiksel karşılaştırma sonuçları Tablo 18’de gösterilmiştir.

Toplam hücre sayılarının gruplar arasında yapılan karşılaştırmaları ile birim testis hacmindeki (mm^3) hücre sayılarının gruplar arasında yapılan karşılaştırma sonuçları kıyaslandığında arada dikkat çekici farklar olduğu görüldü.

Toplam Leydig hücresi sayılarının gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarında 1. 12. ve 24. haftalarda vazektomi ile kontrol grupları arasında önemli farklar saptanmasına (hepsi $P=0.000$) karşın, birim testis hacmindeki hücre sayısı bakımından yapılan karşılaştırmada 1. haftada Leydig hücre yoğunluğunun vazektomili grupta arttığı ($P=0.001$), 12. haftada iki grup arasında bir fark olmadığı ($P>0.05$), 24. haftada ise vazektomili grupta hücre yoğunluğunun önemli derecede azaldığı ($P=0.002$) saptandı.

Toplam myoid hücre sayıları gruplar arasında karşılaştırıldığında 1. ve 12. haftalarda önemli fark bulunamamış iken ($P>0.05$) birim hacme göre yapılan karşılaştırmalarda 1. ve 12. haftalarda gruplar arasında artış yönünde önemli farklar saptandı (ikisinde de $P=0.000$).

Toplam spermatogonyum hücresi sayıları gruplar arasında karşılaştırıldığında 1. ve 12. haftalarda önemli fark bulunamamış iken ($P>0.05$) birim hacme göre yapılan karşılaştırmalarda 1. ve 12. haftalarda gruplar arasında artış yönünde önemli farklar saptandı (ikisinde de $P=0.000$).

Toplam Sertoli hücresi sayıları gruplar arasında karşılaştırıldığında 1. ve 12. haftalarda önemli fark bulunamamış iken ($P>0.05$) birim hacme göre yapılan karşılaştırmalarda 1. ve 12. haftalarda gruplar arasında artış yönünde önemli farklar saptandı (ikisinde de $P=0.000$).

Toplam spermatid hücre sayıları gruplar arasında karşılaştırıldığında tüm haftalarda gruplar arasında önemli farklar (hepsi $P=0.000$) saptanmış iken birim hacme göre yapılan karşılaştırmalarda da gruplar arasında toplam spermatid sayısına paralel olarak önemli farklar saptandı (hepsi $P=0.000$).

Tablo 19: Sol testiste birim hacim başına düşen hücre sayıları (ortalama± standart sapma, hücre/mm³=N_V).

		KONTROL (n=6)	VAZEKTOMİ (n=6)	p
Leydig (N _V)	1 Hafta	41 764±3 166	57 651±9 529	0.001
	12 Hafta	36 232±4 153	36 534±5 439	ns
	24 Hafta	34 440±5 935	17 800±7 518	0.002
Myoid (N _V)	1 Hafta	34 938±3 384	56 167±9 497	0.000
	12 Hafta	29 361±2 797	52 260±8 383	0.000
	24 Hafta	28 421±3 895	11 348±3 796	0.000
Spermatogonyum (N _V)	1 Hafta	107 994±9 839	147 617±10 410	0.000
	12 Hafta	94 828±8 366	163 099±22 865	0.000
	24 Hafta	90 318±11 520	15 777±15 444	0.000
Sertoli (N _V)	1 Hafta	56 631±5 678	78 624±5 607	0.001
	12 Hafta	44 165±4 844	76 572±14 653	0.000
	24 Hafta	42 965±6 148	13 320±9 491	0.000
Spermatid (N _V)	1 Hafta	659 158±11 7695	220 008±57 885	0.000
	12 Hafta	690 183±79 026	36 0840±76 774	0.000
	24 Hafta	646 164±92 882	58 777±69 372	0.000

ns: önemli fark yok

4.3 Histopatoloji

Işık mikroskopik olarak 1, 12 ve 24 haftalık vazektomi ve kontrol gruplarını oluşturan sıçan testislerinin genel mikroskopik görünümünü saptamak amacıyla stereoloji ölçümlerinin yapıldığı 40 µm'lik kalın kesitlerin yanında PAS + Hematoksilin ve Masson'un trikrom boyası ile boyanan 5 µm'lik kesitler üzerinde de inceleme yapıldı.

Buna göre 1, 12 ve 24 haftalık kontrol gruplarına ait testis dokularında seminifer tübüller ve tübül epitelindeki spermatogonyum, Sertoli ve spermatid hücreleri, bazal laminaya komşu myoid hücreler ile interstisyum ve bu alandaki Leydig hücrelerinin normal yapıda olduğu gözlemlendi. Spermatozoonların kuyrukları lümene ve baş kısımları ise Sertoli hücrelerinin tepesindeki oyuklara girmiş durumdaydı. İnterstisyel alandaki Leydig hücreleri, tipik eksantrik yerleşimli ve çok sayıda çekirdekçik içeren çekirdekleriyle normal görünümdeydi. Ayrıca seminifer tübülün bazal laminasına yakın yerleşen myoid hücrelerin düzgün duruşları ve mekik tarzındaki çekirdekleri oldukça tipik görünümdeydi (Şekil 15-25).

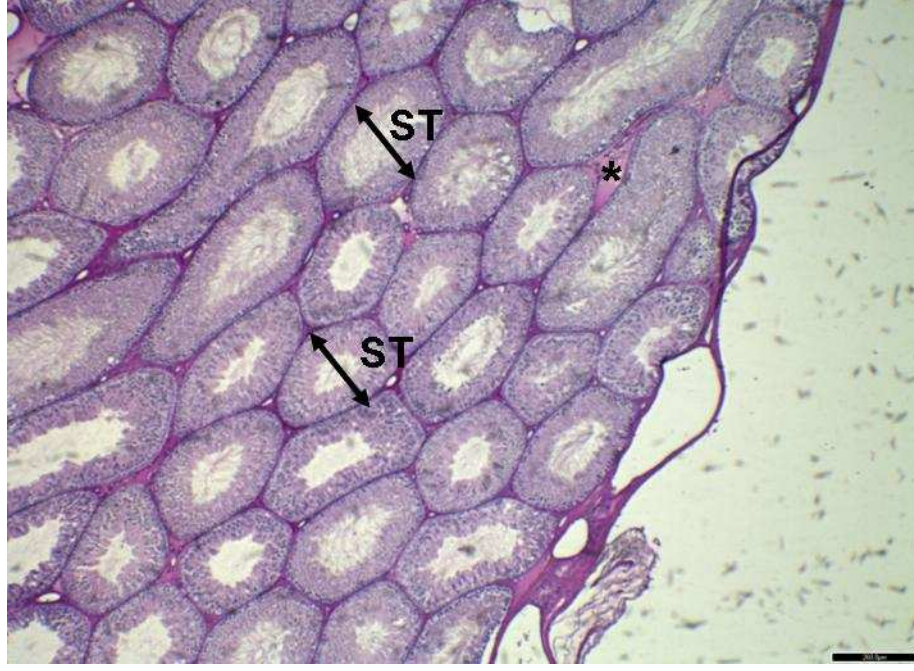
1 haftalık vazektomi grubunun testis dokularında seminifer tübül bazal membranlarının kalınlaştığı gözlemlendi. Seminifer tübüllerde düzensizlik ve spermatogenez hücrelerinde dejenerasyon olduğu saptandı. Spermatozoonlar normale yakın gözükseler de spermatozoon ve spermatid hücrelerinde heterokromatik yapı baskındı. Bazal membranın ve myoid hücrelerin normal yapıları bozulmuştu. Sertoli hücreleri ise hafif dejenerasyon göstermekteydi. Tübül yapısındaki spermatidlerin kontrol grubuna göre azaldığı gözlemlendi. İnterstisyumda ise tübüllerin nekrozu ve atrofisine bağlı olarak genişleme saptandı. Leydig hücrelerinin

bir bölümünde dejenerasyon görüldü. Makrofajların çok olması dikkat çekiciydi. Bu alandaki damarlar genişlemiş durumdaydı (Şekil 26 –29).

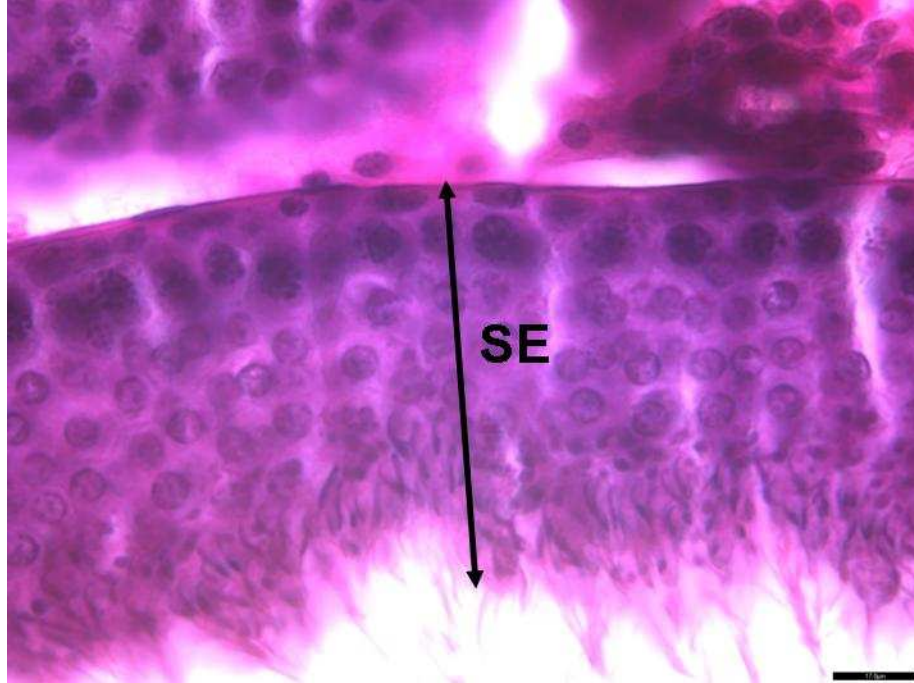
12 haftalık vazektomi grubunun testis dokuları incelendiğinde, 1 haftalık deney grubuna göre yapısı daha da bozulmuş seminifer tübüller ve interstisyel alanlar görüldü. Seminifer tübüllerin, spermatogenez hücre serilerini oluşturan duvarının 1 haftalık vazektomi grubuna göre incelendiği gözlemlendi. Spermatogonyum, Sertoli ve spermatozoid hücreleri sayıca daha azalmıştı. Spermatozoidler ise daha fazla dejenere olmuştu ve bu hücrelere daha az rastlanıyordu. İnterstisyel alandaki Leydig hücreleri azalarak yerini makrofajlara bırakmıştı (Şekil 30 –35).

24 haftalık vazektomi grubunun testis dokuları incelendiğinde, diğer vazektomi gruplarına göre en göze çarpan değişiklik seminifer tübüllerin spermatogenez hücrelerini içeren duvarının çok daha incelmış olmasıydı. Spermatozoid hücrelerine neredeyse hiç rastlanılmıyordu. Diğer bir belirgin değişiklik de bazal membranın oldukça kalınlaşmış olmasıydı. İnterstisyel alanın fibröz yapısına ek olarak makrofajların sayısı daha da artmıştı. Testis dokusunda sayıları azalmakla birlikte en kolay ayırt edilebilen hücre Leydig hücreleriydi (Şekil 36 –42).

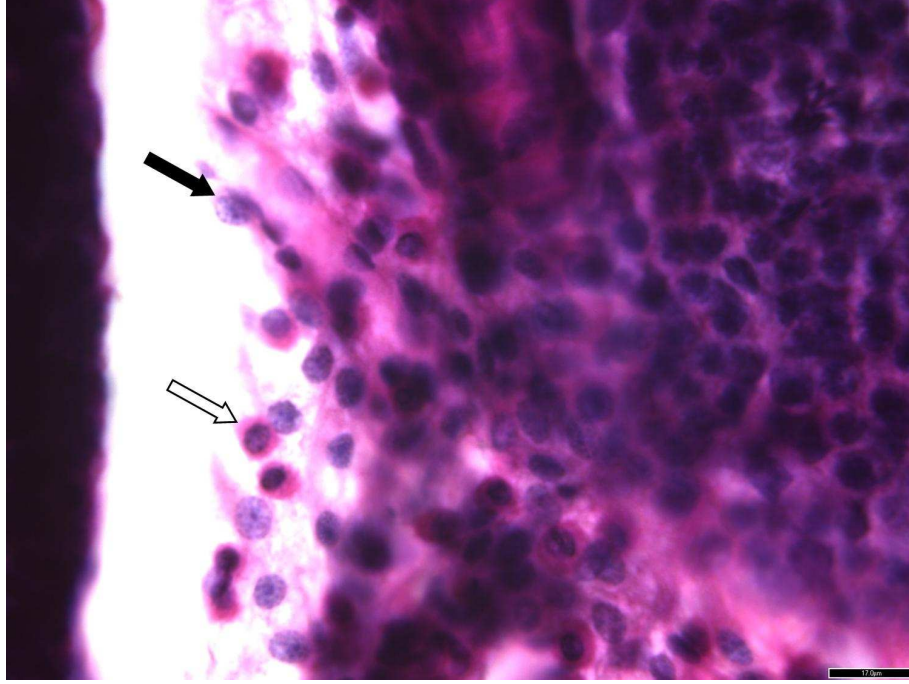
1, 12 ve 24 haftalık vazektomili gruplarının birbiriyle yapılan karşılaştırmalarında deney düresinin artmasına bağlı olarak seminifer tübül bazal membranlarının kalınlaşmış yapılarını rastladık. Bu karşılaştırmalarda seminifer epitel çapın deney süresiyle birlikte incelendiğini gördük. Ayrıca tunika albuginanın kontrol grubundaki normal fibröz yapısının deney gruplarında kalınlaşması dikkat çekiciydi. Yapılan karşılaştırmalarda 24 haftalık deney grubundaki interstisyumdaki damarlanmanın artışı da önemli bir bulgudur (Şekil 43 –45).



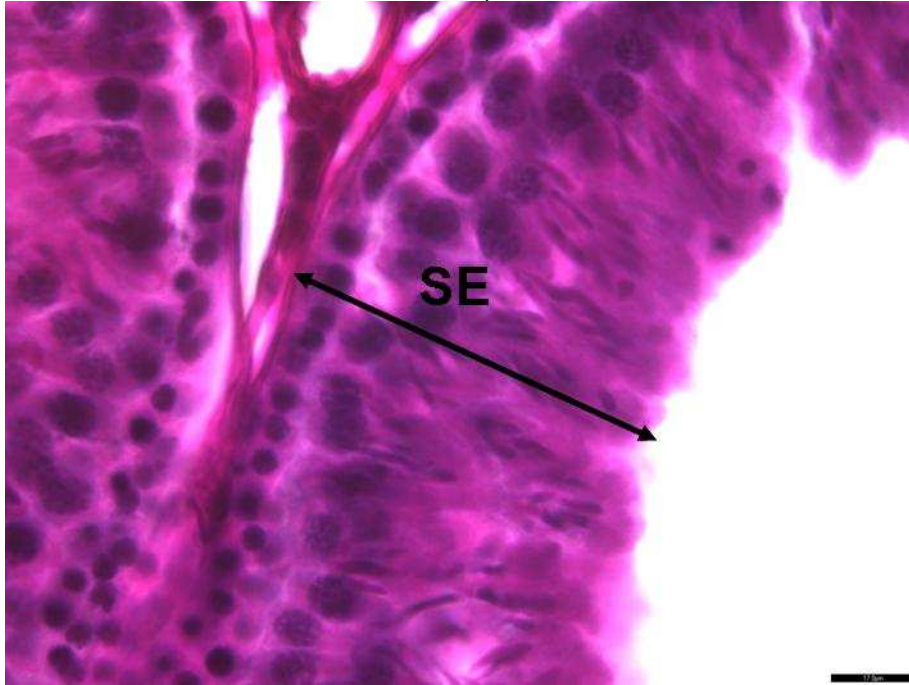
Şekil 15: 1 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüller ve interstisyel alanın normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=260 µm.
(ST: Seminifer tübül, asteriks: İnterstisyel alan)



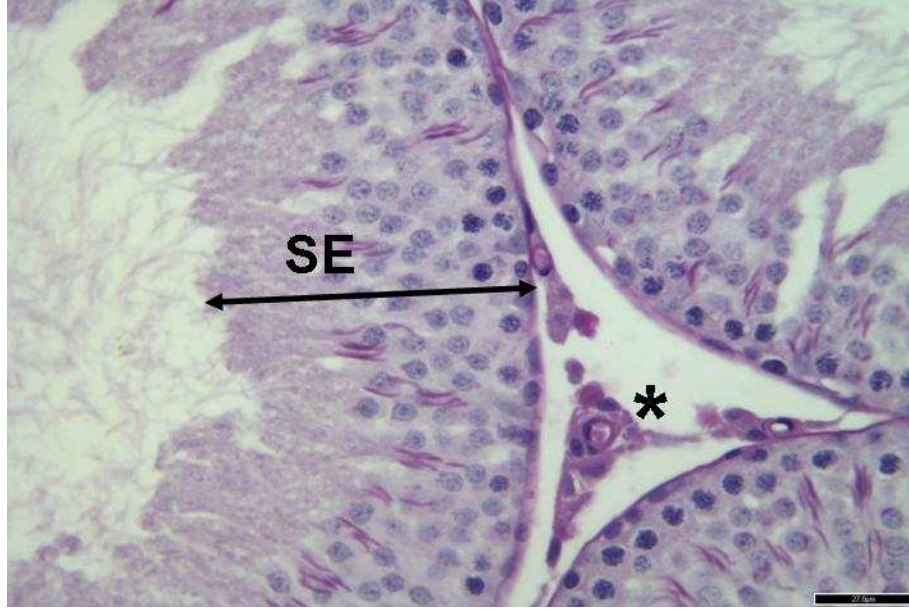
Şekil 16: 1 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübül duvarındaki hücrelerin normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 µm.
(SE: Seminifer epitel)



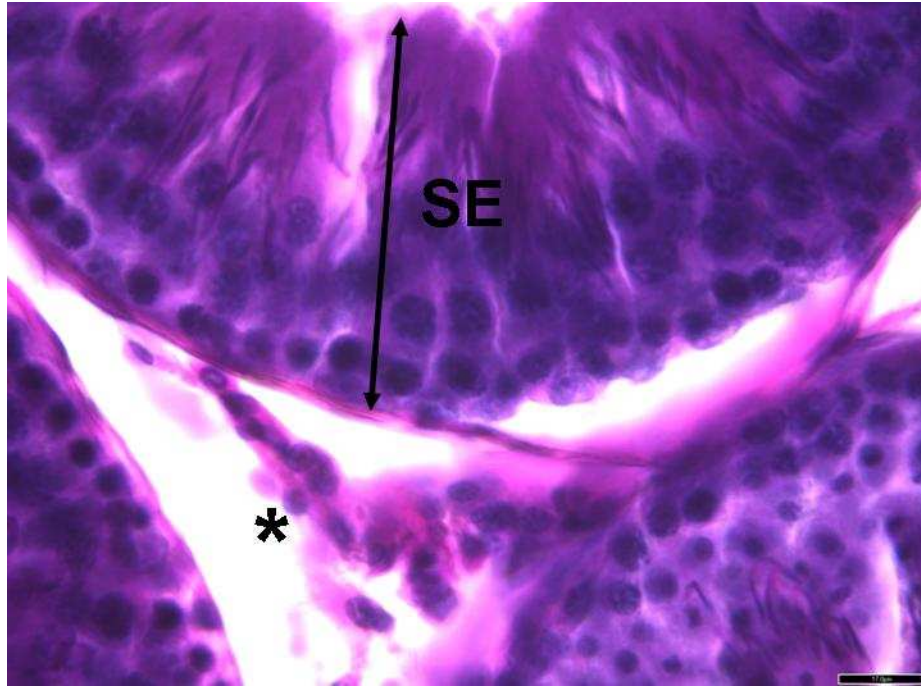
Şekil 17: 1 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. İnterstisyel alanda makrofaj(*boş ok*) ve Leydig hücrelerinin (*dolu ok*) normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 µm.



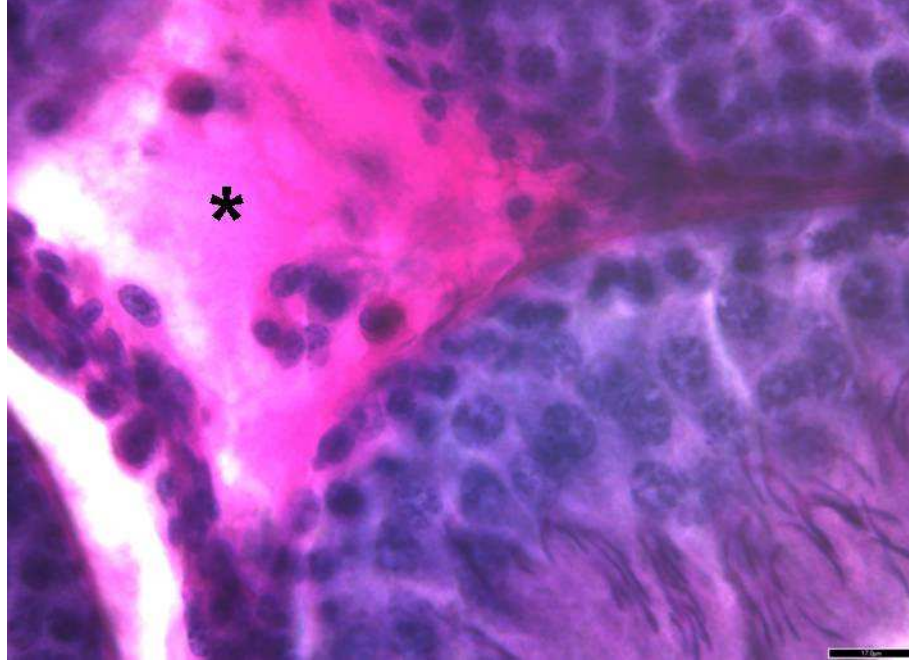
Şekil 18: 1 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübül duvarındaki hücrelerin normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 µm. (SE: Seminifer epitel)



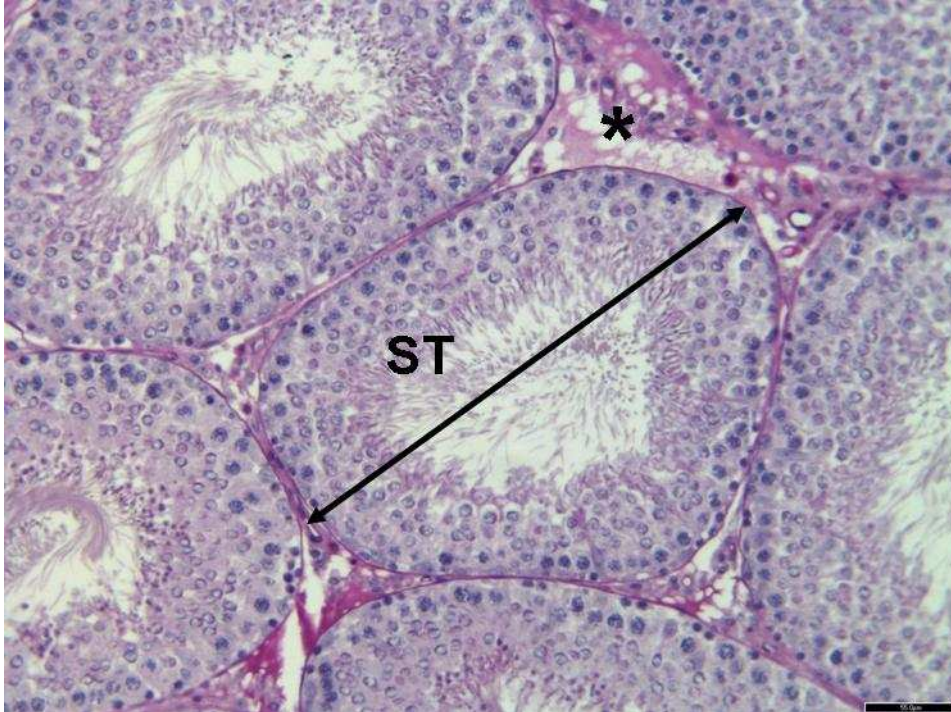
Şekil 19: 12 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüller ve interstisyel alanın normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=27 μ m.
(SE: Seminifer epitel, asteriks: İnterstisyel alan)



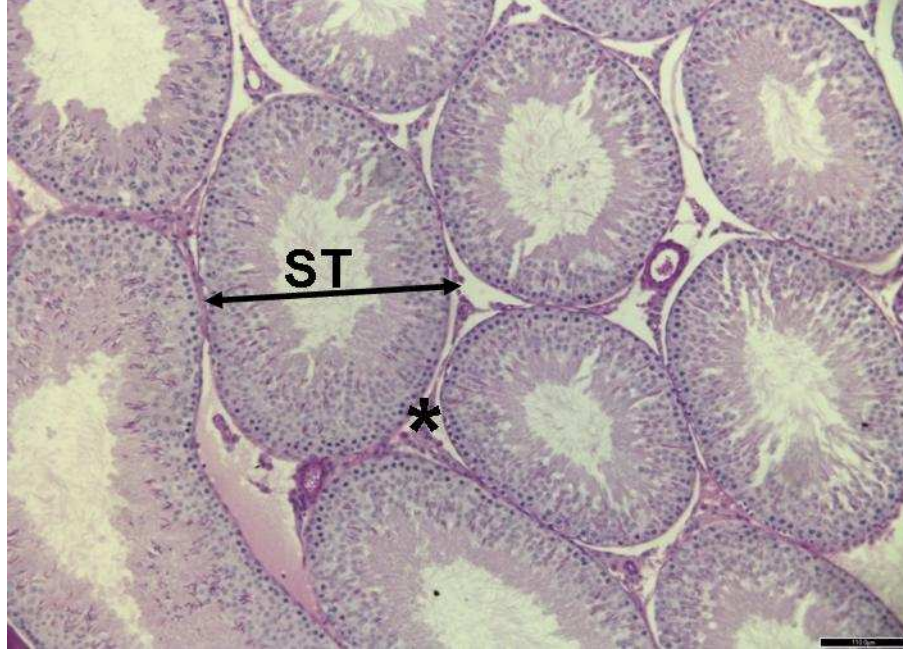
Şekil 20: 12 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüller ve interstisyel alanın normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 μ m.
(SE: Seminifer epitel, asteriks: İnterstisyel alan)



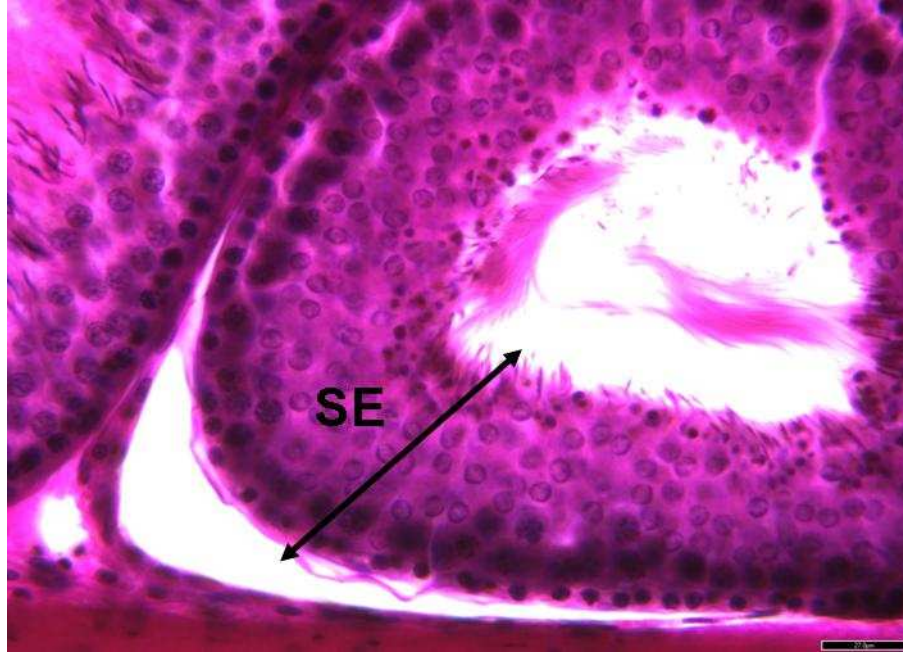
Şekil 21: 12 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. İnterstisyel alandaki normal görünümlü makrofaj ve Leydig hücrelerine dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 μ m. (asteriks: İnterstisyel alan)



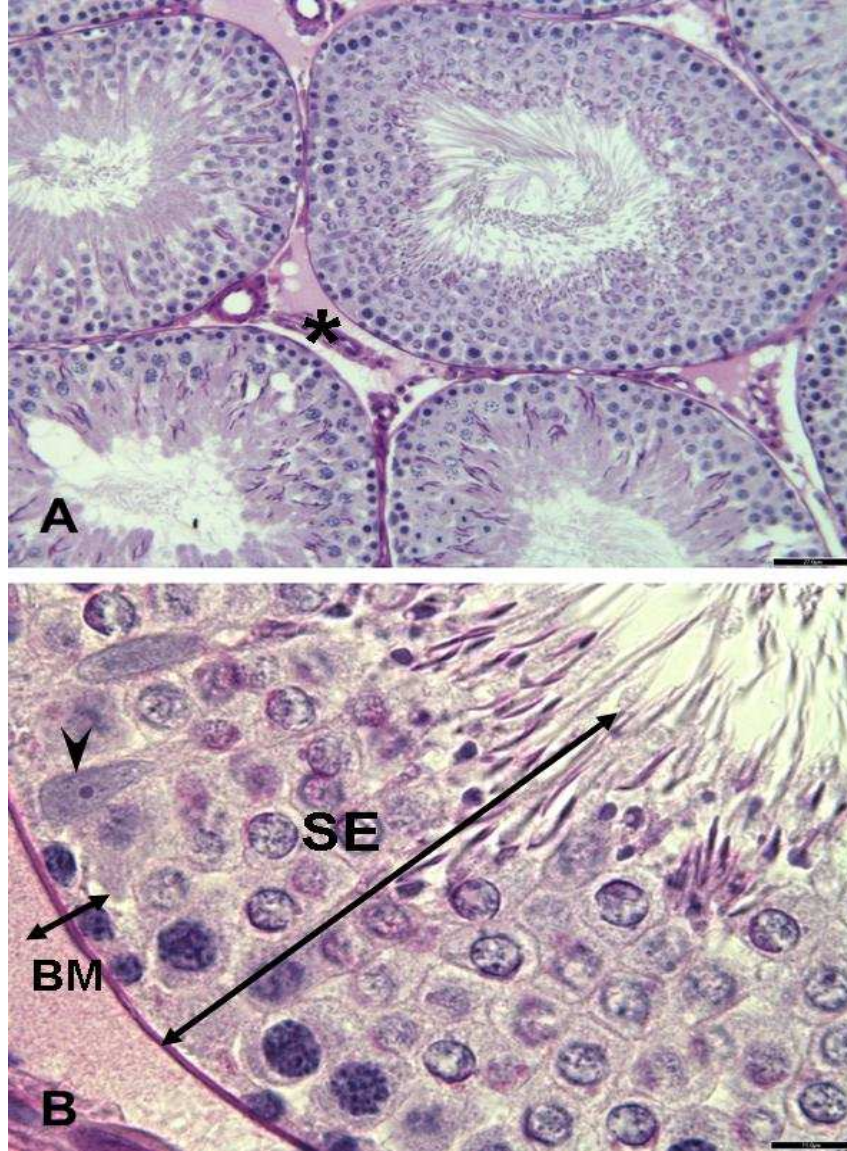
Şekil 22: 24 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüller ve interstisyel alanın normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=55 μ m. (ST: Seminifer tübül, asteriks: İnterstisyel alan)



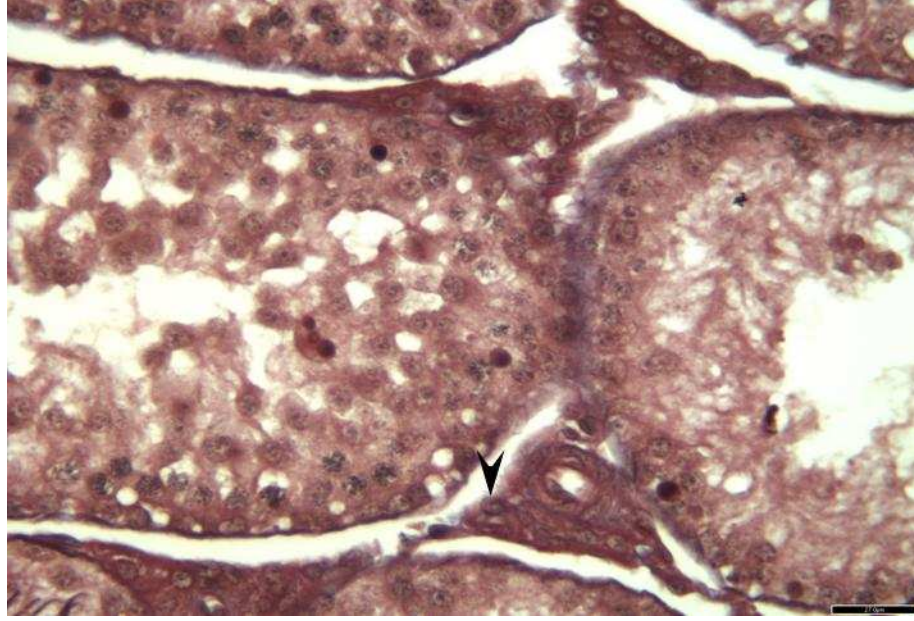
Şekil 23: 24 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüller ve interstisyel alanın normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=110 μ m.
(ST: Seminifer tübül, asteriks: İnterstisyel alan)



Şekil 24: 24 haftalık kontrol grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüllerin duvarındaki hücrelerin normal görüldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=27 μ m.
(SE: Seminifer epitel)



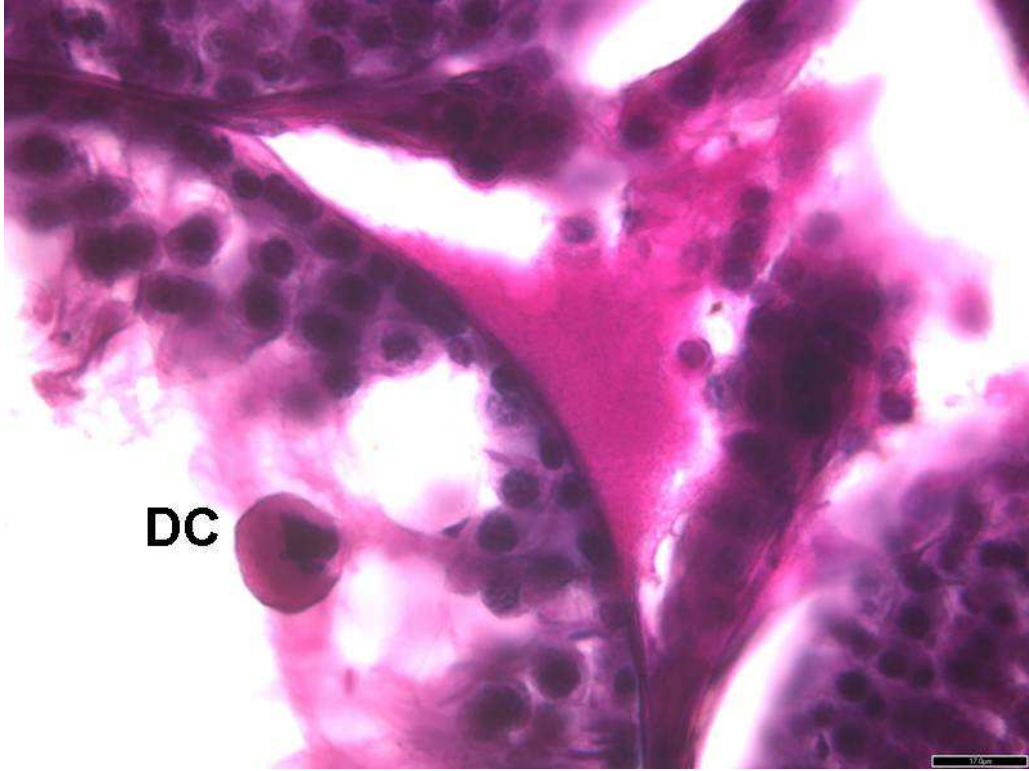
Şekil 25: (A) Kontrol grubuna ait testis kesitleri. Seminifer epitel, interstisyum ve bazal membranların normal görünümüne dikkat ediniz, bar=27 μm . (B) spermatogenez hücrelerinin seminifer tübülde düzenli sıralandığı ve Sertoli hücrelerinin tipik çekirdek görünümü izleniyor, bar=11 μm . İki kesit de PAS+H ile boyanmıştır.(SE: Seminifer epitel, ok başı: Sertoli, BM: Bazal membran, asteriks: İnterstisyel alan)



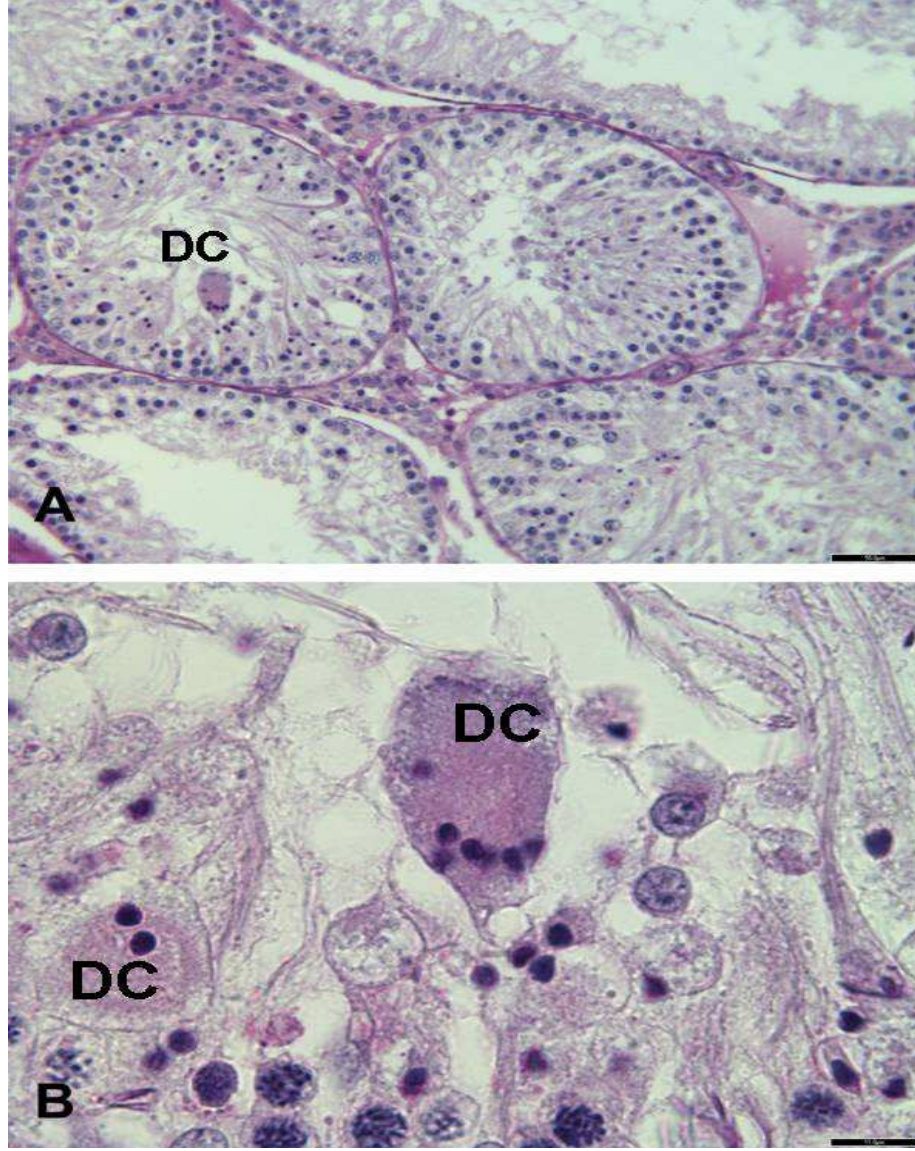
Şekil 26: 1 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüllerin duvarındaki hücrelerin dejenere olmaya başladığı ve interstisyel alanda Leydig hücrelerinin var olduğuna dikkat ediniz. Masson'un trikrom boyası, bar=27 µm. (ok başı: Leydig hücresi)



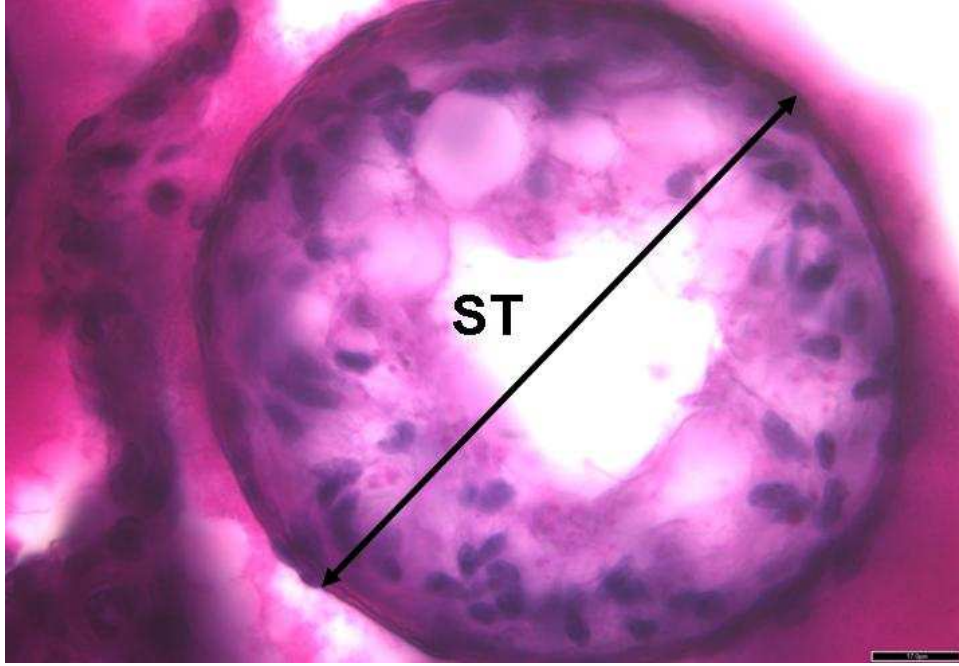
Şekil 27: 1 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüllerin duvarındaki hücrelerin dejenere olmaya başladığına dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 µm.(SE: Seminifer epitel)



Şekil 28: 1 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüllerin duvarındaki hücrelerin dejenere olmaya ve tübül lümenine dökülmeye başladığına ve lümende dev cisimlerin bulunduğuna dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 µm. (DC: Dev hücreli cisim)



Şekil 29: 1 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesitleri. (A) Seminifer epitelde düzensiz dizilmiş hücreler ve lümende dev hücreli cisim, bar=55 μ m, (B) dev hücreli cismin büyültülmüş görüntüsü, bar=11 μ m. İki kesit de PAS+H ile boyanmıştır. (DC: Dev hücreli cisim)



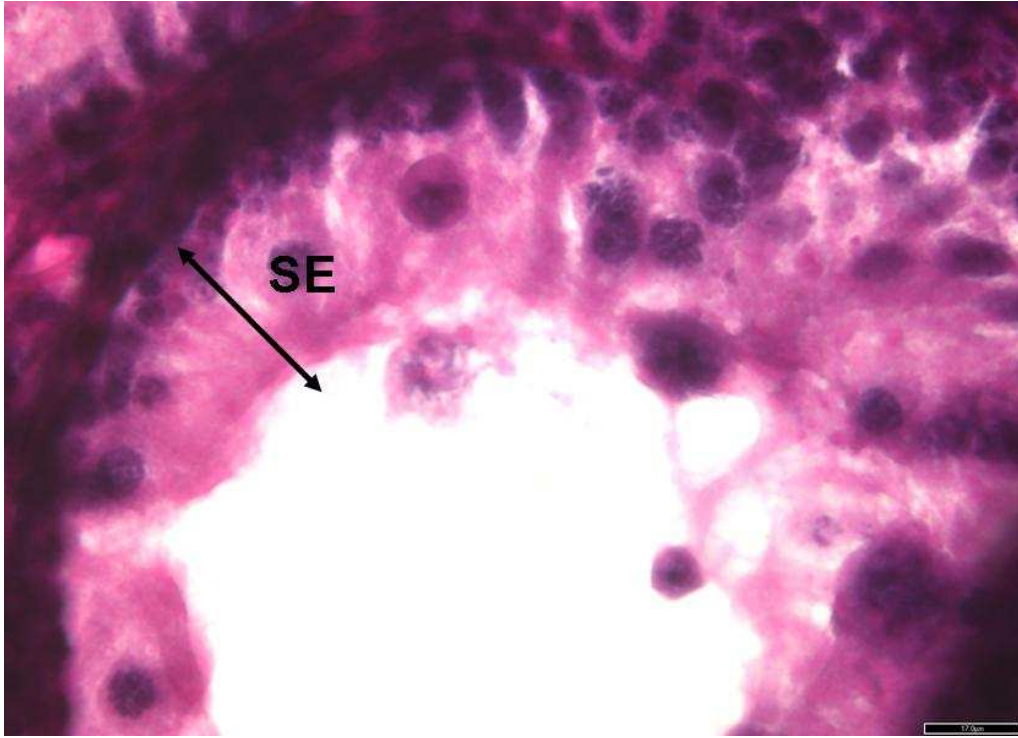
Şekil 30: 12 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübülün duvarındaki hücrelerin dejenere olduğu ve bazal membranın kalınlaştığına dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 μ m. (ST: Seminifer tübül)



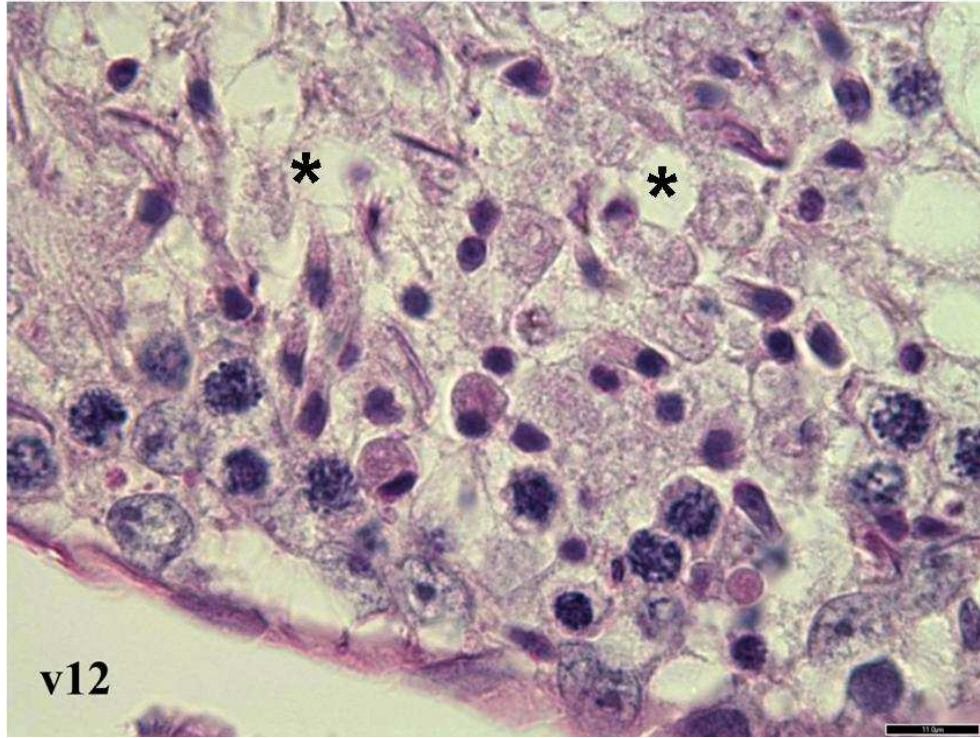
Şekil 31: 12 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübülün duvarındaki hücrelerin döküldüğü ve Leydig hücrelerinin azaldığına dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 μ m. (SE: Seminifer epitel, ok başı: Leydig hücresi)



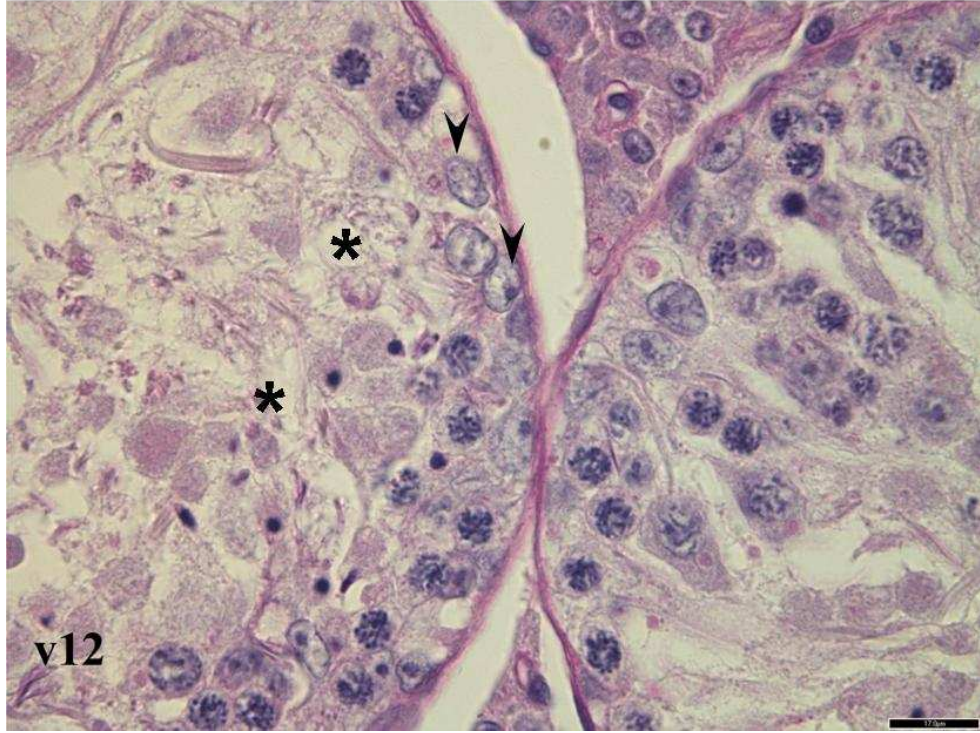
Şekil 32: -12 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüllerin duvarlarının oldukça incelmiş ve tunika albugineanın kalınlaştığına dikkat ediniz. PAS+H, bar=260 µm. (Seminifer epitel, TA: Tunika albuginea)



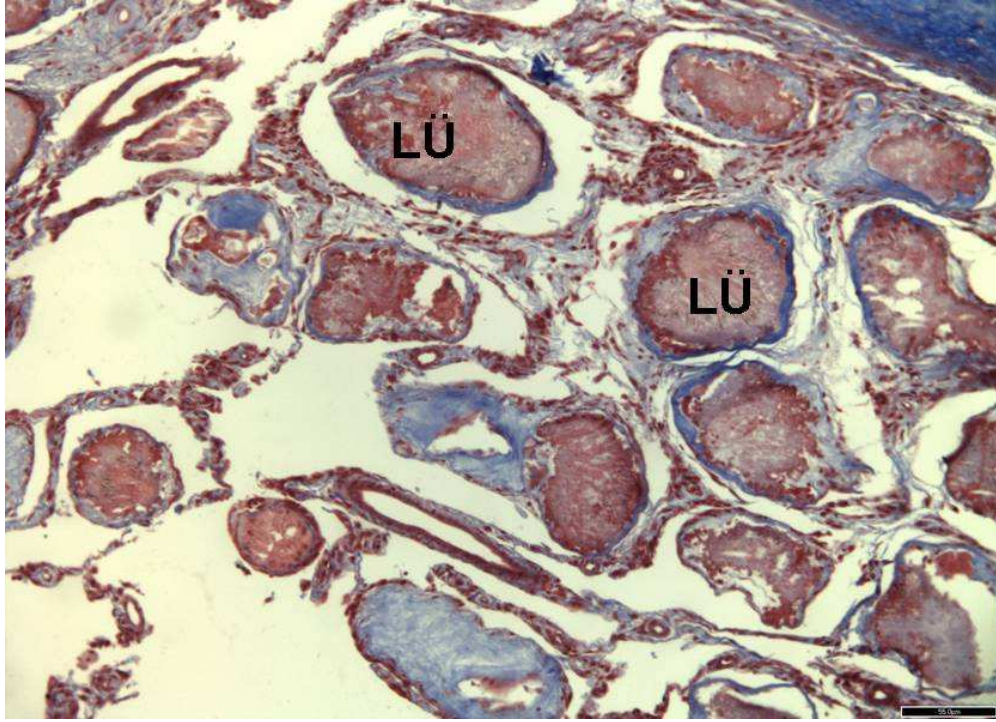
Şekil 33: 12 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübülün duvarındaki hücrelerin dejenere olarak lümenine döküldüğüne dikkat ediniz. PAS+H, bar=17 µm. (SE: Seminifer epitel)



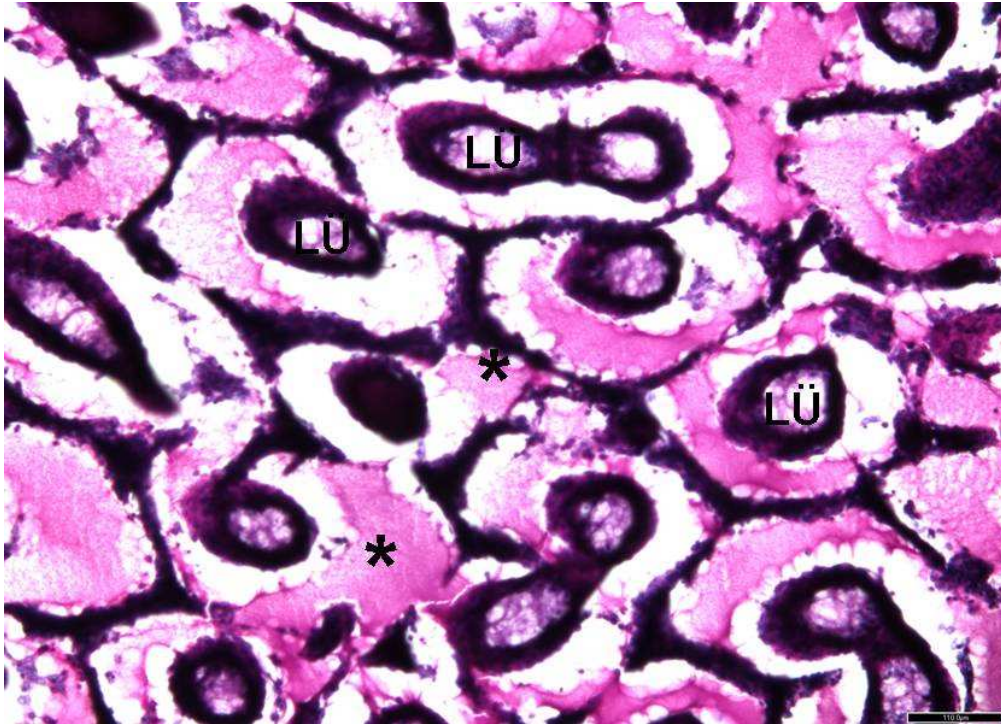
Şekil 34: 12 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesitleri. (A) Seminifer epiteldeki hücrelerin aralarındaki bütünlüğün kaybolduğu, bar=27 µm, (B) spermatogenez hücrelerinin aralarında vakuollerin oluştuğu görülmektedir, bar=11 µm. İki kesit de PAS+H ile boyanmıştır. (SE: Seminifer epitel, asteriks: Vakuol)



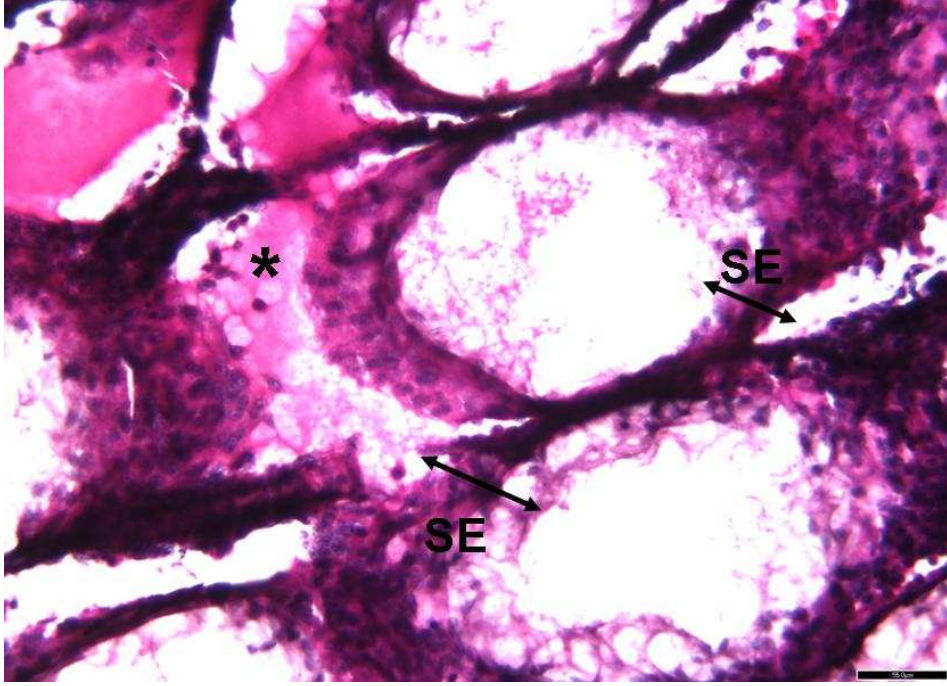
Şekil 35: 12 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesitleri. (A) Seminifer epiteldeki hücrelerin aralarındaki bütünlüğün kaybolduğu ve dejenerasyonların oluştuğu, bar=55 µm, (B) spermatogenez hücrelerinin aralarında vakuollerin oluştuğu, spermatogonyum ve Sertoli hücrelerinin dejenerasyona uğradıkları görülmektedir, bar=17 µm. İki kesit de PAS+H ile boyanmıştır. (SE: Seminifer epitel, asteriks: Vakuol, ok başı: Sertoli hücresi)



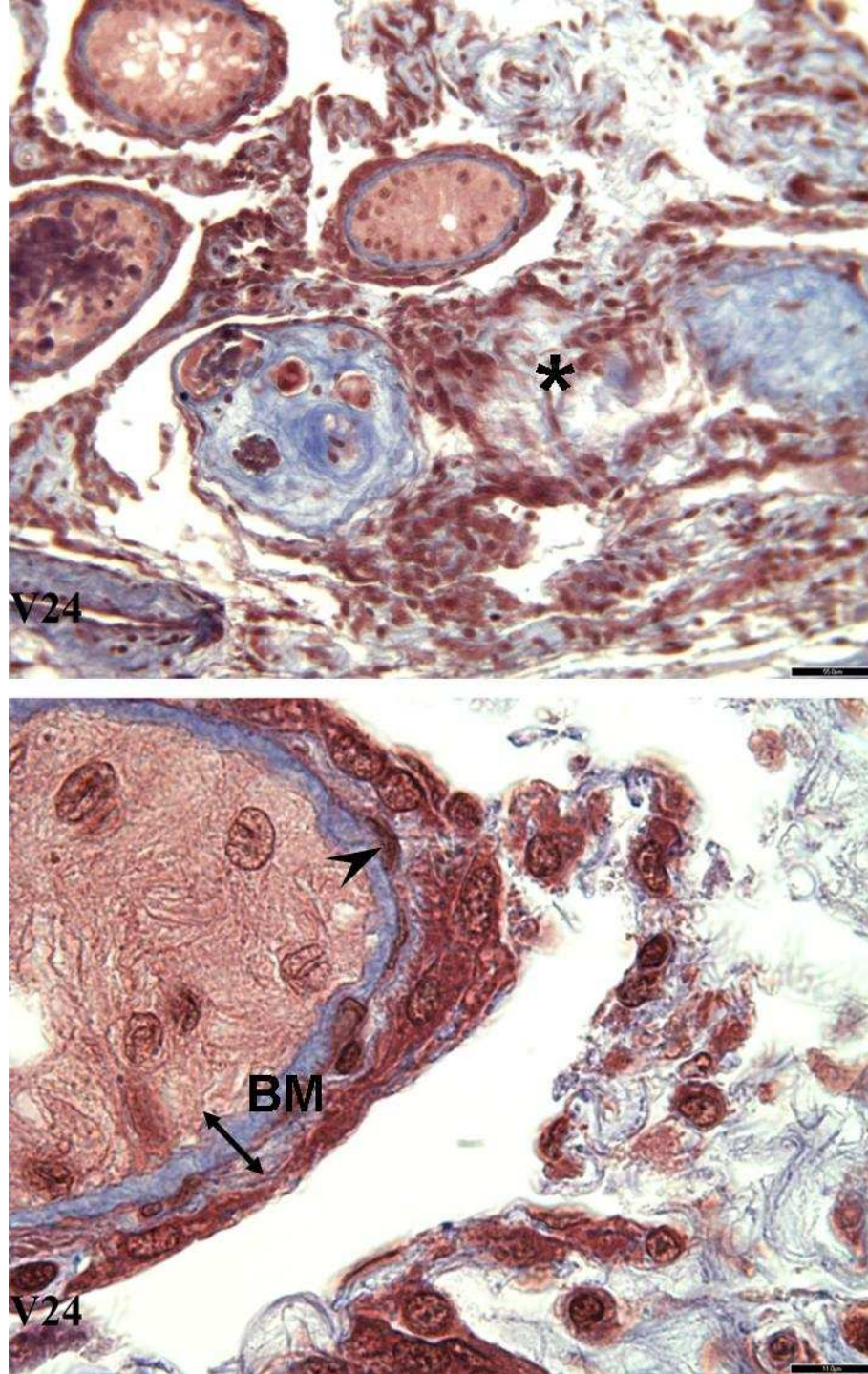
Şekil 36: 24 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüllerin lümenlerinin kapandığına ve interstisyel alanların genişlediğine dikkat ediniz. Masson'un trikrom boyası, bar=55 µm. (LÜ: Lümen)



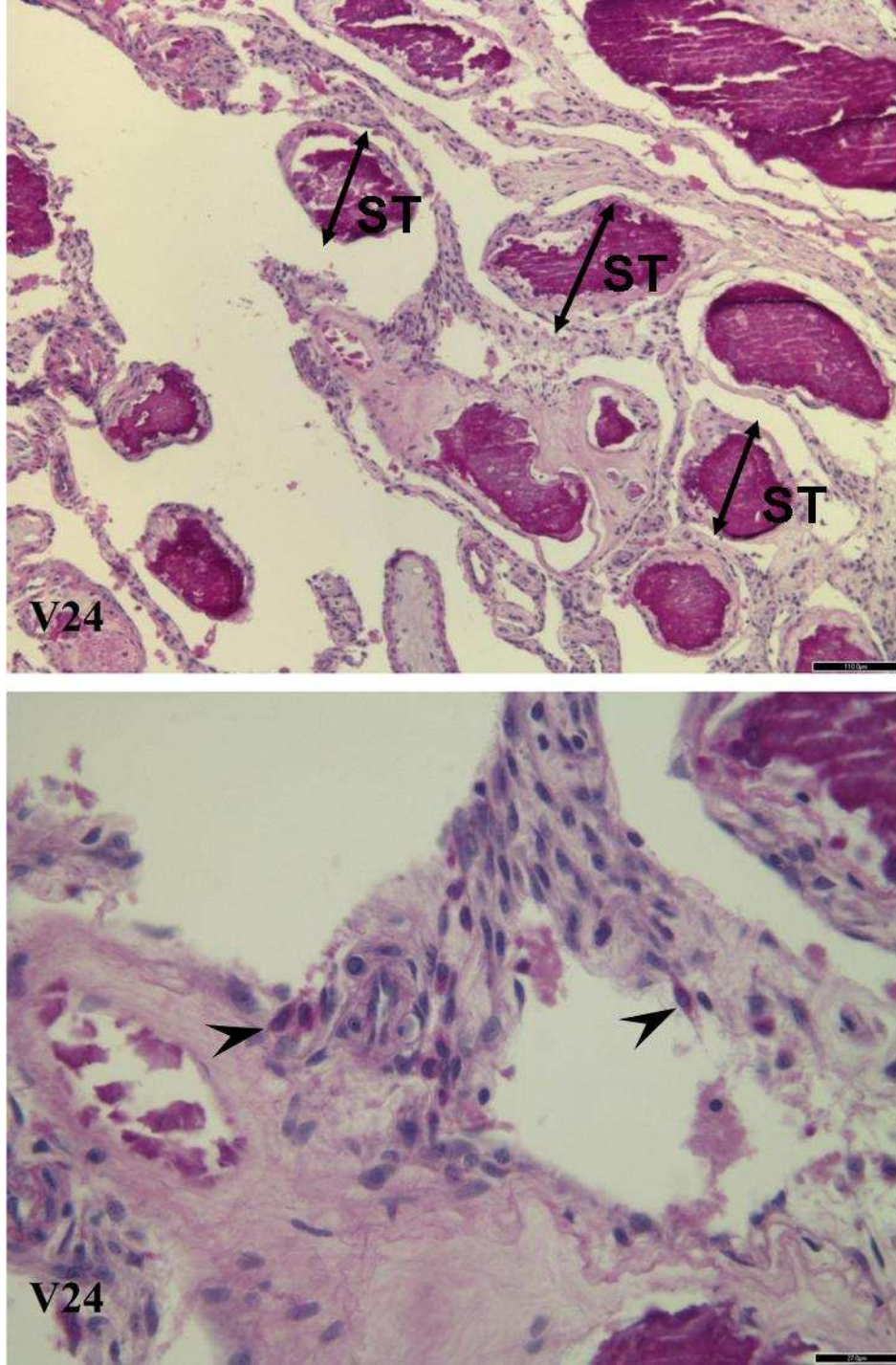
Şekil 37: 24 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüllerin lümenlerinin kapandığına ve interstisyel alanların genişlediğine dikkat ediniz. PAS+H, bar=110 µm. (asteriks: İnterstisyum, LÜ: Lümen)



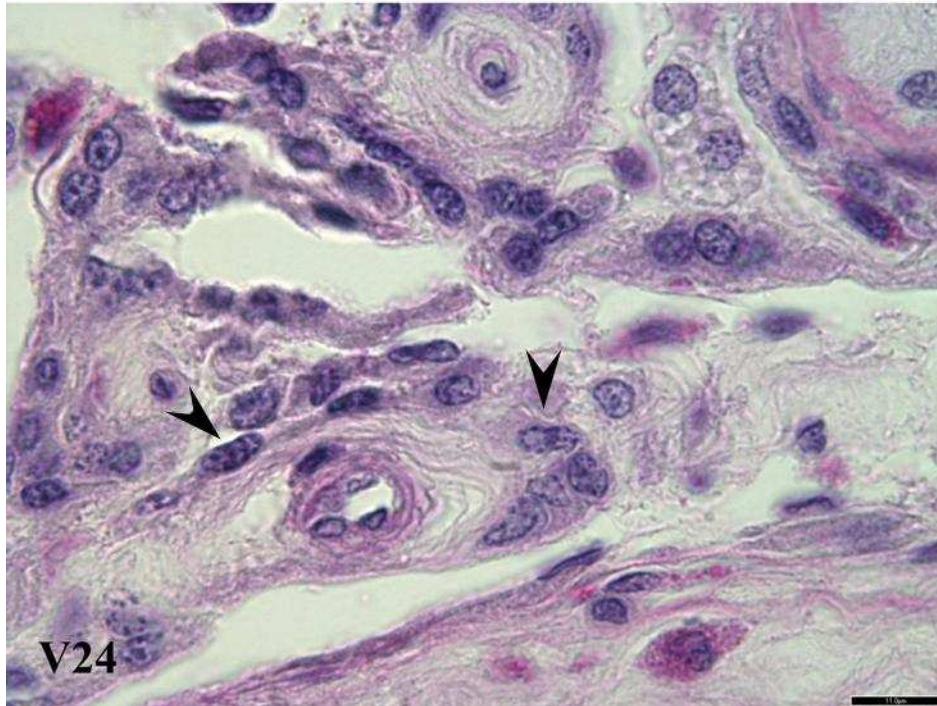
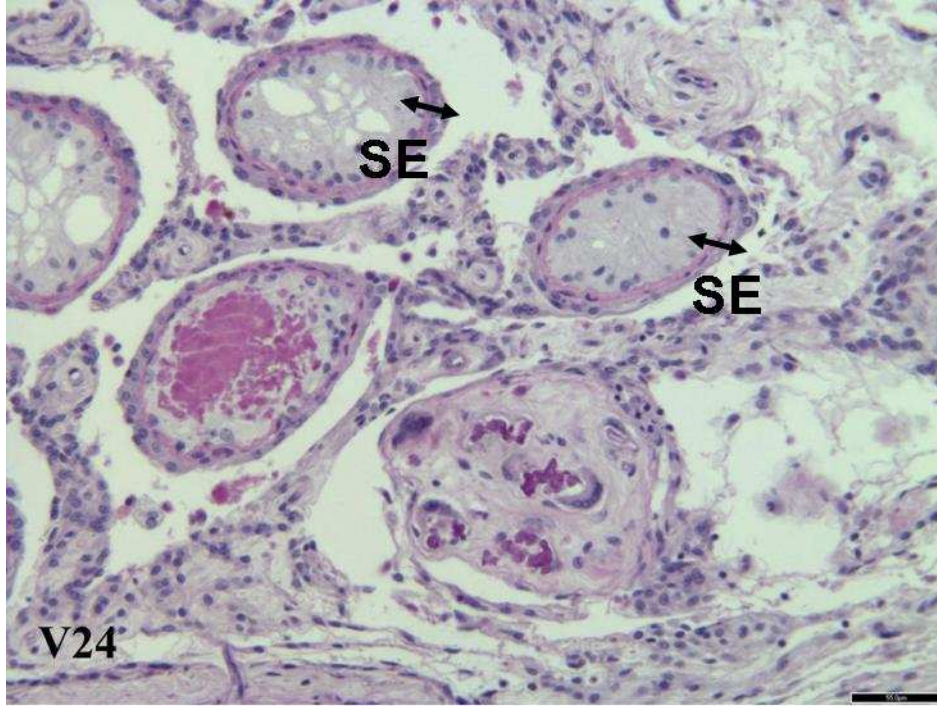
Şekil 38: 24 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesiti. Seminifer tübüllerin duvarında incelme ve interstisyel alanlardaki genişlemelere dikkat ediniz. PAS+H, bar=55 µm. (asteriks: İnterstisyum, SE: Seminifer tübül)



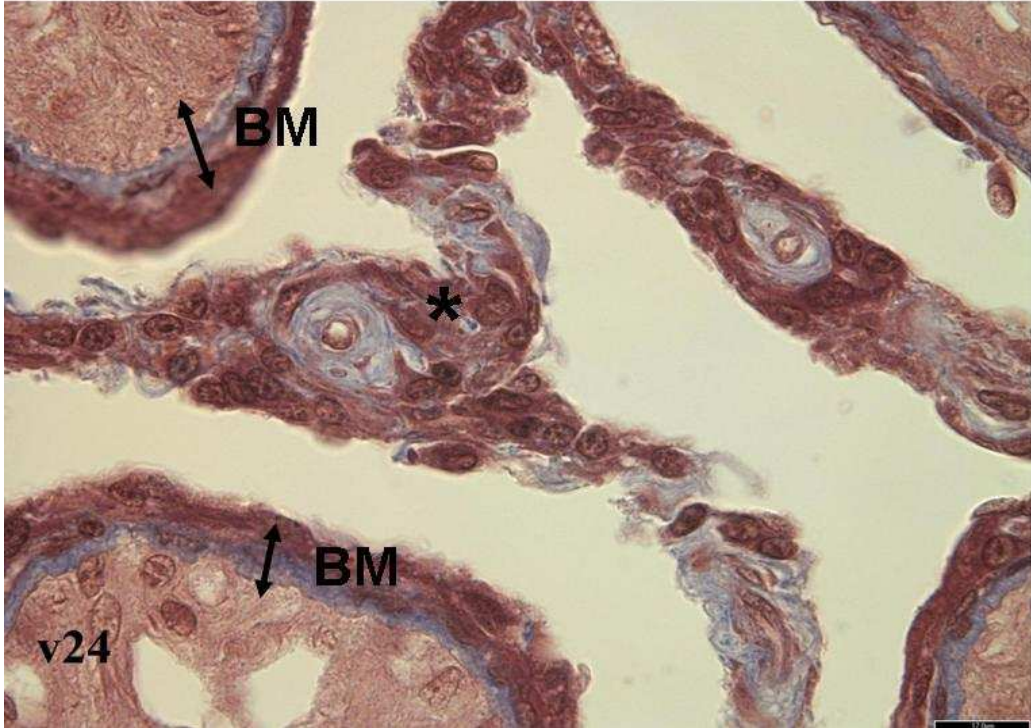
Şekil 39: 24 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesitleri. (A) Kollajen artışına bağlı olarak interstisyumdaki genişlemeye ve bazal membrandaki kalınlaşmaya, bar=55 μm , (B) myoid hücre çekirdeklerinin üçgen biçimini aldığına dikkat ediniz (*oklar*), bar=11 μm . İki kesit de Masson'un trikrom boyası ile boyanmıştır. (asteriks: İnterstisyum, ok başı: Myoid hücresi, BM: Bazal membran)



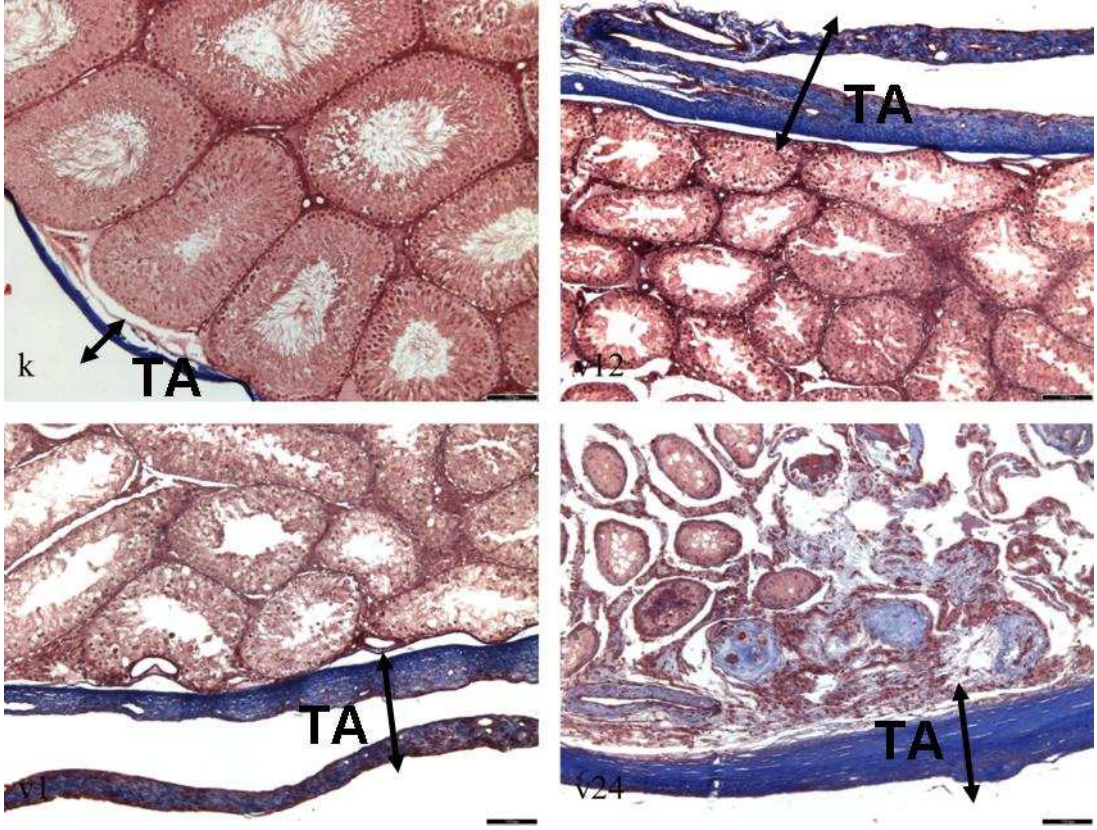
Şekil 40: 24 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesitleri. (A) İnteristisyumdaki genişlemeye ve seminifer tübüllerdeki küçülmeye, bar=110 µm, (B) interistisyumdaki bağ dokusu hücrelerinin yerini çoğunluğunu makrofajların oluşturduğu mononükleer hücrelerin aldığına dikkat ediniz, bar=27 µm. İki kesit de PAS+H ile boyanmıştır. (ok başı: Makrofaj, ST: Seminifer tübül)



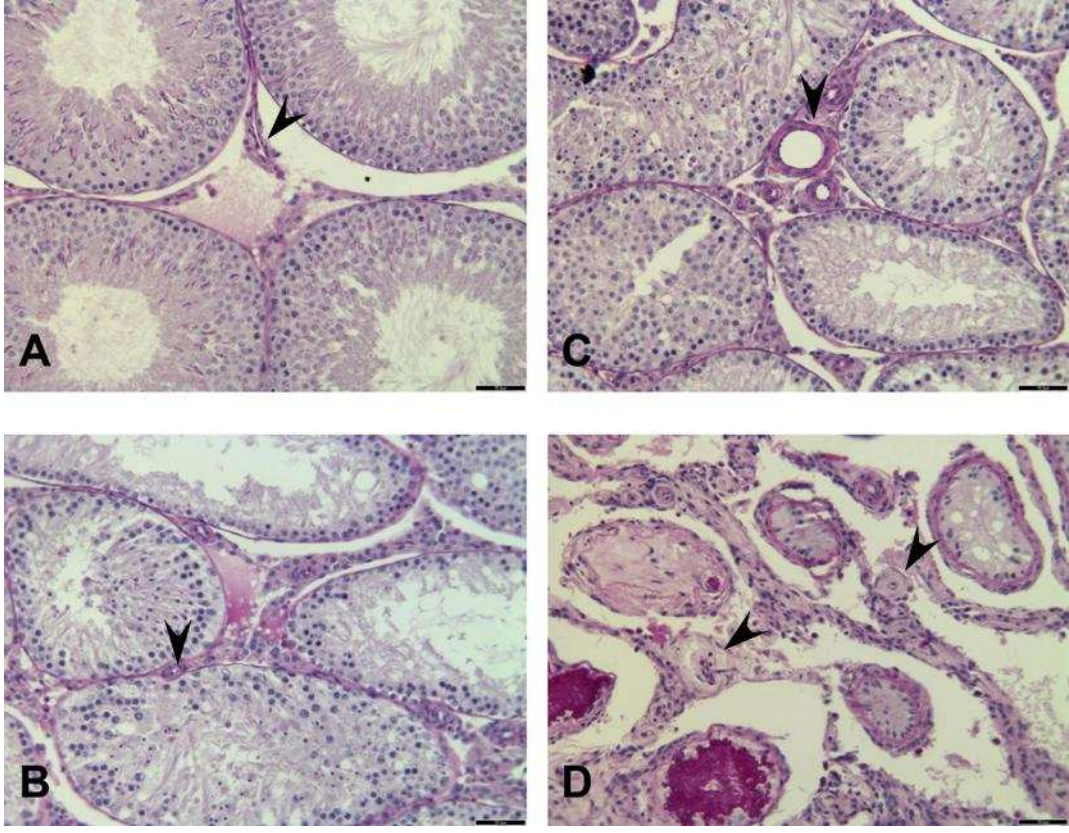
Şekil 41: 24 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesitleri. (A) İnterstisyumdaki genişlemeyle birlikte hücre mononüer infiltrasyonuna ve seminifer epiteldeki hücre kayıplarına, bar=55 µm, (B) interstisyumda küçük kan damarı çevresinde bazı Leydig hücrelerinin bulunduğuna, bar=11 µm dikkat ediniz. İki kesit de PAS+H ile boyanmıştır. PAS+H. (SE: Seminifer epitel, ok başı: Leydig)



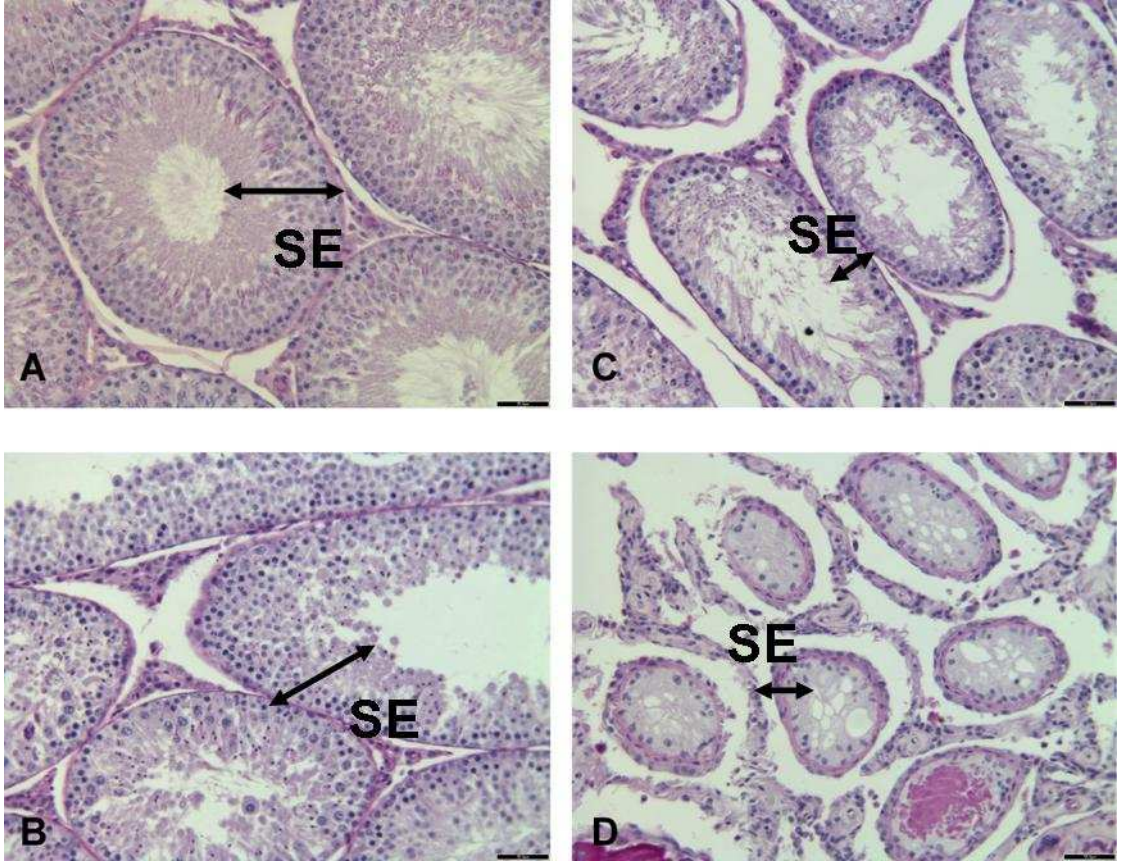
Şekil 42: 24 haftalık vazektomi grubuna ait testis kesitleri. (A) Testisin genel görünümüne bakıldığında, bar=110 μ m, (B) daha büyük büyültmede interstisyumdaki hücre artışına ve bazal membrandaki kalınlaşmaya, bar=17 μ m, dikkat ediniz. İki kesit de Masson'un trikrom boyası ile boyanmıştır. (asteriks: İnterstisyum, BM: Bazal membran, ST: Seminifer tübül)



Şekil 43: (A) Kontrol grubu ve (B) 1 haftalık, (C) 12 haftalık ve (D) 24 haftalık vazektomi gruplarına ait testis kesitlerinin karşılaştırılması. Kontrol grubuna göre 1, 12 ve 24 haftalık deney gruplarında deney süresinin artmasına bağlı olarak seminifer tübüllerin giderek küçüldüğü, interstisyumun genişlediği ve bağ dokusu içeriğinin arttığı ve tunika albugineanın giderek kalınlaştığı dikkati çekmektedir. Tüm kesitlerde bar=110 µm olup kesitler Masson'un trikrom boyası ile boyanmıştır. (TA: Tunika albuginea)



Şekil 44: (A) Kontrol grubu ve (B) 1 haftalık, (C) 12 haftalık ve (D) 24 haftalık vazektomi gruplarına ait testis kesitlerinin karşılaştırılması. Kontrol grubuna göre 1, 12 ve 24 haftalık deney gruplarında deney süresinin artmasına bağlı olarak interstisyumun genişlediği, hyalinizasyonu ve damarların arttığı dikkati çekmektedir. Tüm kesitlerde bar=55 µm olup kesitler PAS+H yöntemi ile boyanmıştır. (ok başı: Damar)



Şekil 45: (A) Kontrol grubu ve (B) 1 haftalık, (C) 12 haftalık ve (D) 24 haftalık vazektomi gruplarına ait testis kesitlerinin karşılaştırılması. Kontrol grubuna göre 1, 12 ve 24 haftalık deney gruplarında deney süresinin artmasına bağlı olarak seminifer tübüllerin giderek küçülerek duvarlarındaki hücrelerin kaybolduğu, interstisyumun genişleyerek bağ dokusu ve hücre miktarının arttığı dikkati çekmektedir. Tüm kesitlerde bar=55 µm olup kesitler PAS+H yöntemi ile boyanmıştır. (SE: Seminifer epitel)

5 TARTIŞMA

Bu çalışmayla, vazektominin zamana bağlı olarak testiste yol açtığı histolojik değişimleri steroloji ve ışık mikroskopi yöntemleri ile inceleyerek elde ettiğimiz bulgularla testisteki hücrelerin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlandı. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulguların var olan literatür eşliğinde yapılan tartışması ve yorum ve önerilerimiz aşağıda yer almaktadır.

5.1 Vücut Ağırlığı

Çalışmamızda gerek deney öncesi ve gerekse deney sonunda yapılan ağırlık ölçümlerinde gruplar arasında bir fark saptanmamış olması vazektominin vücut ağırlığı üzerinde önemli bir değişikliğe yol açmadığını göstermektedir. Zamana bağlı olarak bütün hayvanlarda vücut ağırlığı artmıştır. Bu da vazektominin beslenme durumunu etkilemediğine işaret etmektedir. Ancak, vardığımız bu sonuçlar 1-24 haftalık zaman dilimi için geçerlidir. Peng, Singh ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda da deney süreci ile birlikte uygun beslenme ve barınma koşullarında oluşan hayvanların ağırlıklarında artışlar bulunmuştur (118, 141). Bizim çalışmamızda da saptanan ağırlık artışı literatürle uyumlu ve hayvanın beslenme, barınma yaş artışıyla gözlenen doğal bir süreç olarak düşünülerek, yaptığımız deneyle ilişkilendirilmemiştir (3, 4, 73, 125, 159).

5.2 Testis Ağırlığı

Çalışmamızda hayvanlara tek taraflı (sol taraf) vazektomi uygulanmıştır. Bu nedenle çalışmamızın testis ağırlıklarına ilişkin bulguları bu durum dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Şöyle ki, vazektomi yapılan taraftaki (sol) testisin 1, 12 ve 24 haftalık gruplardaki kontrol grubunun sol testislerine göre ağırlık kaybına uğradığı görülmektedir. Ancak, 1 hafta testiste atrofi oluşması için yeterli bir zaman olmadığından bu grupta kontrole göre istatistiksel bir fark saptanmamıştır. Kısacası, uygulandığı taraftaki testiste vazektomi giderek ağırlık azalmasına yol açmaktadır. Bunun nedeni ışık mikroskop bulgularımızdan da görüleceği üzere büyük oranda seminifer tübül duvarındaki hücrelerin hasara uğrayarak ortadan kalkmasıdır. Nitekim Aitken ve arkadaşlarının kobaylarla yaptıkları çalışmada da vazektomili taraf testiste ağırlık kaybı görülmüştür (3). Dobson ve ark. sıçanlar üzerinde yaptıkları deneyde vazektomiden 9 ve 15 ay sonra testis ağırlığının belirgin olarak azaldığını saptamışlardır (41). Diğer vazektomi çalışmalarında da benzer sonuçlar elde edilmiştir (5, 10, 82).

Diğer yandan, vazektomi yapılmayan sağ taraf testislerde ağırlık azalması görülmemektedir. Bu da gösteriyor ki, sağ testiste ağırlık kaybına yol açabilecek testis dejenerasyonu olmamaktadır. Vazektomi uygulanan sıçanlarda karşı taraf testiste bir ağırlık azalması olmaması vazektominin yalnızca uygulandığı tarafın testisinde hücre kaybına ve ağırlık azalmasına yol açan bir uygulama olduğunu göstermektedir. Bu da sistemik faktörlerden çok testis içindeki yerel faktörlerin daha önemli olduğunu akla getirmektedir (3, 73, 97, 126).

5.3 Hacimler

5.3.1 Toplam Testis Hacmi

Çalışmamızın bulgularına göre, vazektomi aynı taraf testiste ağırlık azalmasına yol açtığı gibi, aynı taraf testiste hacimsel olarak da önemli derecede azalmaya neden olmaktadır. Kuşkusuz bu durum testiste ileri derecede hücre kaybı nedeniyle gerçekleşmektedir. Testis hacmindeki bu azalmanın, stroma ve parenkim yapılarının atrofiye uğraması sonucunda gerçekleştiği düşünülebilir. Bizim bu bulgularımız diğer araştırmacıların önceden yaptıkları çalışmaların bulgularını destekler niteliktedir (54, 55, 56, 91, 97, 101, 118, 132, 140, 161, 162). Vazektomi sonrasında ilerleyen zamanla birlikte testis hacmi kontrole göre giderek küçülmektedir.

5.3.2 İnterstisyum Hacmi

Çalışmamızın interstisyum hacim bulgularına baktığımızda, vazektomi aynı taraf testiste interstisyum hacminde önemli bir değişikliğe neden olmamaktadır. Ancak, çalışmamızda interstisyum hacminin en düşük olduğu grubun 24 haftalık vazektomi grubu olduğu dikkati çekmektedir. Bu durum vazektominin interstisyumu daha yavaş veya daha geç etkilemeye başladığını göstermektedir. Bunun nedeni, seminifer tübül duvarında yer alan hücrelerin interstisyumda yerleşmiş hücrelere göre daha hızlı bir biçimde dejenere olmaları ile açıklanabilir.

İnterstisyum hacmi oranı bakımından karşılaştırıldığında elde edilen bulgulara göre vazektomi gruplarında bu oran deneyimizin tüm zaman aralıklarında daha yüksektir. Fakat yalnızca 12. ve 24. haftalarda istatistiksel fark görülmektedir. Bu durum bize göre göreceli bir artıştır. Seminifer tübüllerde aşırı hücre kaybına karşın Kong ve ark. tavşanlarda yaptıkları çalışmada interstisyumda fibröz dokunun arttığını göstermişlerdir. Bu durumda interstisyumun genişlemesi söz konusu olacağından hacim artışı beklenebilir (3, 91, 125, 167). Ancak, interstisyumda fibröz dokunun artması da önemlidir.

5.3.3 Adlüminal Kompartıman Hacmi

Vazektomi aynı taraf testiste adlüminal kompartıman hacminde azalmaya neden olmaktadır. Ancak, bu azalma birinci haftada istatistiksel bakımdan önemli olmasa da 12. ve 24. haftalarda çok önemlidir. Bu durum adlüminal kompartımandaki hücrelerin vazektomi sonrasında hızlı bir biçimde ortadan kalkmasıyla açıklanabilir ve daha önce yapılan çalışmalara paraleldir (16, 41, 118). Bulgularımıza göre kontrol grubunda adlüminal kompartıman hacminin zamanla giderek artmasına karşılık vazektomi grubunda tersine giderek azalmaktadır.

Adlüminal kompartıman hacmi oranı bakımından karşılaştırıldığında elde edilen bulgulara göre vazektomi 12. ve 24. haftalarda adlüminal kompartıman hacmini önemli derecede azaltmıştır, çünkü seminifer tübül epitelinde vazektomiye bağlı hücre ölümünde artış olmaktadır.

5.3.4 Bazal Kompartıman Hacmi

Vazektomi testislerde deneyimizin tüm zaman aralıklarında bazal kompartıman hacminde önemli derecede azalmaya neden olmuştur. Bu durum seminifer tübül epitelinin vazektomi sonrasında hızla gerilediğini göstermektedir. Vazektominin testis histolojisi üzerine etkisini araştıran bazı çalışmalarda bu durum ortaya konulmuştur (3, 10, 15, 16, 41).

Bazal kompartıman hacmi oranı bakımından karşılaştırıldığında elde edilen bulgulara göre vazektomi deneyimizin tüm zaman aralıklarında bazal kompartıman hacmini önemli derecede azaltmıştır ve bu da seminifer tübüllerdeki spermatogonyum kaybuna paraleldir.

5.3.5 Seminifer Tübül Lümeni Hacmi

Çalışmamızın tüm gruplarında seminifer tübül lümeni hacminde önemli derecede azalmaya neden olmaktadır. Bu durum seminifer tübül duvarındaki hücrelerin kaybedilmesi sonucunda tübüllerin büzülerek küçülmelerinden kaynaklanmaktadır (41).

Seminifer tübül hacmi oranı bakımından karşılaştırıldığında elde edilen bulgulara göre vazektomi deneyimizin yalnızca 24. haftasında seminifer tübül lümeni hacmini önemli derecede arttırmıştır. Bu durum, seminifer tübüllerde aşırı

hücre kaybı nedeniyle tübüllerin küçülmesi ve göreceli olarak lümenlerinin daha geniş yer tutması ile açıklanabilir. Lue ve ark. yaptıkları çalışmada hamsterlere vazektomi uyguladıktan sonraki 3, 6 ve 12. haftalarda seminifer tübül lümen hacminde önemli bir değişiklik saptayamamışlardır (97).

5.4 Toplam Hücre Sayıları

5.4.1 Leydig Hücreleri

Çalışmamızda tüm zaman aralıklarında vazektomili grupların aynı taraf testisinde toplam olarak daha az sayıda Leydig hücreleri bulunduğunun saptanması vazektominin Leydig hücrelerini belirgin bir biçimde olumsuz olarak etkilediğini göstermektedir. Zaman ilerledikçe Leydig hücre sayısındaki azalma daha da dramatik bir hâl almaktadır. Yapılan bir çalışmada Leydig hücrelerinin işlevi ile testosteron düzeylerinin ilişki olduğu gözlemlenmiştir (23). Leydig hücrelerinde meydana gelebilecek bir bozukluk bu ilişkiyi bozabilir. İkeda ise seminifer tübül epitelinde spermatidlerin dejenerasyonları sonucunda ortaya çıkan antisperm antikorlarının ve toksik maddelerin interstisyel alana sızabildiğini ve bu alanda bulunan Leydig hücrelerinde dejenerasyona yol açacağını belirtmiştir (82). Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara benzer şekilde, vazektomi sonucunda gelişen hormonal ve kimyasal tepkimeler Leydig hücre sayılarının azalmasına ve bu hücrelerden daha az testosteron salgılaması nedeniyle germ hücrelerinin gelişmelerinde düzensizlik ve bozukluklara neden olmuş olabilir.

5.4.2 Myoid Hücre

Çalışmamızın toplam myoid hücre sayısına ilişkin bulguları bu hücrelerin vazektomiye direnç gösterdiklerini, 1. ve 12. haftalarda kontrol hayvanlardaki ile kıyaslanabilir sayıda olduklarını, fakat 24. haftada belirgin bir azalmaya uğradıklarını ortaya koymaktadır. Bu durum, duvarındaki hücre kayıpları nedeniyle seminifer tübül epitelini belirgin bir biçimde inceltene kadar myoid hücrelerin görev yapmak üzere beklediklerini ve dayandıklarını, ancak daha sonra birden sayılarının önemli derecede düştüğünü göstermektedir. Bazal membranın kalınlaşması ile sonuçlanan deneysel vazektomi çalışmalarında bu hücrelerin daha fazla kollajen sentezi yapmak zorunda kaldığı belirtilmiştir. Bu durum hücre sayısındaki azalmayı açıklamaktadır (10, 41, 72, 83, 143).

5.4.3 Sertoli Hücreleri

Myoid hücrelerdekine benzer bir biçimde Sertoli hücreleri de toplam sayılarını 24. haftaya kadar kontrol grubuna göre aynı düzeyde tutabilmelerine karşın bu haftada sayıca birden azalmışlardır. Bu durumun seminifer tübül duvarındaki germ hücrelerinin azalmasının bir sonucu olduğu düşünülebilir. Sertoli hücrelerinin oldukça dirençli hücreler olduğu bilinmektedir (53). Ancak, bu hücrelerin germ hücrelerinin varlığında bir anlamı olacağı da açıktır. Kan-testis bariyerinin korunamamasının önemli bir rol oynayabileceği düşünülebilir. Nitekim vazektomi sonucunda testis dokusunda oluşan interstisyel alandaki damarsal bozukların yanı sıra kan testis bariyerinin de bozulduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Lui, W.Y., bu bariyerin bozulması ile Sertoli hücrelerinin etkilenebileceğini belirtmiş, Peng ve ark.'nın maymunlar üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada vazektomiden 24 hafta

sonra testis dokuları stereolojik olarak incelendiğinde kontrol grubuna göre Sertoli hücrelerinin sayıca azaldığı tespit edilmiştir (98, 118). Bizim bulgularımız bu çalışmanın bulgularını desteklemektedir. Spermatogenezde önemli görevleri bulunan Sertoli hücrelerinin kendi aralarındaki bağlantı komplekslerinin vazektomiden sonraki geç dönemlerde bozulması bu hücrelerin sayıca azalmasına yol açmış olabilir.

5.4.4 Spermatogonyum Hücresi

Çalışmamızda toplam sayıları 24. haftada belirgin bir biçimde azalan diğer bir hücre tipi spermatogonyumdu. Doğrudan bazal membran üzerinde yerleşen bu hücrelerin olasılıkla üretilen spermlerin testis dışına atılamaması ve yeni spermlerin üretimine gereksinim olmaması nedeniyle sayılarının birden azalması söz konusu olmuş olabilir. Lue ve ark'nın çalışmasına göre vazektomi sonrası 3. haftada spermatogonyum sayısı kontrol grubu ile benzer bulunmuştur (97). Ancak, bu çalışmada sıçan yerine hamster kullanılmasının yanında daha geç dönemlere ait hücre sayıları verilmemiştir. Peng ve ark ise maymunlarda yaptıkları vazektomi çalışmasında spermatogonyum sayılarını kontrol grubuna benzer bulmuşlardır (118). Seminifer tübül duvarında bulunan spermatogonyum, spermleri oluşturacak en temel hücredir ve aynı zamanda köken hücreler gibi kendisini yedekleyebilen bir hücredir. Köken hücre olarak ayrılan spermatogonyum hücrelerinin ortamdaki kalkmasının spermatogenezi tamamen sona erdireceği açıktır.

5.4.5 Spermatid Hücresi

Leydig hücreleri dışında, çalışmamızda tüm zaman aralıklarında toplam sayısı azalan ikinci hücre tipi spermatidler idi. Spermatogonyumların sayıca azalmasının bu hücrelerin sayısını da azaltacağı söylenebilir. Ancak, bir spermatogonyumdan dört adet spermatid oluşacağı düşünülürse, spermatidlerin en azından ilk haftada sayıca bu kadar azalmamaları gerektiği sonucuna varılabilir. Yine de testosteron salgılayan Leydig hücrelerinin sayısında daha ilk haftada görülen önemli derecedeki azalma sonucunda spermatidlerin ileri gelişiminin durarak sayılarının azalması güçlü bir olasılıktır. İnsan, tavşan, maymun, fare ve sıçanlarda yapılan deneysel vazektomi çalışmalarında etkinin daha çok spermatidler üzerinde olduğu gözlemlenmiştir (73, 83, 91, 97, 118, 125, 161).

5.4.6 Birim Hacim Başına Düşen Hücre Sayıları

Çalışmamızda toplam hücre sayılarının karşılaştırılmasının yanında testisin birim hacmindeki hücre yoğunlukları belirlenerek elde edilen sonuçlar tekrar karşılaştırılmıştır. Çünkü testis hacmindeki, zamana ve vazektomi uygulamasına yönelik değişikliklerin toplam hücre sayılarını etkileyebileceğini düşündük. Nitekim benzer çalışmalarda hücre yoğunluğunun daha doğru sonuçlar verdiği üzerinde durulmaktadır (108, 154,174).

Birim hacimdeki hücre sayıları karşılaştırıldığında 1. hafta vazektomi grubunda Leydig hücre sayısının artması bir telafi etme mekanizması sonucunda olabilir. Çünkü daha çok Leydig hücresi daha çok testosteron salgılanması anlamına gelebilir. Bu da olgunlaşan spermilerin testisten boşaltılmasını sağlamaya yönelik bir

işlem olabilir. Ancak bu olası telafi mekanizmasının zamanla iflas ettiği ve 24. haftada Leydig hücre yoğunluğunun oldukça azalmasıyla sonuçlandığı görülmektedir.

Sertoli hücresi yoğunluğunun 1. ve 12. hafta sonunda önemli derecede artmasına karşın 24. haftada tam tersine kontrole göre oldukça azalması bu hücrelerin spermatogenezi ve testisteki ortamı korumaya çalışarak direndiklerini ve vazektominin etkilerini önlemeye çalıştıklarını göstermektedir. Ancak, zamanla Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların bozulduğu düşünülebilir. Bu durum Sertoli hücrelerinin dejenerasyona uğramalarını açıklayabilir.

Spermatogonyum ve myoid hücreler de genelde Sertoli ve Leydig hücrelerindeki benzer bir yoğunluk seyri izlemişlerdir. Bu durum telafi mekanizmalarının çalıştığı bir göstergesi olarak değerlendirilebilir.

Spermatidlerin yoğunluğu diğer hücrelerden farklı olarak deneydeki tüm zaman aralıklarında sürekli olarak azalmıştır. Bu durum, telafi mekanizmalarının olgunlaşmakta olan hücrelerden çok, köken hücre (spermatogonyum) ve destekleyici diğer hücrelerin (Leydig ve Sertoli hücreleri) üzerinde etki göstermeye çalıştığına işaret etmektedir (73).

5.5 Histopatoloji

Çalışmamızda kontrol gruplarına ait testis dokularının ışık mikroskobu ile incelemesinde herhangi bir histopatoloji bulgusu saptanmadığından aşağıda tartışmamızın bu bölümünde çalışmanın asıl deney grubunu oluşturan vazektomi gruplarına ilişkin histopatoloji bulgularımız üzerinde odaklandık.

Çalışmamızın 1, 12 ve 24 haftalık vazektomi gruplarında zamanın ilerlemesine bağlı olarak interstisyumdaki histopatolojik değişiklikler daha yoğun olarak görülmüştür.

İnterstisyuma baktığımızda bağ dokusundaki liflerin, damarların ve hücrelerin normal histolojilerinin bozulduğu göze çarpmaktadır. Kollajen lifler çoğalıp birikerek, vazektomi sonrasında interstisyumda oluşan ödem ortamında fibrozise neden olmaktadır (25, 68, 70, 83, 91, 101, 140, 142). Chehval ve ark. kollajen liflerin bu alanda çoğalarak hyalinleşmeye yol açtığını bildirmişlerdir (25). Shiraishi ise insanlarda yaptığı çalışmasında, vazektomi operasyonundan sonra oluşan interstisyel fibrozisin, hormonal, immünolojik ve mekanik etkiler nedeniyle olabileceğini savunarak, alanda oluşan bu fibrozis nedeniyle de Leydig hücrelerince salınan testosteronun seminifer tübüllere geçişinin engellenebileceğini belirtmiştir (140). Araştırmamızda bu çalışmalara benzer olarak karşılaştığımız patolojik durumun vazektomili testislerde geri dönüşsüz bir etki yaratabileceğini söyleyebiliriz.

Seminifer tübül çevresindeki alanlarda vazektomi gruplarında rastladığımız ve çoğunluğunu makrofaj ve lenfositlerin oluşturduğu mononükleer hücre infiltrasyonu bölgede meydana gelen yangıyı göstermektedir (3, 25, 91, 100, 101). McDonald bu hüresel infiltrasyonun sonucunda vazektomi sonrasında ortaya çıkan antisperm antikrlarının bazal mambranda toplanarak seminifer tübülleri yıkıma uğrattığını ve bu antikrların dejenere olan bazal membrandan interstisyuma sızdığını göstermiştir (101). Bigazzi tavşanlarda orşit ile oluşan yangının dolaşımdaki antisperm antikrlarından dolayı olduğunu belirlemiştir (16). Bu iki durum arasında görülen benzerlik dikkat çekici olup antisperm antikrlarının vazektomide görülen yangıda rolü olabileceğine ilişkin bir kanıt olarak kabul edilebilir. İnterstisyel alanda gözlenen hüresel infiltrasyona mast hücrelerinin oluşturduğu oksidatif stresin de neden olabileceği belirtilmiştir (169).

Bizim alışmamızda vazektomi gruplarımızın tümünde gördüğümüz bazal membran kalınlaşması 24 haftalık grupta daha belirgindi. Chapman, Dobson ve arkadaşları kalınlığı artan bazal membranın ondülasyonlar yaptığını göstermişlerdir (24, 41). Aydos ve arkadaşları, myoid hücrelerin kollajen üretiminde önemli hücreler olduğunu ve bazal membrandaki kollajen artışından sorumlu olabileceğini ileri sürmüşlerdir (10). Çalışmamızda bazal membrana komşu myoid hücrelerin çekirdeklerinin iç şeklinden üçgenimsi hle dönüştüğünün gözlenmiş olması bu hücrelerin şekil değiştirdiğine işaret etmektedir (4, 68, 83, 126).

Çalışmamızda spermatogenezin başlangıç hresi olan spermatogonyumların seminifer tübülün kalınlaşan bazal membranından ayrıldığı gözlenmiştir. Bazal membrandan ayrılan bu hücreler intersitisyumla olan ilişkisinin kesilmesi sonucunda dejenere olurlar ve sperm yapımı azalır (3, 118).

Testis dokusunu çevreleyen fibröz kapsül olan tunika albugineanın kalınlaşması West ve ark. çalışmasında saptandığı biçimde bizim çalışmamızda da gözlenmiştir (164). Testis stromasının bir parçası olan tunika albuginea vazektominin etkisiyle azalan parankim dokusunun yerini stromanın alabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda seminifer tübül lümeninde görülen dev hücreler önceki araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda da görülmüştür (8, 55, 91, 126, 141). Seminifer epitelden lümeneye dökülen germ hücrelerinin çekirdekleri bir araya gelerek dev hücreler haline dönüşmektedir. Bizim çalışmamızda bu dev cisimler en çok 1. haftada ve en az da 24. haftada görülmüştür. Kong ve ark.'nın çalışmasında da benzer bulgulara rastlanmıştır (91).

Sertoli hücreleri, gelişmekte olan spermatogenez hücrelerinin bağışıklık yanıtına karşı kan testis bariyeri ile korunması ve beslenmesinde oldukça önemlidir. Bu hücreler bazal laminadan lümeneye doğru yerleşerek yan ve tepe bölgelerindeki oyuklarda spermatogenez hücrelerini barındırırlar. Sertoli hücreleri, üzerine yerleştiği bazal membranın kollajen birikmesi sonucunda kalınlaşmasına bağlı olarak birbirleriyle ve spermatogenez serisi hücreler ile aralarındaki bağların kesintiye uğraması sonucunda hasara uğrayabilir (16, 41, 98, 101). Bu hasar nedeniyle spermatogenez hücrelerinin ileri gelişimleri kesintiye uğramaktadır. Sertoli hücrelerinin sitoplazmalarında kaybolan organeler ve meydana gelen vakuolleşmeye bağlı olarak, heterokromatin çekirdek periferine yayılır (3, 4, 41, 55).

Araştırmamızda deneysel vazektomi sonrasında, seminifer epitel ve interstisyel dokuda bulunan germ ile destek hücreleri ve destek hücrelerinin kendi arasındaki etkileşimleri morfolometrik verilerle ortaya koymaya çalıştık. Bu veriler sonucunda, akut dönemde oluşan seminifer tübül içi basınç artışı sonucu lümeneye en yakın hücre olan spermatidlerin dejenere olduğunu ve döküldüğünü gördük. Vazektominin ikincil etkisi olan yangının testis interstisyumunu etkileyerek burada mononükleer hücre ve kollajen artışına sebep olduğunu saptadık. Sayısal veriler, 1 haftadan itibaren toplam Leydig hücre sayısının azalmasını göstermesine rağmen birim hacimdeki Leydig hücre miktarı bu hücrenin 12.haftaya kadar görevini sürdürdüğü düşünülmektedir. Sertoli hücreleri ve spermatogonyumlarda ise telafi mekanizması 12.haftadan sonra iflas ettiği akla gelmektedir. Bu araştırmamızın, testis dokusundaki bu hücrelerin aralarındaki etkileşim ve etki yollarının hücresel ve moleküler düzeyde anlaşılabilmesi için kan hormon düzeylerinin değerlendirildiği, immunohistokimyasal ve moleküler biyoloji yöntemlerinin kullanıldığı araştırmalara yön verebileceğini düşünmekteyiz.

6 SONUÇ

Vazektominin uygulandığı taraftaki testiste ağırlık azalması ışık mikroskop bulgularımızdan da görüleceği üzere, büyük oranda seminifer tübül duvarındaki hücrelerin hasara uğrayarak ortadan kalkması sonucunda gerçekleşmektedir.

Vazektomi uygulanan sıçanlarda karşı taraf testiste bir ağırlık azalması olmaması vazektominin yalnızca uygulandığı tarafın testisinde hücre kaybına ve ağırlık azalmasına yol açan bir uygulama olduğunu göstermektedir.

Testis hacmindeki azalma, stroma ve parenkim yapılarının atrofiye uğraması sonucunda gerçekleşmektedir. Vazektomi sonrasında ilerleyen zamanla birlikte testis hacmi kontrole göre giderek küçülmektedir.

Vazektomi aynı taraf testiste interstisyumu seminifer epitele göre daha yavaş ve daha geç etkilemektedir.

Testiste hacimler hesaplanırken hacim oranı kullanılması daha gerçekçi bir sonuç vermektedir.

Vazektomi sonrasında Leydig hücre yoğunluğu önce artmakta, geç dönem de ise azalmaktadır.

Sertoli hücresi yoğunluğunun 1. ve 12. hafta sonunda artmasına karşın 24. haftada azalmaktadır.

Spermatidlerin yoğunluğu diğer hücrelerden farklı olarak deneydeki tüm zaman aralıklarında sürekli olarak azalmaktadır.

İnterstisyumda bağ dokusu, hücre infiltrasyonu ve damarlanma artışı olmaktadır.

Seminifer tübüllerde bazal membran kalınlaşmaktadır. Sertoli hücresi ortadan kalkmaktadır. Spermatogonyum ve spermatidler öncelikli olarak dejenere olmaktadır. Myoid hücreler ise giderek ortadan kalkmaktadır.

7 KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Abdelmassih, V., Balmeceada, J. P., Tesarik, J. at Nagy, P., 2002, Relationship between time period after vasectomy and the reproductive capacity of sperm obtained by epididymal aspiration, *Human Reproduction*, 17, 3, 736-740 p.
2. Acosta, A.A., Swanson, R.J., Ackerman, S.B., Kruger, T.F., Vanzyl, J.A. at Menkveld, R., 1990, *Human Spermatozoa in Assisted Reproduction*, Williams&Wilkins, Baltimore.
3. Aitken, H., Kumarakuru, S., Orr, R., Reid, O. at Bennett, N. K., 1999, Effects of Long-term Vasectomy on Seminiferous tubules in the Guinea Pig, *Clinical Anatomy*, 12, 250-263 p.
4. Aitken, H., Kumarakuru, S., Reid, O., Milne, E.W., Bennett, N.K. at McDonald, S.W., 2000, Degenerated tubules in the guinea pig testis after long-term vasectomy or sham operation, *Clinical Anatomy*, 13, (1), 6-10 p
5. Altay, B., Hekingil, M., at Çıkılı, N., 2001, Histopathological examination of both ipsilateral contralateral testes with different obstructive models in prepubertal and adult rats, *BJU International*, 88, 84-89 p.
6. Anderson, R., at At Baird, D. T., 2002, *Reviews, Male Contraception*, Endocrin
7. Andonian, S. Jarvi, K., Armand Zını, A. at Hermo, L., 2002, Ultrastructural Features of the Vas Deferens From Patients Undergoing Vasectomy and Vasectomy Reversal, *Journal of Andrology*,

8. Anton, E., 2003, Arrested apoptosis without nuclear fragmentation produced by efferent duct ligation in round spermatids and multinucleated giant cells of rat testis, *Reproduction*, 125, (6), 879–884 p.
9. Awsare, N.S., Krishnan, J., Boustead, G.B. at Hanbury, D.C., 2005, Complications of vasectomy, *The royal college of surgeons of England*, 87, 406-410 p.
10. Aydos, K., Soygür, T., Küpeli, B., Ünsal, A., Tolunay, Ö., Erdem, E., Güven, C. ve Küpeli S., 1998, Testicular Effects of Vasectomy in Rats: An Ultrastructural and Immunohistochemical Study, *Urology*, 51, 1051-1056 p.
11. Aykaç İ., 1977, *Histolojik ve histoşimik boya teknikleri*, Ankara Üni. Basımevi
12. Baddeley, A.J., Gundersen, H.J.G. at Olive, C., 1986, Estimation of surface area from vertical section, *Journal of Microscopy*,
13. Bancroft, J.D. at Stevens, A., 1996, *Theory and Practice of Histological Techniques*, Fourth Edition, Churchill Livingstone,
14. Beach, T.G., Tago, H., Nagai, T., Kimura, H., Mcgeer, P.L. at Mcgeer, E.G., 1987, Perfusion fixation of the human brain for immunohistochemistry: comparison with immersion-fixation, *J Neurosci Methods*.
15. Bedford, J.M., 1976, Adaptation of The Male Reproductive Tract and the Fate of Spermatozoa Following Vasectomy in the Rabbit, Rhesus Monkey, Hamster and Rat *Biology of Reproduction* 14, 118-162 p.

16. Bigazzi, P.B., Kosuda, L.L. at Andres G.A., 1976, Immune complex orchitis in vasectomized rabbits, The Journal of Experimental Medicine 143, 372-404 p.
17. Bridges, F.S. at Westerfield, R.C., 1984, Effects of Vasectomy and Exercise upon Aortic Extensibility, Cholesterol Deposition, and Stainable Tissue Lipids, Biology Of Reproduction, 14, 118-162 p.
18. Burns, L.H. at Covington, S.N., 1999, Infertility counseling, Parthenon Publishing 1st edition
19. Canan, S., Şahin, B., Odacı, E., Ünal, B., Aslan, H., Bilgiç, S. ve Kaplan, S., Toplam Hacim, Hacim Yoğunluğu ve Hacim Oranlarının Hesaplanmasında Kullanılan Bir Stereolojik Yöntem: Cavalieri Prensibi, Temel Tıp Bilimleri
20. Canan, S., Şahin, B., Ünal, B., Bilgiç, S. ve Kaplan, S., 2002, Parçacıkların toplam sayısının hesaplanması için bir metot: Parçalama T Klin Med Sci, 22, 30-46 p.
21. Carlos, A. at Lacerda, M.D., 2003, Stereological tools in biomedical research, Annals of the Brazilian Academy of Sciences
22. Carlson, B.M., 2004, Human Embryology and Developmental Biology, Elsevier Mosby Updated Edition
23. Castro, A.C.S., Berndtson, W.E. at Cardoso, F.M., 2002, Plasma and testicular testosterone levels, volume density and number of Leydig cells and spermatogenic efficiency of rabbits, Brazilian Journal of Medical and Research, 35, 493-498 p.

24. Chapman, E.S., Heidger Jr, P.M., Harrison, R.M., Roberts, J.A., Domingue, G.J. at Schlegel, J. U., 1978, Vasectomy in rhesus monkeys. IV. Electron microscopic studies of the seminiferous epithelium, 192, (1), 41-53 p.

25. Chehval, M.J., Doshi, R., Kidd, C.F., Winkelmann, T. at Chehval, V., 2002 Antisperm Autoantibody Response After Unilateral Vas Deferens Ligation in Rats: When Does it Develop?, Journal of Andrology, 23, (5), 669-73 p.

26. Cheng. C.Y. at Dolores D. M., 1997, Quantitative (stereological) study of normal spermatogenesis in the adult monkeys (*Macaca fascicularis*) Journal of Andrology, 18, 681-687 p.

27. Cheng. C.Y. at Dolores D. M., 2002, "Cell Junction Dynamics in the Testis: Sertoli-Germ Cell Interactions and Male Contraceptive Development" Physiol Rev 82: 825-874 p.

28. Chia, J. at Baddeley, A., 2000, Accuracy of estimates of volume fraction, Image Analyze Stereology, 19, 199-204

29. Chiu, W.W.C. at Chamley, L.W.C., Blue Histology - A Brief introduction to stereology School of Anatomy and Human Biology - The University of Western Australia

30. Clarkson, T.B. at Alexander, N.J., 1998, Long-term vasectomy effects on the occurrence and extent of atherosclerosis in rhesus monkeys, The American Society for clinical investigation, 65, 15-25 p.

31. Cook, L., Vliet, H.V., Pun, A. at Gallo, M.F., 2005, Review Vasectomy occlusion techniques for male sterilization, The Cochrane Database of Systematic Reviews,

32. Cooper, G.M. at Hausman, E., 2007, The Cell A Molecular Approach, ASM Press, USA 4th Edition
33. Cruz O., L.M. at Weibel, E.R., 1990, Recent stereological methods for cell biology: a brief survey, The American Physiological Society
34. Cumhur, M., 2001, Temel Anatomi, METU press, Ankara.
35. Cyr1, D.G., Gregory, M., Dubé, É., Dufresne, J., Chan, P.T. K. at Hermo, L., 2007, Orchestration of occludins, claudins, catenins and cadherins as players involved in maintenance of the blood-epididymal barrier in animals and humans, Asian Journal of Andrology; 9, (4): 463–475 p.
36. Dalgaard, M., Pilegaard, K. at Ladefoged, O., 2002, In utero exposure to Diethylstilboestrol or 4-n-nonylphenol in rats: number of Sertoli cells, diameter and length of seminiferous tubules estimated by stereological methods, Pharmacology&Toxicology, 90, 59-65 p.
37. Dassow, P. at Bennett, J.M., 2006, Vasectomy: An Update American Family Physician, 74, 2069-2074 p.
38. Dehoff, R.T., 2000, Probes, populations, samples, measurements and relations in stereology, Image Analyze Stereology, 19, 1-8 p.
39. Delilbaşı, L., Balaban, B. ve Ayaş, B., 1997, Tüp Bebek, Yardımcı Üreme Tekniklerinde Laboratuvar Yöntemleri, Baysev

40. Demir, R., 2001, Histolojik Boyama Teknikleri Başvuru Kitabı, Palme Yayıncılık
41. Dobson, C.C., Reid, O. at Donald, S.W., 2000, Effect of Vasectomy on the Seminiferous Tubule Boundary Zone in the Albino Swiss Rat, Clinical Anatomy, 13, 277-286 p.
42. Dorph-Petersen, K.A., Nyengaard, J. R. at Gundersen, H.J.G., 2001, Tissue shrinkage and unbiased stereological estimation of particle number and size, Journal of Microscopy,
43. Drake, R.L., Vogl, W. at Mitchell, A.W.M., Gray's Anatomy, 38th edition, Churchill Livingstone
44. Drews, U., 2000, Color Atlas of Embryology, Nobel Tıp Kitapevi,
45. Drife, J. at Magowan, B., 2004, Clinical Obstetrics and Gynaecology Saunders
46. Dym, M. at Fawcett, W., 1970, The Blood-Testis Barrier in the Rat and the Physiological Compartmentation of the Seminiferous Epithelium, Biology of Reproduction, 3, 308-326 p.
47. Elder, K. at Dale, B., 2000, In vitro fertilization, Cambridge University, Pres, 2nd edition
48. Enders, G.C., Henson, J.H. at Millette, C.F., 1986, Sertoli Cell Binding to Isolated Testicular Basement Membrane, The Journal of Cell Biology

49. England, M.A., 1996, Life Before Birth, Mosby-Wolfe, 2nd edition
50. Erbenđi, T., 1991, Erkek İnfertilitesi, İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi
51. Erkoçak, A.,1975, Genel Histoloji, Ankara Üniv. Tıp Fak. Yayınları, 4. Baskı
52. Erzen, I., 2004, Plasticity of skeletal muscle studied by stereology Image, Analyze Stereology, 23, 143-152 p.
53. Fawcett, D.W. at Jensh, R.P., 2002, Concise Histology, Arnold Publisher, New York, 2nd edition
54. Flickinger C. J., 1975, Fine Structure of the Rabbit Testis after Vasectomy, Biology of Reproduction, 13, 61-67 p.
55. Flickinger, C.J., Herr, J.C., Howards, S.S., Caloras, D., Yarbrow, E.S., Spell, D.R. at Gallien, T.N., 1987, The influence of vasovasostomy on testicular alterations after vasectomy in Lewis rats, Anatomical Record, 217,(2), 137-45 p.
56. Flickinger C.J., Herr, J.C., Caloras, D., Sisak, J.R. at Howards, S.T., 1990, Inflammatory Changes in the Epididymis after Vasectomy in the Lewis Rat, Biology of Reproduction, 43, 34-45 p.
57. Ganong, W.F., Ganong Tıbbi Fizyoloji, 1995, (Çev.: Doğan, A.), Barış Kitapevi, İstanbul

58. Garcia-Finana, M. at Cruz-Orive, L.M., 2000, New approximations for the variance in cavalieri sampling, *Journal of Microscopy*, 199, 224-238 p.
59. Gartner, L.P. at Hiatt, J.L., 2003, *Color Textbook of Histology*, 2nd Edition
60. Gibbons, B., Gant, C. at Thompson L.T., 2004, Perfusion fixation protocol, Learning and memory neuroscience Lab., Uni. of Texas
61. Gnassi, L., Fabbri, A. at Spera, G., 1997, Gonadal Peptides as Mediators of Development and Functional Control of The Testis: an integrated system with hormones and local environment, *Endocrin Review*
62. Gökmen, G., 2003, *Sistemik Anatomi*, İzmir Güven Yayınevi, İzmir
63. Gundersen, H.J.G., Jensen, E.B. at Ostery, R., 1978, Distribution of membrane thickness determined by lineal analysis, *Journal of Microscopy*
64. Gundersen, H.J.G., Andersen, B.S. at Floe, H., 1983, Estimation of section thickness unbiased by cutting-deformation, *Journal of Microscopy*, 131
65. Gundersen, H.J.G. at Jensen, E.B., 1987, The Efficiency of Systematic Sampling in Stereology and its Prediction, *Journal of Microscopy*

66. Gundersen, H.J.G., Bagger, P., Bendtsen, T.F., Evans, S.M., Korbo, L. at Marcussen, N., 1988, The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis, APMIS
67. Gundersen, H.J.G., Bendtsen, T.F., Korbo, L., Marcussen, M., Moller, A. at Nielsen, K., 1988, Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis, APMIS, 96, 379-394 p.
68. Gupta, A.S., Kothari, L.K. at Bapna, R.B., 1975, Surgical sterilization by vasectomy and its effects on the structure and function of the testis in man. The British Journal of Surgery, 62, (1), 59-63 p.
69. Guyton, A.C. at Hall, J.E., 1996, Textbook of medical physiology, Harcourt Brace, 9th Edition
70. Gülkesen, H.K., Erdoğan, T. ve Sargın, C.F., 2002 Expression of extracellular matrix proteins and vimetin in testes of azoospermic man: an immunohistochemical and morphometric study, Asian Journal of Andrology, 4, 55-60 p.
71. Gürsoy, E. ve Koptagel, E., 1997, Embriyoloji Atlası, Esnaf Ofset Matbaacılık
72. Hadley, M.A. at Dym, M., 1987, İmmunocytochemistry of Extracellular Matrix in the Lamina Propria of the Rat Testis: Electron Microscopic Localization, Biology and Reproduction, 37, 1283-1289 p.

73. Hafs, H.D., Wayne, D.O., Noden, P.A. at Amann, R.P., 1974, Testicular Function in Bulls 10 Weeks After Unilateral Vasectomy, *Journal of Animal Science*, 38, 117-120 p.
74. Hamilton, D.W. at Waites, G.M., 1990, *Scientific Basis of fertility regulation: Cellular and molecular events in spermiogenesis*, Cambridge University Press
75. Hassa, H., 2003, *İnfertilite olgularına Klinik Yaklaşım ve IVF Laboratuvar Uygulamaları* Osmangazi Üniversitesi Yayınları, Eskişehir
76. Hatcher, R.A., Trussell, J. at Stewart, F., 1998, *Contraceptive technology*, BMJ Books, 17th Edition
77. Herr, J.C., Flickinger, C.J., Howards, S.S., Yarbrow, S, Spell, D.R., Caloras, D. at Gallien, T.N., 1987, The relation between antisperm antibodies and testicular alterations after vasectomy and vasovasostomy in Lewis rats, *Biology of reproduction*, 43, 34-45 p.
78. Hess, R.A., 1990, Quantitative and qualitative characteristics of the stages and transitions in the cycle of the rat seminiferous epithelium: light microscopic observations of perfusion-fixed and plastic-embedded testes, *Biology of Reproduction*, 43: 525-542 p.
79. Hobolth, A. at Jensen, E.B., 2002, Stereological analysis of shape, *Image Analyze Stereology*, 21, 23-29 p.
80. Holt, B.A. at Higgins, A.F., 1996, Minimally invasive vasectomy, *British Journal of Urology*, 77, 585-586 p.

- 81.** Hooker, R.H., 1980, Changes in the Testes and Epididymides of Rabbits Following Long Term Vasectomy and Vasocystostomy: Correlation with Result of Vasocystostomy, *Biology of reproduction*, 22, 297-306 p.
- 82.** Ikeda, T. at Sofikiti, N., 2000, Bilateral Testicular Consequences in the Unilateral Vasectomy of Immature Rats, *Yonago Acta medica*, 45, 1-9 p.
- 83.** Jarow, J.P., Budin, R.E., Dym, M., Zikrin, B.R, Noren, S. at Marshall, F.F., 1985, Quantitative pathologic changes in the human testis after vasectomy. A controlled study., *The New England Journal of Medicine*, 20, 1252-1256 p.
- 84.** Jensen, E.B.V., 2000, On the variance of local stereological volume estimators, *Image Analyze Stereology*, 19, 15-18 p.
- 85.** Jequier, A. M., 1998, "Is vasectomy of long-term benefit? Vasectomy related infertility: a major and costly medical problem", *Human Reproduction*, 13, 1757-1760 p.
- 86.** Jones, R., 2004, Minireview Sperm Survival Versus Degradation in the Mammalian Epididymis: A Hypothesis, *Biology of Reproduction*, 71, 1405-1411 p.
- 87.** Junqueira, L.C. at Carneiro, J., 2003, *Basic Histology Text&Atlas*, 10th edition, Mc Graw Hill Campony
- 88.** Kanter, M., Dalçık, H., Köksal, V., Öztaş, E. ve Özcan, O., Parathyroid cell variants may be induced by different fixatives light microscopic study, *Gazi Medical Journal*, 7, 61-65 p.

89. Kaplan, S., Canan, S., Aslan, H., Ünal, B. ve Şahin, B., 2001, Short technical note A simple technique to measure the movements of the microscope stage along the x and y axes for stereological methods, Journal of Microscopy
90. Kierszenbaum, A.L., 2002, Histology and Cell Biology An Introduction to Pathology, Mosby
91. Kong, L.S., Huang, A.P. at Yang, Z.W., 2004, Quantitative (stereological) study of the effects of vasectomy on spermatogenesis in rabbits, Journal of Anatomy, 2004, 205, 147-156 p.
92. Koyuncuer, A., 2004, Kontrasepsiyon ve Türkiye'de durum, Sted 55
93. Kötzler, S., 2006, Geometric identities in stereological particle analysis, Image Analize Stereology, 25, 63-74 p.
94. Kroustrup, J.P. at Gundersen, H.J.G., 1988, Stereological analysis of three-dimensional structure organization of surfaces in multiphase specimens: statistical methods and model-inferens, Journal of Microscopy.
95. Larsen, W.J., 2003, Human Embryology, Churchill Livingstone, 3rd edition
96. Leesen, T.S., Leesen, C.R. at Paparo, A.A., 1988, Text/Atlas of Histology, W.B.Saunders Company

- 97.** Lue, Y., Hikim, A.P., Wang, C., Bonavera, J.J., Baravarian, S., Leung, A. at Swerdloff, R.S., 1997, Early Effects of Vasectomy on Testicular Structure and on Germ Cell and Macrophage Apoptosis in the Hamster, *Journal of Andrology*, 18, 2, 166-173 p.
- 98.** Lui, W.Y., Mruk, D., Lee, W.M. at Cheng, C.Y, 2003, Minireview, Sertoli Cell Tight Junction Dynais: Their Regulation During Spermatogenesis, *Biology of reproduction*, 68, 1087-1097 p.
- 99.** Makhlof, A.A. at Neiderberger, C.S., 2002, Use of antisperm antibodies in differential display westren blotting to identify sperm proteins important in fertility, *Human Repruduction*, 17, 984-989 p.
- 100.** Mcdonald, S.W., 1990, Vasectomy and the human testis, *British Medical Journal*, 301, 618-619 p.
- 101.** Mcdonald, S.W., Lockhart, D., Gormal, D. at Bennett, N.K., 1996, Changes in the Testes Following Vasectomy in the Rat, *Clinical Anatomy*, 9, 296-301 p.
- 102.** Meachem, S.J., Wreford, N.G., Robertson, D.M. at Mclachlan, R.I., 1997, Androjen action on the restoration of spermatogenesis in adult rats:effects of human choronic gonodotrophin, testosterone and flutamide administraton on germ cell number, *International Journal of Andrology*
- 103.** Meacham, R.B., 2004, Vasectomy - Dependent Dysregulation of a local renin-angiotensin system in the epididymis of the cynomolgus Monkey (*Macaca fascicularis*), *Journal of Andrology*, 25, 784-796 p.

- 104.** Minbay, F.Z., Eyigör, Ö. ve Çavuşoğlu, İ., 2002, Reseptör immünohistokimyasında mikrodalga ışınımlı "antijen retrieval" yönteminin kullanılması, Uludağ Üni. Tıp Fak. Der., 28, 21-26 p.
- 105.** Moller, A., Strange, P. at Gundersen, H.J.G., 1990, Efficient estimation of cell volume and number using the nucleator and the disector, Journal of Microscopy
- 106.** Moore, K.L., 2003, The Developing Human Clinically Oriented Embryology, Saunders, 7th Edition
- 107.** Moss, M.B. at Rosene, D.L., 1984, A Perfusion-Fixation Procedure for the Concurrent Demonstration of Timm's, Horseradish Peroxidase (HRP), and Acetylcholinesterase (AChE) Histochemistry, The Journal of Histochemistry and Cytochemistry
- 108.** Mouton, P.R., 2002, Principles and Practices of Unbiased Stereology, An Introduction for Bioscientists, The Johns Hopkins University Pres, Boltimore and London
- 109.** Mouton, P.R., Durgavich, J. at Ingram, D.K., 2005, Automatic estimation of size parameters using verified computerized stereanalysis, Image Analyze Stereology, 24, 41-49 p.
- 110.** Mruk, D.D. at Cheng, C.Y., 2004, Sertoli-Sertoli and Sertoli-Germ Cell Interactions and Their Significance in Germ Cell Movement in the Seminiferous Epithelium during Spermatogenesis, Endocrine Reviews

- 111.** Neaves, W.B., 1973, Permeability of sertoli cell tight junction to Lanthanum after ligation of ductus deferens and ductuli efferentes , The Journal of Cell Biology, 59, 559-572 p.
- 112.** Noorafshan, A., Karbalay-Doust, S. at Ardekani, F.M., 2006, Ensuring Vasectomy Success: What is the Standard, Journal of Andrology, 27, 637-640 p.
- 113.** Odgaard, A., Andersen, K., Melsen, F. At Gundersen, H.J.G., 1990, A direct method for fast three-dimensional serial reconstruction, Journal of Microscopy
- 114.** Oğuz, E.O., Çonkur, E.Ş. ve Sarı, M., 2007, Shtereom I simple windows based software for stereology, Volume and number estimations, Image Analize Stereology, 26, 45-50 p.
- 115.** Orive, L.M.C., 2004, Precision of the fractionator from Cavalieri design, Journal of Microscopy
- 116.** Pakkenberg, B. at Gundersen, H.J.G., 1988, Total number of neurons and glial cell in human brain nuclei estimated by the disector and fractionator, Journal of Microscopy
- 117.** Pasqualotto, F.F., Lucon, A.M., Sobreiro, B.P. at Pasqualotto, E.B., 2004, The best infertility treatment for vasectomized men: assisted reproduction or vasectomy reversal?, Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. S. Paulo, 59, 312-315 p.

- 118.** Peng, B., Zhang, R. D., Dai, X. S. at Deng, X. Z., 2002, Quantitative (stereological) Study of The Effects of Vasectomy on Spermatogenesis in Rhesus Monkeys (*Macaca mulatta*), *Reproduction*, 124, 847-856 p.
- 119.** Petersen, K.A.D., Gundersen, H.J.G. at Jensen, E.B., 2000, Non-uniform systematic sampling in stereology, *Journal of Microscopy*
- 120.** Petersen, P.M., Giwerzman, A., Gundersen, H.J.G. at Pakkenberg, B., 2000, Efficient and unbiased tools for quantitating Leydig and Sertoli cells in the testis from testes biopsies, *Image Analyze Stereology*, 19, 113-117 p.
- 121.** Petersen, P.M. at Pakkenberg, B., 2000, Stereological quantitation of Leydig and sertoli cells in the testis from young and old man, *Image Analyze Stereology*
- 122.** Petersen, K.A.D., Nyengaard, J.R. at Gundersen, H.J.G., 2001, Tissue shrinkage and unbiased stereological estimation of particle number and size, *Journal of Microscopy*
- 123.** Poyraz, Ö., 2000, *Laboratuvar Hayvanları Bilimi*, Kardelen Ofset
- 124.** Raarup, M.K., Nyengaard, J.R., 2006, Quantitative confocal laser scanning microscopy, *Image Analyze Stereology*, 25, 111-120 p.
- 125.** Raleigh, D., O'Donnell, L., Southwick, G.J., de Kretser, D.M. at McLachlan, R.I., 2004, Stereological analysis of the human testis after vasectomy indicates impairment of spermatogenic efficiency with increasing obstructive interval, *Fertility and Sterility*, 81, (6), 1595-603 p.

- 126.** Richardson, L.L., Kleinman, H.K. at Dym, M.,1998, Altered Basement Membrane Synthesis in the Testis After Tissue Injury, Journal of Andrology, 19, 145-155 p.

- 127.** Roberts, N. at Olive, C., 1993, Spatial distribution of curve length: concep and estimation, Journal of Microscopy

- 128.** Rosgaard, J., Qvotrup, K. at Poulsen, S.S., 1993, Improvements in the technique of vascular perfusion-fixation employing a fluorocarbon - containing perfusate and a peristaltic pump controlled by pressure feedback, Journal of Microscopy, 172, 137-151 p.

- 129.** Rosgaard, J., Qvotrup, K. at Poulsen, S.S., 2005, High does of nandrolone decanoate reduce volume of testis and lenght of seminiferous tubules in rats, APMIS, 113, 122-125

- 130.** Ross, M.H., Kaye, G.I. at Pawlina, W., 2003, Histology A Text and Atlas, Fourth Edition, Lippincott Williams &Wilkins,

- 131.** Russ, J.C. at Dehoff, R.T., 1999, Practical Stereology, Published by Plenum Pres, 2nd Edition

- 132.** Russell, H. H., 1983, Changes in the Testes and Epididymides of Rabbits Following Long Term Vasectomy or Vasocystostomy: Correlation with Results of Vasovasostomy, Biology of Reproduction, 22, 297-306

- 133.** Sadler, T.W.,1995, Langman's Medical Embryology, Mass Publishins CO., 7th Edition

- 134.** Saez, F., Legare, C., Laflamme, J. at Sullivan R., 2006, "Infertility: An Overview A Guide For Patients, Patient Information Series" American Society For Reproductive Medicine

- 135.** Sarrt, R., Whyte, J., Torres, A., Lostale, F. at Diaz, M.P, 1996, Experimental vasectomy and testicular structure, *Histology and Histopathology*, 11, 1-6 p.

- 136.** Schmitz, C. at Hof, P.R., 2005, Review Design-Based stereology in neuroscience, *Neuroscience*, 130, 813-831 p.

- 137.** Scott, R., Deane, R. at Fletcher C. R.,1975, *Urology Illustrated*, Churchill Livingstone

- 138.** Seeley, R.R., Stephens, T.D. at Tate, P., 1999, *Essential of Anatomy and Physiology*, Third Edition, MC Graw Hill, North America.

- 139.** Shen, H., 2001, New concepts and test methods of curve profile area density in surface: Estimation of aeral density on curved spatial surface, *Image Analize Stereology*, 20, 59-64 p.

- 140.** Shiraishi, K., Takihara, H. at Naito, K., 2002, Influence of interstitial fibrosis on spermatogenesis after vasectomy and vasovasostomy, *Contraception*, 63, 245-249 p.

- 141.** Singh, S.K. at Chakravarty, 2004, Histologic changes in the mouse testis after bilateral vasectomy, *Asian Journal of Andrology*, 2, 115–120 p.

- 142.** Siril Ariyatane, H.B. at Mendis Handagama, S.M.L.,2000, Changes in the testis interstitium of sprague Dawley rats from birth to sexual maturity, *Biology of Reproduction*, 62, 680-690 p.
- 143.** Siu, M.K. at Cheng, C.Y., 2004, Minireview Extracellular Matrix: Recent Advances on its Role in function Dynamics in the Seminiferous Epithelium During Spermatogenesis, *Biology of Reproduction*, 71, 375-391 p.
- 144.** Smith, D.R., *General Urology*, Lange Medical Publications, 9th Edition
- 145.** Snell, R.S., *Klinik Anatomi*, (Çev.:Yıldırım, M.), 1998, Nobel &Yüce, 5. Baskı
- 146.** Sokal, D.C., 2003, Recent research on vasectomy techniques, *Asian J Androl*
- 147.** Spencer, S. at Sutherland, D., 2000, Stereological correction of mineral liberation grade distributions estimated by single sectioning of particles, *Image Analyze Stereology*, 19, 175-182 p.
- 148.** Steger, K., Slavov, M., Failing, K., Weidner, W. at Bergmann, M., 2005, Effect of vasectomy on sperm nuclear chromatin condensation in the rabbit, *Journal of Andrology*, 26
- 149.** Sterio, D.C., 1984, The unbiased estimation of number and sizes of arbitrary particles using the disector, *Journal of Microscopy*

150. Stevens, A. at Lowe, J., 2005, Human Histology, Elsevier Mosby, 3rd Edition
151. Stroeven, P. at Stroeven, M., 2003, Dynamic Computer simulation of concrete on differnt levels of the microstructure Part 1 - Part 2, Image Analize Stereology, 22
152. Şahin, B., Aslan, H., Ünal, B., Canan, S., Çolakoğlu, S., Bilgiç, S. ve Kaplan, S., 2002, Deneysel çalışmalarda kesitlerdeki sayısal yoğunluğun kullanılmasından kaynaklanan hatalar, T Klin Med Sci, 22
153. Şahintürk, V. ve Erçakır, M., 1999, Histoloji ve Embriyoloji Laboratuar Kılavuzu, Osmangazi Üniversitesi Yayınları, Eskişehir
154. Tomori, Z., Krekule, I. at Kubinova, L., 2001, Disector Program for unbiased estimation of particle number, numerical density and mean volume, Image Analize Stereology
155. Turner, T.T., Riley, T.A., Vagnetti, M., Flickinger, C.J., Caldwell, J.A. at Hunt, D.F., 2000, Postvasectomy Alterations in Prtein Synthesis and secretion in the Rat Caput Epididymidis Are Not Repaired After Vasovasostomy, Journal of Andrology
156. Ünal, B., Canan, S., Aslan, H., Şahin, B., Çataloluk, O. ve Kaplan, S., 2002, Doku örneklerindeki objelerin sayılarının hesaplanmasında tarafsız stereolojik metodlar: Fiziksel disektör, T Klin Med Sci, 22
157. Ünal, B., Aslan, H., Canan, S., Şahin, B. ve Kaplan, S., 2002, Biyolojik ortamlardaki sayımı yapılırken kullanılan eski (tarafli) metodların önemli hata kaynakları ve çözüm önerileri, T Klin Med Sci, 22

- 158.** Vicdan,K. ve Işık, A.Z., 1999, In Vitro Fertilizasyon ve Mikromanüplasyon Uygulamasında Laboratuar, Çağdaş Medikal Yayın Dağıtım
- 159.** Voglmayr, J.K., 1975, Suppression of Sperm Granulomas in Vasectomized Rats by Local Heating of the Testis, *Biology of Reproduction*, 13, 453-460 p.
- 160.** Waynforth, H.B. at Flecknell, P.A., 1991, *Experimental and Surgical Technique in the Rat*, Academic Press, 2nd Edition
- 161.** Weiske, W. H., 2001, Review Vasectomy, *Andrologia*, 33, 125-134 p.
- 162.** Wen, X.H. at Yang, Z.W., 2000, Quantitative (stereological) study on the spermatozoal storage capacity of epididymis in rats and monkeys, *Asian Journal of Andrology*, 2, 73-77 p.
- 163.** Wen, X.H., Wang, X.H., Tong, J.S. at Yang, Z.W., 2000, Reversible effect of testosterone undecanoate injection on spermatogenesis in rats, *Asian Journal of Andrology*, 2, 207-211 p.
- 164.** West, M.J., Slomianka, L. at Gundersen, H.J.G., 1991, "Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in the subdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator.", *Anat. Rec.*
- 165.** West, M.J., 1999, Stereological methods for estimating the total number of neurons and synapses:issues of precision and bias, *Trends Neurosciences*

- 166.** West, M.J., Winkelmann, T. at Martin, S.A., 2000, Effect of vasovasostomy on contralateral testicular damage associated with unilateral vasectomy in mature and immature Lewis rats, *Fertility and Sterility*
- 167.** Whyte, J., Sarrat, R., Cisneros, A.I., Whyte, A., Mazo, R., Torres, A. at Lázaro, J., 2000, The vasectomized testis, *International Surgery*, 85, (2), 167-74 p.
- 168.** Wolfensohn, S. at Llyod, M., 2003, *Laboratory Animal Management and Welfare*, Blackwell Publishing, USA, 3rd Edition
- 169.** Yamanaka, K., Fujisawa, M., Tanaka, H., Okada, H., Arakawa, S. at Kamidono, S, 2000, Significance of human testicular mast cells and their subtypes in male infertility, *Human Reproduction*, 15, (7), 1543-7 p.
- 170.** Yang, Z., Zhang, R. D., Wen, X. at Huang, A., 2000, Caveat on the error analysis for stereological estimates, *Image Analyze Stereology*, 19, 9-13 p.
- 171.** Yıldırım, M., Okar, İ. ve Dalçık, H., 2002, *İnsan Embriyolojisi*, Nobel Kitabevleri
- 172.** Zhang, R.D., Wen, X.H., Kong, L.S., Deng, X.Z. at Peng, B., 2002, A quantitative (stereological) study of the effects of experimental unilateral cryptorchidism and subsequent orchiopexy on spermatogenesis in adult rabbit testis, *Society for Reproduction and Fertility*, 124, 95-105 p.
- 173.** Zhengwei, Y., Wreford, N.G., Royce, P. at Kretser, D.M., 1990, A Quantitative Study of Spermatogenesis in the Developing Rat Testis, *Biology of Reproduction*, 43, 629-635 p.

- 174.** Zhengwei, Y., Mclachlan, R.I., William, J.B. at Wreford, N.G., 1997, Quantitative (Stereological) Study of Normal Spermatogenesis in the Adult Monkey (*Macaca fascicularis*), *Journal of Andrology*, 18, 681-87 p.
- 175.** Zhengwei, Y., Wreford, N.G., Royce, P., Kretser, D.M. at Mclachlan, R.I., 1998, Stereological evaluation of Human spermatogenesis after suppression by testosterone treatment: heterogeneous pattern of spermatogenic impairment, *Journal of Clinical Endocrine Society*, 83, 1284-1290 p.
- 176.** www.vasectomy-informaton.com (2007)
- 177.** <http://www.nap.edu/html/labrats/> (1996)
- 178.** http://www.research.cornell.edu/care/care_directory.htm (2002)
- 179.** <http://www.eugenicsarchive.org/html/eugenics/static/images/2287.html> (2004)
- 180.** http://research.uiowa.edu/animal/?get=aa_regiments_rats (2002)
- 181.** <http://www.mcg.edu/research/animal/Analgesics.htm> (2003)

8 ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı : Alev CUMBUL
Dogum tarihi ve yeri : 22.06.1977BALIKESİR
Uyruğu :T.C.
Medeni durumu :Evli
İletişim adresleri :K.Bakkalköy Mah. Prof.Dr. Hıfzı
Özcan Cad. Gülveren Sok. Çağdaş Kent Sit. A Blok. D:13 Kadıköy/İSTANBUL

Eğitim Durumu

22.06.1977 :Balıkesir’de doğdu.
1983–1984 :Adana Cengiz Topel İlkokulu
1984–1987 :Kurtalan/Siirt Cumhuriyet İlkokulu
1987–1988 :Bor/Niğde Asım Eren İlkokulu
1988–1991 :Bor/Niğde Şehit Nuri Pamir Lisesi (Orta
Bölümü)
1991–1992 :Bor/Niğde Şehit Nuri Pamir Lisesi
1992–1994 :Edirne Edirne Lisesi
1995–2001 :Ankara Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi
tahsili.
2003 (Şubat) :Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık
Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı’nda Doktora eğitimine
başlama.
Yabancı Dili :İngilizce

Mesleki Deneyim

Mart 2003-Eylül 2005 Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Fakültesi/Histoloji-Embriyoloji A.B.D' da doktora eğitimimin bir kısmı,

Eylül 2005-Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji A.B.D' da doktora eğitimime devam etme

Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar:

Veteriner Hekimler Odası
Histoloji ve Embriyoloji Derneği
Türk Elektron Mikroskopi Derneği
Stereoloji Derneği

Yayımlar:

Ünal Uslu, Oya Akçin, Alev Cumbul, Ayşen Sürmen Güz, Ulviye Yiğit, Serkan Erdenöz, Halil Hüseyin Çağatay ve Ersin Oba (2007) Akut retinal iskemi modelinde memantinin retina ganglion hücreleri üzerine, nöroprotektif etkinliğinin nicel değerlendirilmesi. XVIII. Uluslararası TEM Kongresi, Eskişehir. P-167B

Bilimsel Etkinlikler

- 19–21 Nisan.2003 Uygulamalı Hücre Kültürü Teknikleri Kursu (Isparta)
- 16–20 Nisan.2003 II. Ulusal Nörobilim Kongresi (Bursa)
- 29–01 Ekim.2003 II. Deneysel Hayvan Çalışmaları Temel Eğitim Günleri (Eskişehir)
- 04–05 Ekim.2003 Basic Course in Laboratory Animals Science (Kayseri)
- 18–21 Mayıs.2004 VII. Ulusal Histoloji-Embriyoloji Kongresi (Mersin)
- 16–19 Nisan.2005 I. Ulusal Moleküler Tıp Kongresi (İstanbul)
- 16–19 Nisan.2005 I. Ulusal Moleküler Tıp Kongresi, Kök Hücre Kursu (İstanbul)
- 14–17 Eylül.2005 VIII. Ulusal Stereoloji Kursu (Ankara)

- 28 Kasım. 2005 Raman Spectroscopy: Principles and Applications (İstanbul)
- 12–16 Aralık.2005 Teaching Teachers Course with the topics Epidemiology Methods: Beyond the basics for observational research design and analysis/ Communication Skills (İstanbul)
- 11–14 Nisan.2006 IX. Ulusal Stereoloji Kursu (K.Maraş)
- 26–27 Mayıs 2006 İmmünohistokimya Teknikleri Kursu (Ankara)
- 03–07 Temmuz 2006 Yardımcı Ürüne Teknikleri ve Transgenik Hayvan Üretiminde Kullanılan Yöntemler Uygulamalı Eğitim Kursu (Gebze)
- 25–27 Ağustos 2006 Öngürüsel ve Bireye Özgü Tıp için Farmakogenetik Yaklaşımlar kuramsal ve uygulamalı kursu (İstanbul)
- 02 Aralık 2006 Uygulamalı Araştırma Planlama ve İstatistik Değerlendirme Eğitimi I (İstanbul)
- 23 Aralık 2006 Veri Tabanı Hazırlama ve İstatistik Değerlendirme Eğitimi II (İstanbul)
- 13 Ocak 2007 Yaşamsal İstatistikler - İstatistik Değerlendirme Eğitimi III (İstanbul)
- 20 Nisan 2007 Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dallarını Eşgüdüm Toplantısı (İstanbul)
- 26–29 Ağustos 2007 Uluslar arası Katılımlı 18. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi (Eskişehir)
- 27–30 Mart 2008 The 3rd Euro-Asian Conference on Hazardous Waste&Human Health (İstanbul)
- 29 Mayıs–01 Haziran 2008 3.Klinik Pratikte Kök Hücre ve Gen Tedavisi Kongresi (İstanbul)
- 29 Mayıs–01 Haziran 2008 Mezenkimal Kök Hücre Kültür Teknikleri Uygulamalı Kurs (İstanbul)