

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**  
**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RATLARDA POSTNATAL DÖNEMDE TESTİS DOKUSU İLE**  
**KAN TESTİS BARIYERİNİN GELİŞİMİNİN**  
**HİSTOMORFOMETRİK VE İMMUNOHİSTOKİMYASAL**  
**DEĞERLENDİRİLMESİ**

**HÜSNİYE KARATEKE**

**TIP FAKÜLTESİ**  
**ANATOMİ ANABİLİM DALI**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof.Dr. AHMET SONGUR**  
**Doç.Dr. MURAT TOSUN (2. Danışman)**

Tez No: 2013 - 005

2013 - AFYONKARAHİSAR

## KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıp-Anatomi Programı

çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından  
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 17 / 05 / 2013



Prof. Dr. Ahmet SONGUR  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Jüri Başkanı



Doç. Dr. Murat Tosun  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Üye



Doç. Dr. Murat Yağmurca  
Turgut Özal Üniversitesi  
Üye



Yrd.Doç.Dr. Yücel GÖNÜL  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Üye



Yrd.Doç.Dr. Ozan TURAMANLAR  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Üye

Tıp-Anatomi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Hüsniye KARATEKE' nin "Ratlarda Postnatal Dönemde Testis Dokusu İle Kan Testis Bariyerinin Gelişiminin Histomorfometrik ve İmmunohistokimyaal Değerlendirilmesi" başlıklı tezi 29/05/2013 günü saat 13.00. 'da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Kağan Üçok  
Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim sırasında bilgi ve deneyimlerini bana aktaran, tez konumun seçilmesi, yürütülmesi ve tamamlanmasında yardımlarını esirgemeyen Danışman Hocam Anatomi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof.Dr. Ahmet SONGUR'a,

Yüksek lisans eğitimim ve tez süreci içinde karşılaştığım soru ve sorunların çözümü için elinden gelen desteği gösteren Hocam Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Başkan'ı Sayın Doç.Dr. Murat TOSUN'a

Yüksek lisans eğitimime ve tez çalışmama katkılarından dolayı Anatomi Anabilim Dalı Hocalarımdan Yrd.Doç.Dr. Yücel GÖNÜL'e ve Yrd.Doç.Dr. Ozan TURAMANLAR'a

Yüksek lisans eğitimim ve tez süreci içerisinde arkadaşlık ve destekleri için Anatomi Anabilim Dalı Araştırma Görevlilerinden Hilal GÜZEL'e ve Yüksek lisans öğrencilerinden Çiğdem TAŞPINAR, Özlem YÜCEL ve Senem KAZANDI'ya,

Ve Canım Annem Hatice KARATEKE ile aileme destekleri, sabırları ve sevgileri için

en içten duygularıyla teşekkür ve saygılarımı sunarım...

# İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
ÖNSÖZ .....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
ŞEKİLLER.....	vii
TABLolar .....	ix
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. Erkek Genital Sistem Anatomisi .....	2
2.2. Erkek Genital Sistem Histolojisi .....	9
2.3. Genital Sistem Embriyolojisi .....	17
2.4. Erkek Üreme Sistemi Fizyolojisi .....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	23
3.1. Hayvanlar .....	23
3.2. Deney.....	23
3.3. Histolojik Değerlendirme .....	24
3.4. Görüntü Analizi .....	27
3.5. İstatistiksel Analiz .....	27
4. BULGULAR .....	28
5. TARTIŞMA .....	39
6. SONUÇLAR .....	47
7. ÖZET.....	48
8. SUMMARY .....	49

9. KAYNAKLAR .....	50
--------------------	----

## SİMGELER VE KISALTMALAR

$\alpha$	: Alfa
AEC	: 3-amino-9-etilkarbozol
AMH	: Anti-Müllerian hormon
a	: Arteria
$\beta$	: Beta
°C	: Santigrad derece
cm	: Santimetre
FSH	: Folikül uyarıcı hormon
$\gamma$	: Gama
gl	: Glandula
HRP	: Horsedish peroksidaz kit
kg	: Kilogram
LH	: Lüteinleştirici hormon
$\mu\text{m}$	: Mikrometre
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
mm	: Milimetre
m	: Musculus
n	: Nervus
pH	: Hidrojenin gücü (Power of Hydrogen)
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
r	: Ramus
SPSS	: Statistical package for the social sciences
TBS	: Tris tampon çözeltisi
v	: Vena
vv	: Venae

## ŞEKİLLER

- Resim 1.** Erkek genital sisteminde yer alan organlar (Netter, 2010)
- Resim 2.** Testislerin histolojik yapısı. PAS (Kierszenbaum, 2006)
- Resim 3.** Erkek genital tübüllerinin histolojik yapısı (Kierszenbaum, 2006)
- Resim 4.** Primordial germ hücrelerinin genital kabartıya göçü. (Sadler, 1995)
- Resim 5.** Testislerin embriyolojik dönemde gelişimi. (Sadler, 1995)
- Resim 6.** 14 günlük ratın batın bölgesinden testislerin eksizyonu
- Resim 7.** Işık mikroskobu altında seminifer tübüllerin çaplarının görüntü analiz programı ile ölçümü
- Resim 8.** 14 günlük rat testislerinin genel histolojik görünümü, hematoksil-eozinx40
- Resim 9.** 30 günlük rat testislerinin genel histolojik görünümü, hematoksil-eozinx40
- Resim 10.** 60 günlük rat testislerinin genel histolojik görünümü, hematoksil-eozinx40
- Resim 11.** 90 günlük rat testislerinin genel histolojik görünümü, hematoksil-eozinx60
- Resim 12.** Seminifer tübül çaplarının deney gruplarına göre değişimi
- Resim 13.** 14 günlük rat testisinde klaudin primer antikoru ile boyanma sonucu ekspresyon görülmemektedir. Anti-klaudinx40
- Resim 14.** 30 günlük rat testisinde klaudin ekspresyonu (kiremit kırmızı boyanma görülen hücre zarları). Anti-klaudinx60
- Resim 15.** 60 günlük rat testisinde klaudin ekspresyonu (kiremit kırmızı boyanma görülen hücre zarları). Anti-klaudinx60
- Resim 16.** 90 günlük rat testisinde klaudin ekspresyonu (kiremit kırmızı boyanma görülen hücre zarları). Anti-klaudinx40
- Resim 17.** 14 günlük rat testisinde kaderin primer antikoru ile boyanma sonucu ekspresyon görülmemektedir. Anti-kaderinx40
- Resim: 18.** 30 günlük rat testisinde kaderin ekspresyonu (kiremit kırmızı boyanma görülen hücre zarları). Anti-kaderinx60

**Resim 19.** 60 günlük rat testisinde kaderin ekspresyonu (kiremit kırmızı boyanma görülen hücre zarları). Anti-kaderinx60

**Resim 20.** 90 günlük rat testisinde kaderin ekspresyonu (kiremit kırmızı boyanma görülen hücre zarları). Anti-kaderinx40



## TABLÖLAR

**Tablo 1.** Seminifer tübül çaplarının tanımlayıcı değerleri

**Tablo 2.** Seminifer tübül çaplarının tanımlayıcı değerleri ve değişimin karşılaştırılması

# 1. GİRİŞ

Yüzyıllardır insanoğlu gerek kendi ve gerekse çevresindeki canlıların yaşam döngülerini incelerken bunların içinde genital sistemin incelenmesi her zaman diğer sistemlerden ayrı bir yerde tutulmuş ve daha detaylı olarak çalışılmıştır. İnsanoğlu canlı bedeninin nasıl oluştuğu sorusuna her zaman cevap ararken üreme için gerekli hücrelerin büyüklükleri, şekilleri gibi yapısal özellikleri yanında bu hücrelerin kolayca, hatta bazı canlılarda makroskopik düzeyde elde edilebilmesi ve bu hücreler üzerinde manipülasyon yapılabilme esnekliğinin fazla olması bu nedenler arasında sayılabilir. Diğer yandan toplumsal ve etik sınırlamalardan dolayı bu konularda yapılan çalışmalar halen istenildiği düzeyde değildir. Literatürdeki çalışmaların çoğunu rat, domuz, solucan gibi insan dışı canlılara ait olması nedeniyle elde edilen veriler çoğu kez insanlar için uyarlanarak belli hipotezler oluşturabilmeyi sağlama, bunları destekleme veya çürütme ötesinde amaçlara hizmet edememektedir. Bununla birlikte dünya üzerinde az sayıda olsa da oldukça gelişmiş fetüs koleksiyonuna sahip merkezlerde insana yönelik çalışmalar belli bir düzeyde devam etmektedir. Son yıllarda geliştirilen değişik immunohistokimyasal boyama, PCR ve Western blotting gibi protein eldesi teknikleri yanında görüntüleme teknikleri ile elde edilen veriler tek bir embriyo veya fetusta eş zamanlı ve çok sayıda değişimler hakkında güvenilir bilgiler vermektedir. Bu bilgilerin günümüzde sadece bilimsel anlamda veriler olması yanında embriyolojik gelişim sürecinde görülen hastalıkların erken tanısı, teratolojik ajanların etkilerinin belirlenmesi gibi önemli klinik hizmetlere yardımcı olmaktadır.

Çalışmamızın amacı erkek genital sisteminin temel öğelerinden biri olan testislerin histomorfolojik olarak doğum sonrası dönemde farklı gelişim zamanlarında incelenmesini sağlamaktır. Bu amaçla doğum sonrası 14 günlük, 30 günlük, 60 günlük ve 90 günlük ratlarda testislerin yapısını oluşturan seminifer tübül gelişimi, spermatogonyaların gelişimi ve farklılaşması, Leydig ve Sertoli hücrelerinin varlığı ve dağılımı ve kan testis bariyerinin oluşumu histokimyasal ve immunohistokimyasal olarak boyandıktan sonra ışık mikroskopunda inceleyip değerlendirmektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Erkek Genital Sistem Anatomisi

Ürogenital sistemi oluşturan organlar; organa uropoetica ürına adı verilen idrarı dışarı atan ve organa genitalia adı verilen üreme işini üzerine alan organlar olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Bu organlar görev bakımından birbirinden farklı olup embriyolojik köken bakımından birbirine çok yakındırlar. Ancak erkek dış genital organlarında idrar ve üreme hücrelerinin yolları tekrardan birleşir. Kadınlarda ise bu yollar dışarı açıldıkları kısımlarda çok yaklaşımlarına rağmen idrar ve genital yollar sonuna kadar birbirinden ayrı kalmıştır (Kuran, 1983; Odar, 1986).

Genital organlar erkek ve kadında; iç ve dış olmak üzere iki bölüme ayrılır. Üreme hücrelerini oluşturan genital bezlere ve bu hücreleri ileten yollara iç genital organlar ve üreme hücrelerinin birleşmesini sağlayan organlara da dış genital organlar adı verilir (Odar, 1986).

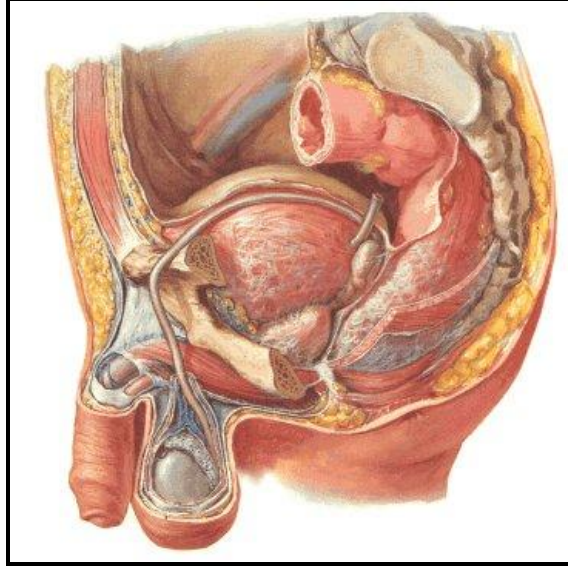
1) Erkek iç genital organlar (organa genitalia masculina interna);

1. Testis
2. Epididymis
3. Funiculus spermaticus
4. Ductus deferens
5. Vesicula seminalis
6. Ductus ejaculatorius
7. Gl. bulbourethralis
8. Gl. Prostatica

- 2) Dış genital organlar (*organa genitalia masculina externa*) ise;
  1. Penis
  2. Scrotum'dur (Arıncı ve Elhan, 2001; Sancak ve Cumhuri, 2008).

Erkek üreme sisteminin temel fonksiyonu sperm üretip, bu spermleri dışi vaginası'na iletmeye aracılık etmektir. Bu işlemi yapabilmesi için 4 farklı tipte yapıya sahiptir. Bu yapılar testisler, yardımcı kanallar, yardımcı bezler ve penis'tir. Testisler, sperm ve primer erkek cinsiyet hormonu olan testosteronu üretir. Yardımcı kanallar, testislerdeki ya da yardımcı bezlerdeki salgıları depolayıp penis'e taşırlar. Yardımcı bezler ise spermin penis'e taşınması için uygun ortamı oluşturacak olan sıvıyı üretirler. Bu sıvı ve spermler semen adını alır ve penis, semeni vagina'ya taşımaya aracılık eder (Sancak ve Cumhuri, 2008; Williams ve ark., 1989).

Erkek üreme bezleri olan testisler bir çift olup, scrotum'da asılı durumdadırlar ve birbirinden septum scroti denen bir bölme ile ayrılırlar (Resim 1). Scrotum'da testislerden başka epididymis ve funiculus spermaticus'un alt ucu bulunur. Scrotum'un duvarında; deri, yüzeysel fascia, m. dartos, m. obliquus externus abdominis'ten köken alan fascia spermatica externa, m. obliquus internus abdominis'ten köken alan fascia cremasterica, fascia transversalis'ten köken alan fascia spermatica interna ve en içte de peritoneum'un lamina parietalis (periorchium) tabakaları bulunur. Scrotum'un derisi ince, buruşuk ve pigmentlidir. Scrotum'da her iki yan labioscrotal şişkinlikler orta hatta birleşerek çok belirgin olmayan bir çizgi oluştururlar. Scrotum'un arterleri; a. pudenda externa scrotum'un ön tarafını, a. pudenda interna ise arka tarafını besler. Bunun yanında a. testicularis ve a. cremasterica'dan besleyici dallar alır. Scrotum'un venleri olan v. scrotalis'ler arterlere eşlik eder ve v. pudenda externa'ya katılır. Scrotum'un inervasyonu; ön tarafını, n. ilioinguinalis'ten köken alan nn. scrotales anteriores ve n. genitofemoralis'in genital dalı inerve eder. Arka tarafını ise, n. perinealis superficialis'in dalları olan nn. scrotales posteriores ve n. cutaneus femoris posterior'un perineal dalı inerve eder (Odar, 1986; Snell, 2004; Moore ve Dalley 2007).



**Resim 1.** Erkek genital sisteminde yer alan organlar (Netter, 2010).

Testisler embriyolojik dönemde böbreklere yakın bir yerde mezonefroz'un arka duvarında gelişirler ve doğumdan kısa bir süre önce canalis inguinalis'ten scrotum içine yerleşirler. Testisler, yaklaşık olarak 4.5 x 3 x 2.7 cm boyutlarında olup, facies medialis ve facies lateralis olmak üzere iki yüzü; margo anterior ve margo posterior olmak üzere iki kenarı; extremitas superior ve extremitas inferior olmak üzere de iki ucu vardır. Testis'in iki yüzü, ön kenarı ve uçları konveks olup visseral periton (epiorchium) ile kaplıdır. Arka kenarında ise sadece lateral kısım peritonla örtülüdür. Periton bulunmayan medial bölümüne epididymis tutunur ve buradan damar, sinir ve kanalları geçer (Arıncı ve Elhan, 2001).

Her bir testis *tunica albuginea* denilen fibröz bir kılıf ile sarıdır. Bu kılıftan bezin içine doğru *septula testis* denilen ince uzantılar testisi lobüllere ayırır. Septula testis'ler, testislerin dış yüzünden arka kenarın yukarı kısmına doğru ışınal durumda uzanırlar ve burada birleşerek *mediastinum testis* denilen damar ve sinirlerin girdiği ve üreme hücrelerinin yani kanalcıkların çıktığı yeri oluştururlar. Her testiste 200'den fazla *lobuli testis* vardır ve her bir lobuli testis'te 3-4 tane seminifer tübül bulunur. Testislerin her birinde toplamda 400-600 seminifer tübül bulunur ve bunların toplam uzunluğu yaklaşık 350 m kadardır. Seminifer tübüller arasında gevşek bağ dokusu bulunur ve sperm hücreleri bu tübüllerde üretilir. Tübül içindeki

*Sertoli hücreleri* de sperm hücreleri için besleyici maddeleri ve endokrin salgıları salgılar. Diğer yandan seminifer tübüllerin arasındaki bağ dokusunda *Leydig hücreleri* bulunur ve bu hücreler hem intraembriyonik ve hem de puberte döneminde testosteron hormonu salgısı yaparak testislerin gelişimine önemli katkıda bulunurlar (Odar, 1986; Williams ve ark., 1989; Özden, 2003).

Testis'in üst kısmında küçük, oval şekilli appendix testis bulunur. Bu yapı paramезonefrik kanalın (*Müller kanalı*) üst ucunun kalıntısıdır. Buna benzer şekilde ikinci küçük bir uzantı testis'in ön kenarının yukarı kısmında epididymis'in başında bulunan ve appendix epididymis'tir ve bu da mezonefroz'a ait embriyonel bir kalıntıdır. Testisler ve epididymis aorta abdominalis'in dalı olan a. testicularis'den beslenirler. Venleri ise testisin arka kısmından çıkıp plexus pampiniformis venöz ağını oluşturur. Plexus pampiniformis daha yukarıda v. testicularis'i oluşturur. V. testicularis dextra, v. cava inferior'a; v. testicularis sinistra ise v. renalis sinistra'ya dökülür. Lenf drenajı; yüzeysel lenf damarları tunica vaginalis testis'in altında, derin lenf damarları da testis ve epididymis'in içindedir. Bu damarlar nodi aortici laterales ve nodi preaortici'ye açılır. Testislerin inervasyonu medulla spinalis'in T<sub>10-11</sub> segmentlerinden çıkan sinirlerle sağlanır (Odar, 1986; Sancak ve Cumhuriyet, 2008).

Mediastinum testisi oluşturan seminifer tübüller düzleşip azalarak *tubuli recti*'yi oluşturur ve bu yapılar mediastinum testis'e uzanıp birbirleriyle anastomoz yaparak *rete testis'e* (*Haller ağı*) açılırlar. Rete testis, üst tarafında ductus efferentes adı verilen ve sayıları 12-15 kadar olan kanallar içine drene olur. Ductus efferentes testisin arka üst kısmında tunica albuginea içine yapışır ve kıvrımlı tübüller içine doğru uzanır. Burada virgül şeklini alarak testisin üst kısmının üstünden geçip aşağıya doğru uzanarak *epididymis* adını alır. Epididymis baş, gövde ve kuyruk olmak üzere 3 kısma ayrılır ve bağ dokusu içine gömülü olup 6 m uzunluğunda çok kıvrımlı bir yapıya sahiptir. Epididymis'in kuyruk kısmında tübüller genişleyip azalarak ductus deferens ile devam eder. Ductus epididymis spermlerin olgunlaşma süreci olan 10 gün ile 4-5 hafta boyunca olgunlaşma ve depolanması için uygun ortamı sağladığı gibi, spermlerin testis'ten ductus ejaculatorius'a geçişini de sağlar. Depolanan spermler epididymis yapıları tarafından beslenir ve epididymis'in sirküler

kas liflerinin peristaltik kasılmasıyla olgun spermilerin penis'e ulaşması sağlanır (Odar, 1986; Moore ve Dalley, 2007; Tosun, 1998; Gövsa Gökmen, 2003).

Yardımcı kanallar içinde epididymis, ductus deferens, ductus ejaculatorius ve urethra bulunur (Resim 1). Testislerdeki bu kanallar yardımıyla yapılan sperm'in penis'ten atılımı sağlanır. Bu kanallar testislerden abdominopelvik boşluğa ve sonunda urethra'nın prostatik parçasına bağlanarak penis'e kadar uzanır (Williams ve ark., 1989).

Ductus deferens, vas deferens veya sperm kanalı olarak adlandırılıp uzunluğu yaklaşık 25-50 cm kadardır ve ampulla ductus deferentis parçası hariç sperm yalnız taşıdığı bölümdür. Ductus deferens, vesicula seminalis ile birleştikten sonra *ductus ejaculatorius* adını alır. Ductus deferens komşuluklarına göre 4 kısma ayrılır. İlk kısmı pars scrotalis olup, epididymis'in kuyruk kısmından başlar ve düzleştiği kısımda epididymis'in iç yan yüzüne dayalı olarak yukarı doğru ilerler, epididymis'in gövdesinin iç kenarının orta kısmında pars funicularis olarak devam eder ve bu kısım anulus inguinalis superficialis hizasına kadar gelir. Pars funicularis, funiculus spermaticus içinde olup, pars libera dediğimiz serbest parça pars epididymis'in bittiği yerden başlar ve anulus inguinalis superficialis kısmına gelince pars inguinalis olarak adlandırılır. Anulus inguinalis profundus'u geçen ductus deferens karın boşluğuna girer ve pars pelvica olarak adlandırılıp vesicula seminalis'in ductus ejaculatorius kısmı ile birleşerek sonlanır (Snell, 2004; Gövsa Gökmen, 2003).

Ampulla ductus deferentis kısmında bir miktar sperm depo edilmektedir. Depolanan spermeler ise bir ay içinde ejaküle edilmezse parçalanıp vücut tarafından yok edilir. Epididymis içindeki spermelerin yüzey kısımlarında ve hareketlerinde bazı değişiklikler oluşur (Williams ve ark., 1989; Parker, 1993).

Ductus deferens'i a. ductus deferentis besler ve a. testicularis'in dalları ile anastomoz yapar. Ampulla kısmı a. vesicalis superior, a. vesicalis inferior ve a. rectalis media'dan gelen dallarla beslenir. Venleri ise aynı isimli olup, plexus

pampiniformis, plexus prostaticus ve mesane venlerine açılırlar. Lenf drenajı nodi lymphatici iliaci externi'ye açılır. Ductus deferens plexus hypogastricus inferior tarafından inerve olur (Arıncı ve Elhan, 2001).

Funiculus spermaticus, canalis inguinalis içinde olup anulus inguinalis superficialis'ten sonra dikey yönde scrotum'a uzanır ve içinde a. testicularis, plexus pampiniformis, sempatik ve parasempatik sinir lifleri, ductus deferens, a.-v. ductus deferentis, a.-v. cremasterica, n. ilioinguinalis, n. genitofemoralis'in r. genitalis'i, lenf damarları ve m. cremaster yapıları bulunur (Kuran, 1983; Odar, 1986).

Yardımcı bezlerden olan vesicula seminalis'ler mesane arka duvarında uzanan 5 cm uzunluğunda iki adet, lobuler yapıdadır. Bezin medial kısmında ductus deferens'in son kısmı bulunur ve arkada rectum'la komşudur. Ön tarafta seminalis çiftleri prostat üzerinde mesane tabanında biraraya gelir ve her biri prostat'ın arkasında ductus deferens'in ampulla bölümünün alt ucu ile birleşerek ductus ejaculatorius'u oluşturur. Birçok yardımcı bezler salgılarını ductus deferens içinde bulunan sperme katarak ileride bulunan kanalların kolayca geçilmesini sağlarlar. Bu sperm ve bez salgılarından ibaret sıvı semen adını alır ve vesicula seminalis'ten salgılanan sıvı spermilerin beslenmesinde gerekli olan maddeleri de içerir (Snell, 2004; Tosun, 1998).

Ductus ejaculatorius yaklaşık 2 cm uzunluğunda olup, yukarıdan aşağıya doğru daralır ve aşağıda yaklaşık çapı 0,2 mm kadardır. Bu kanallar vesicula seminalis'in boynunun son kısmında yer alır ve vesicula seminalis'ten gelen salgıyı alırlar ve prostat bezinin iç yüzeyinden geçerken buradan ek salgıları da alarak urethra'nın pars prostatica parçasının arka duvarında bulunan colliculus seminalis'in üzerine iki küçük delikten açılırlar (Kuran, 1983).

Prostat bezi, mesanenin yanında ve ürogenital diyafragma'ya oturan bir apeksi bulunan ve uretra'nın proksimal parçasını çevreleyen ters koni biçiminde fibromuscular ve glanduler bir organdır. Fibröz bağ dokusu ve düz kastan zengin ince fakat sıkı bir kapsülle sarılıdır. Prostat bezi'nin üst, alt, ön, arka ve inferolateral



bölmeleri vardır. Ancak yapısında bulunan lobuller birbirinden kesin olarak ayrılamaz. En önemli bölüm lobus medius dediğimiz ductus ejaculatorius ile proksimal uretra arasındaki bölümdür. Prostat bezinin salgısı sitrik asit ve asit fosfataz içeren süt benzeri bir yapıdadır. Bu salgı alkali nitelikte olup vagina'nın asiditesini nötralize etmesine yardımcı olmaktadır. Prostat bezini a. vesicalis inferior ve a. rectalis media besler. Plexus venosus prostaticus çok sayıdaki veni toplayıp v. iliaca interna'ya drene olur. İnervasyonunu plexus hypogastricus inferior sağlar (Snell, 2004; Moore ve Dalley, 2007).

Gl. bulbourethrales bir çift bez olup *Cowper bezleri* adını alır. Prostat bezinin altında urethra'nın alt yüzünün her iki tarafında bir tane olacak şekilde uzanan ve urethra'nın spongioz parçasına açılır. Beslenmesini a. vesicalis inferior ve a. rectalis media sağlar. V. iliaca interna'ya açılır ve nodi iliaci interni, nodi iliaci externi ve nodi sacrales lenf drenajını sağlar. İnervasyonunu; sempatik sinirler medulla spinalis'in L<sub>1-2</sub> spinal segmentlerinden gelen sinirlerle, parasempatik lifler ise medulla spinalis'in S<sub>2-4</sub> spinal segmentlerinden gelen liflerle sağlanır (Sancak ve Cumhuriyet, 2008).

Urethra 18-20 cm uzunluğunda olup erkekte erkek üreme sisteminin son kısmıdır. Mesaneden prostat bezini geçip penis içine uzanır ve intramuralis (preprostatik), prostatik, membranöz ve spongioz olmak üzere 4 bölümden meydana gelir. Mesane'deki ostium urethra internum'dan başlar ve penis ucundaki ostium urethra externum'da sonlanır. Urethra'yı kayganlaştıran gl. bulbourethralis membranöz parçasının yan taraflarına yerleşmiştir (Gövsal Gökmen, 2003).

Penisin iki fonksiyonu mevcuttur. Bu fonksiyonlardan birisi ürinasyon süresince idrarın, diğeri de ejakülasyon süresince semenin taşınmasını sağlamaktır. Corpus penis ve radix penis olmak üzere 2 bölümü vardır. Corpus penis'te urethra'ya ek olarak erektil dokuya ait 3 adet silindirik halka mevcuttur. Bunlar dorsal kısımda birbirine paralel uzanan iki adet corpus cavernosum penis ve içinde urethra bulunan corpus spongiosum penis'tir. Corpus penis'in uç kısmında corpus spongiosum penis genişleyerek corpora cavernosa penis'i örten glans penis'i oluşturur. Glans penis'te

urethra'nın yarık biçimindeki ağzı ostium urethra externum bulunur. Glans penis'i saran deri kendi etrafında katlanarak preputium penis'i oluşturur ve bu yapı glans penis'i örter. Penis'in diğer kısmı olan radix penis, penis kökü olup, perineum'da spatium superficiale perinei içinde bulunur. Radix penis yapısında corpus cavernosum penis'e ait crus penis'ler yer alır. Bulbus penis ise corpus spongiosum penis'in radix penis'teki kısmıdır. Penis'in beslenmesini a. pudenda interna'nın dalları olan a. dorsalis penis, a. bulbi penis, a. urethralis, a. profunda penis ve a. femoralis'in dalı olan a. pudenda externa sağlar. Venleri ise vv. profundae penis, vv. dorsales superficiales penis ve v. dorsalis profunda penis'tir. Bu venler plexus venosus prostaticus'a açılır ve bu ven plexus vertebralis'ler ile anastomoz yapar. Lenf drenajı ise nodi inguinalis profundi ve nodi inguinales superficiales ile sağlanır. Penis'in deri duyusunu n. dorsalis penis alır ve bu sinirler n. pudendus'a katılır (Kuran, 1983; Snell, 2004; Gövsa Gökmen, 2003).

## **2.2. Erkek Genital Sistem Histolojisi**

Her iki cins insan embriyosunda genital organ taslakları orijin ve gelişme evreleri açısından başlangıçta aynıdır. Gonad'lar mesenterium kökü ile mezonefroz arasında dorsal sölom epiteli'nden gelişir ve bu tabakaya mezoderm tabakası adı verilir. Burada kalınlaşan sölom epiteli diğer adıyla epitelyum germinale, altında bulunan mezenşim ile birlikte bir blastem oluşturur. Ancak dişi ve erkek farklılaşması henüz oluşmamıştır. Epitelyum germinale'den derine, mezenşim içine doğru çoğalan hücre kordonları (primer döl kordonları) birbiriyle anastomoz yaparak mezonefroz'a dayanır ve bağlantı kurar. Primer döl kordonlarında çoğunlukla küçük, kübik veya prizmatik hücreler ile bunların arasında bulunan büyük, yuvarlak primordial germ hücreleri bulunur. Erkek genital sistemin farklılaşmasında gonad taslağında 6. haftanın sonundan itibaren testis gelişmeye başlar. Döl kordonları ise ileride tunica albuginea'yı yapacak olan mezenşim kitlesi ile epitelyum germinale'den ayrılır. Burada oluşan primordial germ hücreleri spermatogoniumları; küçük, kübik hücreler ise Sertoli hücrelerini oluşturur. Döl kordonları ile mezonefroz arasındaki epitel bağlantılar ise rete testis'i oluşturur (Erkoçak, 1973).

Testis'in parankima ve stroması, olgun ve dölleyebilir spermatozoon yapılmasına en elverişli yapılardan oluşmuştur ve bu parankima lobuli testisleri dolduran seminifer tübüller ve interstisyel dokudan oluşur (Erbengi, 1990).

Seminifer tübülleri döşeyen epitelde;

- 1) Somatik Sertoli hücreleri
- 2) Spermatojenik hücreler

İnterstisyel dokuda ise

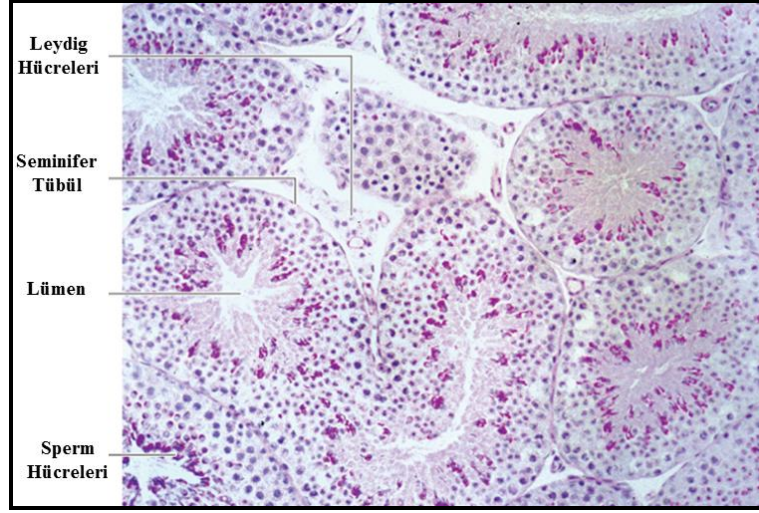
- 1) Leydig hücreleri
- 2) Bağ dokusu hücreleri

bulunur (Resim 2). Her testiste yaklaşık 400-600 seminifer tübül bulunur ve seminifer tübüllerde spermatozoonlar üretilir. Sertoli hücreleri puberteye kadar seminifer epitelyum'un önemli olan hücre tipidir. Puberteden sonra, spermatogonyaların gelişimine bağlı olarak seminifer tübülleri döşeyen hücrelerin yaklaşık %10'unu oluşturacak oranda azalır. Daha ileriki yaşlarda erkeklerde spermatojenik hücre popülasyonu düştüğü için, Sertoli hücreleri tekrar epitelin ana elemanı haline gelir. Yan yana Sertoli hücreleri arasındaki tıkalı bağlantılar (okludens bağlantıları) kan-testis bariyerini oluşturur. Kan-testis bariyeri proteinlerin, antikorlar dahil, gelişmekte olan spermatojenik hücrelere ulaşmasını engeller. Ters yönde de bariyer, gelişmekte olan spermatojenik hücrelerden protein sızmasını ve immun cevabı tetiklemesini engeller. Spermatogonyumların farklılaşması sperme özgü proteinlerin oluşmasını sağlar. Cinsel olgunluğa bağışıklık sisteminin gelişmesinden çok sonra erişildiği için, farklılaşan sperm hücreleri yabancı olarak algılanabilir ve germ hücrelerini yok edebilecek bir bağışıklık yanıtına ve sekonder infertiliteye yol açabilir. Kan-testis bariyeri, gelişmekte olan sperm ve bağışıklık sistemi arasındaki herhangi bir etkileşimi engeller. Sertoli hücrelerinin kendi aralarında ve spermatogoniumlarla birlikte oluşturduğu bu bariyer, seminifer epiteli otoimmun bir davranışa karşı koruma işlevi görür (Kierszenbaum, 2006; Carlos ve ark., 1993).

Sertoli hücreleri tepesi kesik piramit şekilli, silindir ya da uzun armut şeklinde genişçe tabanları ile bazal membran üzerine oturarak, bazal membrandan lümene kadar kanalcık duvarının bütün kalınlığına bazal membrana dikey yönde uzanan hücrelerdir. Nukleusları 9-12 mikron çapında genellikle oval ya da üçgen şekillidir. Işık mikroskobunda Sertoli hücrelerinin çok sayıdaki lateral uzantıları spermatojenik hücreleri çevrelediğinde bu hücrelerin sınırları zayıf olarak görülebilmektedir. Sitoplazmaları saydam, nucleus ince uzun ve hücre uzun eksenine paralel yerleşimli olup kromatinden fakir bir yapıda nucleolusa sahiptirler (Mali ve ark., 1987).

Olgunlaşmamış testislerin Sertoli hücrelerindeki ara filamanlar hem keratin, hemde vimentin tipindeyken; erişkinlerde sadece vimentin tiptedir. Sitoplazmalarında ise küçük mitokondrionlar, iyi gelişmiş bir golgi aygıtı, lipid ve glikojen tanecikleri ile diğer bazofil granülasyonlar vardır. Ayrıca Sertoli hücrelerinin lümene bakan yüzünde bir çok sitoplazma çıkıntıları bulunur (Erkoçak, 1973; Carlos ve ark., 1993; Mali ve ark., 1987).

Sertoli hücreleri oldukça dayanıklı hücreler olup, gelişmekte olan spermleri koruma, destekleme, besleme ve değişik endokrin ve parakrin salgılarıyla spermatojenik hücrelerin seminifer epitelde hareketinin sağlanması gibi önemli fonksiyonları yaparlar. Bu hücreler bu özellikleri yanında tam olarak gelişemeyen spermatojenik hücreleri fagosite ederek yok ederler. Ancak bu hücrelerin spermatojenik hücreler gibi bölünme yeteneği yoktur ve olgun testiste gelişme göstermezler (Eşrefoğlu, 2009; Tsai- Morris, 1987; Antony ve ark., 1987; Grigor ve Skakkebaek, 1993).



**Resim 2.** Testislerin histolojik yapısı. PAS. (Kierszenbaum, 2006).

Seminifer tübüller içinde bulunan esas fonksiyonel hücreler spermatojenik hücreler olup spermatogonya, spermatositler ve spermatidler gibi tipleri vardır. Bu hücreler ileride olgun sperm haline dönüşeceklerdir. Spermatogenesis lümenin serbest yüzeyinde spermatogonyal kök hücrelerinin seminifer tübül tabanından bölünüp spermatozoaya dönüşmesi olayıdır. Spermatogonyalar 12  $\mu\text{m}$  çapındadır ve seminifer tübüllerin sınırlayıcı membranında dizili haldedir. Nucleusları ovoid şekilli olup 6-7  $\mu\text{m}$  çapındadır ve nucleolusları nucleus zarına yapışmış haldedir. Koyu tip A (Ad), Soluk tip A (Ap) ve Tip B spermatogonya olmak üzere 3 tip spermatogonya vardır (Erkoçak, 1973; Weiss, 1977; Ross ve Reith, 1985).

Bu spermatogonyalardan Tip A hücrelerinin bir kısmı ileriki yaşlarda kullanılmak amacıyla hücre olarak depo edilirken, diğerleri ara hücrelere ve sonrada Tip B spermatogonyalara farklanır. Tip B spermatogonyaların mitotik bölünmesi sonucu primer spermatositler meydana gelir. Böylece spermatositogenezis olayı tamamlanır ve mayoz bölünme başlar. Primer spermatositler diploid sayıda kromozom içerirler ve birinci mayoz bölünmede haploid sayıya inerler. Oluşan bu hücreler sekonder spermatositler olarak adlandırılır. Sekonder spermatositler primer spermatositlerin hemen hemen yarısı kadar büyüklükte olup nucleusları yuvarlak ve kromatin yapıları soluk görünümündedir. Sekonder spermatositler ikinci mayoz bölünme sırasında DNA'larını replike etmezler ve haploid sayıda kromozom içeren spermatidler meydana gelir ve spermatogenez tamamlanmış olur. Spermatidler ise

spermatozoona farklılaşırken değişik evreler geçirirler. Bu 4 evre sırasıyla golgi fazı, başlık fazı, akrozom fazı ve olgunlaşma fazıdır (Williams ve ark., 1989; Tosun, 1998; Drews, 1995; Karaöz, 2002).

Golgi fazında golgi aygıtı yapısında belirginleşme görülürken, başlık fazında ise akrozomal kep dediğimiz yapı gelişir. Akrozom fazında ise belirgin olarak şekil değişikliği görülür. Bu dönemde sperm başı Sertoli hücrelerinin sitoplazmasının derinlerine gömülür ve kuyruk flagellumu iyice uzayarak lümende belirgin olmaya başlar. Olgunlaşma fazında ise fazla sitoplazma Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilerek ortadan kaldırılır ve spermatidler birbirlerinden ve Sertoli hücrelerinden ayrılıp lümene düşerler (Williams ve ark., 1989; Eşrefoğlu, 2009; Antony ve ark., 1987; Olson ve Winfrey, 1991; Storey, 1991).

İnterstisyel dokudaki yer alan Leydig hücreleri büyük, oval ve eksentrik yerleşimli nukleuslu hücreler olup tubulusların arasında lenfatiklere yakın konumlarda gruplaşmalar yapan ve testosteron yapımında görev alan hücrelerdir. Mitokondri ve golgi cisimcikleri iyi gelişmiştir. Bu hücrelerde yaşlılıkla birlikte sayıca artan Reinke kristallerine rastlanır. Testislerde yer alan seminifer tübüller testis lobüllerinin apeksinde ise düz seyreden tübüller haline dönüşürler. Bu tübüller tubuli recti (düz tübül) olarak adlandırılır. Seminifer tübülün epitel tubuli rectilere doğru değişmeye başlar ve burada spermatojenik hücreler azalır, Sertoli hücreleri ise artar. Resim 3'te görülen Tubuli recti'ler kısa yapılı olup epitel tek katlı kübik'tir ve rete testisler ile devamlılık gösterip ve ductus efferentes ile epididymis'in baş kısmına bağlanırlar (Eşrefoğlu, 2009; Kalaycı, 1986).

Tubuli recti rete testis'in içine boşalır ve tunika albuginea'nın kalınlaşması ile oluşan mediastinum'un içinde bulunur. Rete testis bir kanal yapısında olup, bu kanalları döşeyen epitel tek katlı yassı ya da tek katlı kübiktir ve ince bir bazal lamina üzerine oturmuştur (Karaöz, 2002).

Epididymis, ductus efferentes ve ductus epididymis'ten oluşan bir organdır ve testisin arka üst yüzü boyunca uzanır. Baş, gövde ve kuyruk olmak üzere 3 kısmı

vardır. Epididymis'in baş kısmında ductus efferentes bulunur (Resim 3). Son derece kıvrımlı, uzun bir kanal olan ductus epididymis ise epididymis'in gövde ve kuyruk kısımlarında bulunur. Bu kanal yalancı çok katlı sterosilyalı prizmatik epitelle döşeli olup, bazal hücreler ve prizmatik (esas) hücrelerden oluşmuştur ve bazal hücreler kök hücre özelliği taşır. Bu hücrelerden başka içinde halo hücreleri denilen ve intraepitelyal lenfositler olarak isimlendirilen başka küçük hücre tipleri de vardır. Bu kanalın epiteli ince lamina propria ile çevrilidir ve dış kısmında düz kas tabakası bulunur. Bu epitel memelilerde spermatozoanın fertilizasyon gücünü olumlu yönde etkileyen bir yapıdır. Baş ve boyun kısımlarında bağ dokusundan başka düz kaslar sirküler şekilde kanal etrafında ince bir tabaka yapar. Kuyruk bölümünde ise bu tabakanın iç ve dış bölümüne longitudinal seyirli iki kas tabakası daha katılır. Bu kaslar ritmik peristaltik kasılma yeteneğine sahip olup spermin ilerlemesini sağlarlar. Sperm ductus epididymis'ten geçerken hareket ve döllenme yeteneğine sahip olurlar. Ductus efferentes'ten arta kalan sıvı ductus epididymis'te absorbe edilir ve epitel hücreleri, Sertoli hücrelerinin ortadan kaldırmadığı atık cisimleri ve dejenere olan spermleri fagosite eder. Esas (prizmatik) hücreler spermlerin olgunlaşması için siyalik asit, gliserofosfokolin ve glikoproteinleri salgırlar (Williams ve ark.,1989; Moore ve Dalley, 2007; Eşrefoğlu, 2009; Hole, 1993; April, 1984).

Ductus deferens, epididymis'in kuyruğunun devamı olup, histolojik olarak iç mukoza, ara kas tabakası ve dış adventisya olmak üzere 3 bölümden meydana gelen kalın duvarlı musküler bir kanal yapısıdır. Ductus deferens testisin arka yüzünden aşağı doğru uzanıp spermatik kordonun bir yapısı olarak inguinal kanaldan geçip karın boşluğuna ulaşır ve burada mesane seviyesinde genişleyip ampullayı oluşturur. Ductus deferens yapısındaki epitel hücrelerinin çoğunun yüzeyinde sterosilyumlar bulunup yalancı çok katlı prizmatik epitelden oluşmuştur. Epitel altındaki lamina propria zengin elastik liflerden oluşmuştur. Çevresindeki kaslar 1-1.5 mm kalınlıkta olup içte ve dışta uzunlamasına, ortada ise dairesel şekilde uzanan düz kas fibrillerinden meydana gelmiştir. Bu düz kasların yapısında yoğun bir otonomik sinir sistemi ağı bulunup, pelvik plexus'tan gelen sempatik sinirlerin birkaçı da bu düz kaslarda sonlanır. Bu sinirlerin uyarılmasıyla peristaltik kasılmalar oluşur ve bu

sayede sperm ileriye doğru ductus ejaculatorius'a doğru ilerler (Carlos ve ark., 1993; Eşrefoğlu, 2009; Noyan, 1993).

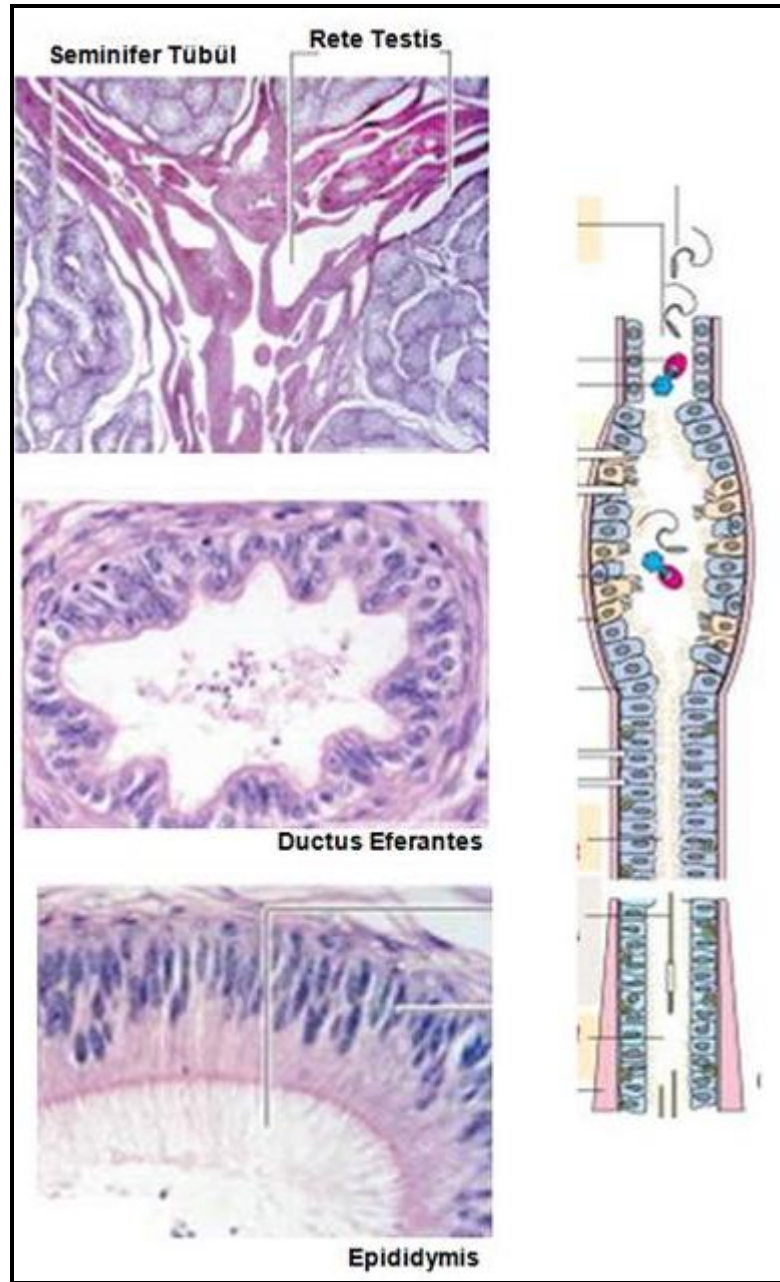
Ductus ejaculatorius ampulla'dan sonra seminal veziküllerin kanallarının da katılmasıyla ductus deferens'in prostata giren ve urethraya doğru daralan kısmıdır. Ductus ejaculatorius'un proksimal kısmında basit veya yalancı çok katlı silindirik epitel bulunurken distal kısımda transisyonel epitel mevcuttur. Epitel hücrelerinde salgısal aktivite vardır ve çok sayıda sarı pigment granülleri içerirler. Basit prizmatik ya da yalancı çok katlı prizmatik epitelle döşelidir ve mukozada lümen içine doğru uzanan silindirik katlantılar bulunur. Lamina propria yapısı elastik fibrillerden zengin, ancak burada kas tabakası bulunmaz (Paker, 1993; Eşrefoğlu, 2009; Ross ve Reith, 1985).

Vesicula seminalis ductus deferens ile ductus ejaculatorius'un birleşme yerinde olup, 4 cm uzunluğunda 2 cm eninde kıvrımlı tubuler ve bir çift organ olup ductus ejaculatorius'a açılır. Vesicula seminalis'in duvarları 3 tabakadan meydana gelir. İçte dairesel dışta uzunlamasına uzanan iki düz kas tabakası ve bunların arasında bulunan daha ince olan ara kas tabakası ve en dış kısımda ise elastik fibrillerden zengin dış adventisyal tabakası bulunur. Lamina propriada elastik fibriller bulunur ve mukozal katlantılar arasında bazı düz kas hücreleri de görülür. Sarımsı, hafif alkalik ve yoğun madde salgırlar. Semen fruktoz ihtiyacı buradan karşılanır. Androjene bağımlı bir bezdir ve kastrasyon sonrasında küçülür (Williams ve ark., 1989; Kalaycı, 1986; Noyan, 1993).

Prostat bezi 30-50 tubuloalveolar bezden meydana gelenve prostatik urethraya açılan bir bezdir. Prostatik sıvıyı üretir ve bu sıvı ejakülasyon sırasında itme ve urethrayı yağlama görevini yapar. Epitel değişken olup, tek katlı prizmatik, yalancı çok katlı prizmatik, tek katlı kübik ya da yassı epiteldir. Epitel hücrelerinin sitoplazmalarında salgı granülleri, lizozomlar ve lipit tanecikleri bulunur. Stromasında düz kas fibrilleri ve yoğun fibroelastik doku vardır. Fibromuskuler doku septaları kapsülün organın içine girer. Ara bağ dokuda bolca kan ve lenf damarları ile sınırlar bulunur (Paker, 1993; Erbeni, 1990; Karaöz, 2002).



Bulbourethral bezler (Cowper bezleri) 3-5 mm çapında, bileşik tbloalveolar bez yapısında olup çok sayıda lobulden oluşmuştur. Hücreler yuvarlak şekilde olup taban kısmında bulunan bir çekirdeğe sahiptir. Bezin toplayıcı kanallarında basit silindirik epitel bulunur. Dışa açılma kanalları yalancı çok katlı epitel ile döşelidir. Sekresyonu berrak, koyu, mukus benzeri olup kaydırıcı etki yapar (Paker, 1993; Erkoçak, 1973; Carlos ve ark., 1993).



**Resim 3.** Erkek genital tübüllerinin histolojik yapısı (Kierszenbaum, 2006).

Penis'in yapısında, dorsalde çift olan corpora cavernosa penis, tek ve ventralde corpus cavernosum urethra bulunur. Tunica albuginea denilen fibroelastik bağ dokusu kavernoöz cisimleri sarar ve bu dokuda düz kas hücreleri bulunur. Bu doku dışta uzunlamasına içte dairesel olup corpora cavernosa penis'ler arasında tam olmayan bir ara septum oluşturur. Corpus cavernosum urethra fibro-elastik dokunun trabekülaları ile desteklenmiş olup sinus cavernosuslardan oluşmuştur. Corpora cavernosa penis yapısında ise arter, ven ve sinir ağları bulunur (Erbengi, 1990).

Urethra, prostatik urethra, membranöz urethra ve kavernoöz urethra olmak üzere 3 kısımdan oluşur. Prostatik urethrada epitel, çok katlı deşişici iken urethra'nın diğer kısımlarında çok katlı prizmatik veya yalancı çok katlı prizmatiktir ve yapısında intraepitelyal bezler bulunur ve bu bezlerden kanal içine mukus salgılanır. Urethra duvarı kalın bir düz kas tabakasından oluşmuş olup membranı müköz yapıdadır. Kas tabakası, özellikle prostatik ve membranöz kısımda bulunur. İçte uzunlamasına, dışta dairesel kas tabakası bulunur. Lamina propria ise gevşek elastik fibrillerden oluşur. Kavernoöz urethrada düz kas tabakası bulunmaz (Williams ve ark., 1989; Karaöz, 2002).

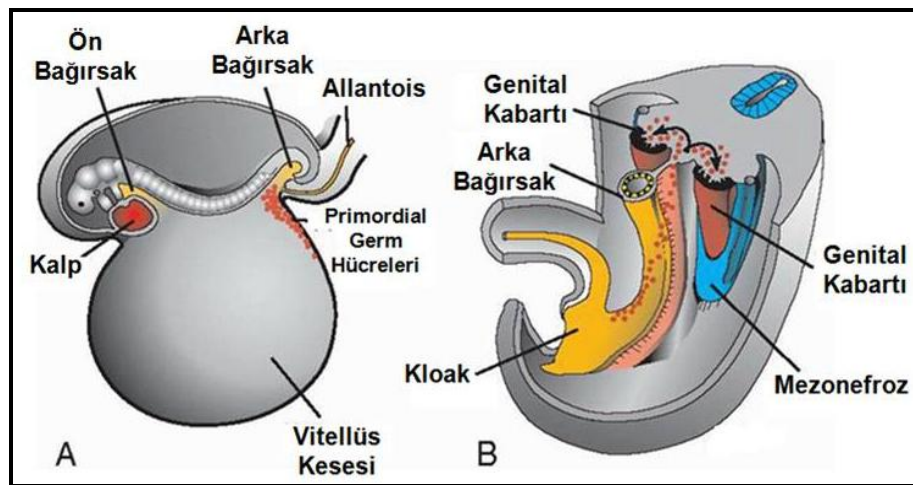
### **2.3. Genital Sistem Embriyolojisi**

Her iki cins embriyoda gonad taslakları aynı yerde ve aynı biçimde yerleşmiştir. Gonadların oluşması, genetik olarak seks kromozomlarına bağlı olmasına rağmen, gelişimin 6. haftasının sonuna dek her iki cinse ait organ taslakları her iki cins embriyoda da bulunur ve bu evreye indifferent evre adı verilir. Embriyonun gelişiminde ön programlama embriyonun dişi olması yönündedir. Ancak Y kromozomu varlığında ortaya çıkan faktörlerin varlığında dişi karakterlerde gerileme ortaya çıkar ve embriyo erkek yönde farklılaşır. Bundan dolayı burada erkek üreme sistemi embriyolojisi ile birlikte genel anlamda tüm üreme sisteminin erken dönemdeki gelişimi de incelenecektir (Petorak, 1986).

Üreme sisteminin gelişiminde, gonadların gelişimine, 4 farklı türde hücre grubu katkıda bulunmaktadır. Bunlar:

- a) Mezonefroz'un medial kısmındaki çoğalmakta olan sölom epiteli (mesothelium)
- b) Sölom epiteli altındaki mezonefrik mezenşim
- c) Hemen hemen mezenşimin her yerinde görülen anjiojenik mezenşim'in istilası
- d) Gelişimin erken döneminde epiblast'tan köken alan primordial germ hücreleri ilerleyen bir zamanda son bağırsağın dorsal mesenteri yoluyla 6. haftada ameboid hareketlerle gonad kabartılarına göç ederler (Sadler, 1995) (Resim 4).

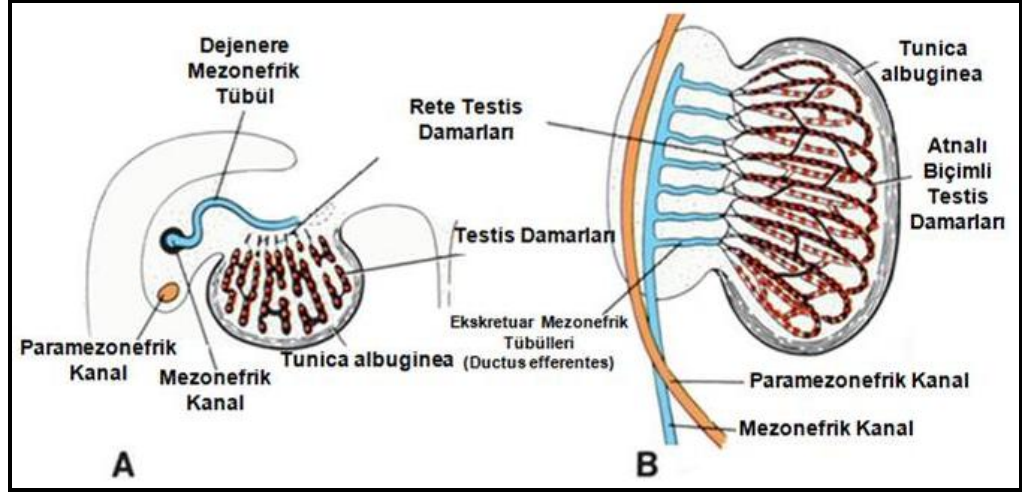
Gonadların şekillenmesi, ilk kez gelişimin 5. haftasında, mezonefroz'un medialinde, sağ ve solda, sölom epiteli'nin çoğalması ve altındaki mezenşim'in kalınlaşmasıyla oluşan, uzunluğuna iki adet genital kabartıyla tespit edilir ve bu iki taslak bir çizgi şeklinde olduğundan dolayı stria genitalis adını alır. Bu sırada bu epitelin altında bulunan mezenşimde de bir hareketlilik görülür ve buradaki mezenşim hücreleri sıklaşıp yan yana gelerek mezenkimal blastemi oluştururlar. Stria genitalis ve mezenkimal blastem hiçbir etki olmadan oluşurken; buradaki gelişimin indüksiyonu, buraya göç eden primordial germ hücreleri yani gonosit'ler aracılığı ile olur. Primordial germ hücreleri ise erken dönemde endoderm'den gelişip ve bir çok vücut hücresi ile karşılaştırıldığında 12-20 µm çapta kadar ulaşan büyüklükte olup iri hücrelerdir (Kayalı ve ark., 1992; Şeftalioğlu, 1998).



**Resim 4.** Primordial germ hücrelerinin genital kabartıya göçü (Sadler, 1995).

Gonositler, beşinci embriyonal haftada, farklılaştıkları bölgeden ayrılıp, allontois'in arkasından geçip, dorsal mezenterium yolu ile lomber bölgede stria genitialis'in geliştiği yere göç ederler. Gonositler buraya ulaştığında bu hücrelerin bir kısmı mezenkimal blastem içerisinde kalırlar ve diğer kısmı ise 6. hafta içinde stria genitialis epiteli'nin içerisine girerler. Mezenkimal blastem içine girmiş bulunan primordial germ hücrelerinin etkisiyle burada bulunan hücreler kordonlar oluşturacak şekilde dizilirler ve primordial germ hücreleri bu kordonların içerisinde bulunur. Bu nedenle bu kordonlara germ kordonları adı verilir ve bunların gelişmeye başlaması ile birlikte indifferent dönem son bulur. Bu dönemden sonra primitif germ kordonları hızla çoğalıp, gelişmekte olan gonad'ın medulla bölgesini doldurur ve bu şekilde birbirleriyle anastomozlar yapan ve içinde buldukları mezenkim dokusundan ayrılan birçok kompakt hücre kordonu oluşur. Bu hücre kordonları gelecekte tubuli contorti seminiferi'sinin (testis kordonları) ilk taslaklarıdır ve organın hilum bölgesinde bu germ kordonları sonlanıp, buradan da rete testis gelişecektir (Kayalı ve ark., 1992).

Rete testis'i oluşturacak bu kordonların bir ucu testis kordonlarıyla, diğer ucu ise mezonefroz'dan geriye kalan epigenitalis'e ait kanalcıklarla (ductuli efferentes) birleşir (Resim4). Bu sırada testis kordonları çok güçlü bir kıvrılma gösterirler ve 4. ayda testis kordonların da çevreden rete testis'e doğru ilerleyen lümenleşmeleri çok yavaş ilerler ve bu da yeni doğanlarda tubuli contorti seminiferi'nin çoğunun kapalı olmasına neden olur. Bunların içindeki primordial germ hücrelerinden spermatogonium'lar ve epitel hücrelerinden de Sertoli hücreleri gelişir. İnsanda bulunan Leydig hücreleri ise 8. ile 18. haftalar arasında testis kordonları arasında kalan interstisyel dokudaki mezenkim hücrelerinin çok hızlı değişmesi ile oluşur ve bu hücreler mezonefroz kökenli olup sayıları oldukça fazladır ve gebeliğin yarısından sonra doğuma kadar bu hücrelerde yavaş yavaş azalma görülür (Petorak, 1986).



**Resim 5.** Testislerin embriyolojik dönemde gelişimi (Sadler, 1995).

Genital kanallar ise, ara mezodermin dorsal bölgesinde yer alan genital kabartının farklılaşması sonrasında meydana gelirler. Bu farklılaşma sırasında ilk 6 hafta içerisinde hem dişi üreme sistemini hem de erkek üreme sistemini geliştirecek olan kanallar mevcuttur. Dişi üreme sistemini geliştirecek olan kanallar paramezonefrik kanallar (Müller kanalları) adını alırken; erkek üreme sistemini geliştirecek olan kanallar mezonefrik kanallar (Wolffian) adını alır (Resim4). 6. haftaya kadar bir arada mevcut olan bu kanallardan bir tanesi embriyonun cinsiyetine bağlı olarak devamlılığını sürdürürken diğeri kaybolur. Burada belirleyici faktör Y kromozomu üzerinde yer alan Sry geni ekspresyonudur. Sry geni varlığında Sertoli hücreleri aktive olarak anti-Mullerian (AMH) hormon salgılamak suretiyle müllerian kanalların gerilemesine ve kaybolmasına neden olurken wolffian kanalların gelişimine uyarıcı etki yapar. Diğer yandan Sry geni yokluğunda embriyo dişi yönde gelişme gösterir ve müllerian kanallar kalırken wolffian kanallar gerileme gösterir (Tosun, 1998; Şeftalioğlu, 1998; Sadler, 1995; Tekelioğlu, 1995).

Dış genital organların gelişmesi için her iki cinste de farklılaşmamış ve farklılaşmış olmak üzere iki evre vardır. Farklılaşmamış evre gelişimin 3. haftası olup primitif çizgiden köken alan mezenşim hücrelerinin göç edip kloakal katlantıyı oluşturduğu ve her iki cinste de dış genital organların kökenini aldığı evredir. Kloakal katlantılar, kloakal membranın baş kısmında birleşerek genital tüberkülü oluştururlar. 6. haftada kloakal membran ürogenital ve anal membrana ayrılır ve

kloakal katlantı da önde urethral katlantı, arkada anal katlantılara bölünür. Bu sırada urethral katlantılarının her iki yanında genital kabartılar oluşur (Resim 3) ve bunlar erkekte skrotal şişkinliği, dişide ise labia majorları oluşturur (Petorak, 1986; Sadler, 1995).

Erkeklerde dış genital organlarının gelişimi, fetal testislerden salınan androjen hormonunun etkisi altında olup, fallus adını alan genital tüberkülün hızlı uzamasıyla bilinir. Bu uzama sırasında fallus urethral katlantıları öne doğru çeker ve urethral oluğun lateral duvarları oluşur. Bu oluk, uzayan fallusun kuyruk kısmına gelir ama glans olarak bilinen en uç kısmına kadar gelemmez. Bu oluğun epitelyal yüzeyi endodermal kökenli olup, urethral plağı oluşturur. 3. ayın sonunda iki urethral katlantı bu urethral plak üstüne kapanarak penil urethra oluşur. Urethra'nın en distal kısmı, 4. ayda glans'ın ucundaki ektodermal hücrelerin içe doğru penetre olmasıyla kısa bir epitelyal kordon oluşturur. Bu kordonun içinin daha sonra boşalmasıyla eksternal uretral meatus meydana gelir. Erkeklerdeki genital şişkinlikler başlangıçta inguinal bölgede yerleşmiştir ve gelişimin ileri dönemlerinde kaudal yönde ilerleyip her şişkinlik kendi tarafındaki hemiscrotumu oluşturur. İki hemiskrotum birbirinden septum scrotum ile ayrılmıştır (Sadler, 1995).

#### **2.4. Erkek Üreme Sistemi Fizyolojisi**

Erkeklerde üreme fonksiyonlarının esas görevi spermatogenesis'le spermatozoon'u oluşturmaktır ve bununla birlikte spermatogenesis için gerekli olan testosteren hormonunun salgılanması önemlidir. Testosteron hormonu testislerde interstial alanda yerleşmiş olan Leydig hücreleri tarafından salgılanır. Bu hormon sperm yapımındaki germinal hücrelerinin bölünme ve gelişimi için gereklidir. Bunun yanında testis içindeki a.testicularis ve v.testicularis'ler birbirlerine paralel bir şekilde seyir halindedirler ve bu da ters akım halinde olup, ısı ve testosteron alışverişini sağlar. Testislerin scrotum'da asılı olmasıyla sıcak havalarda gevşeyip sarkması ve soğuk havalarda m.cremaster kasının kasılmasıyla vücuda yaklaşmasıyla testisin ısı değişkenlerinden ve diğer etkenlerden etkilenmesi önlenmiş olur. Tüm bu

faktörler sperm oluşumu için oldukça önemlidir (Tosun, 1998; Guyton ve Hall, 2006; Ganong, 1999).

Folikül uyarıcı hormon (FSH) hipofiz bezinden salgılanır ve Sertoli hücrelerini uyarır. Bu uyarı olmadan spermatogenesis olayı gerçekleşmez. Bunun yanında aynı şekilde hipofizden salgılanan Luteinizan hormon (LH), Leydig hücrelerini uyararak testosteron salınımını sağlar (Guyton ve Hall, 2006; Berne ve ark., 2008).

Yardımcı bezlerden salgılanan sıvı içinde sperm beslenmesini sağlayan fruktoz, uretral ve vaginal asiditeyi nötrleştiren alkali ortam ve fosfolipidler semen içinde sperm hareketini artırıcı etki göstermektedirler. Semen 3-4 ml kadar olup, içerisinde ortalama 300-500 milyon sperm bulunur. Semen pH'ı yaklaşık olarak 7,5 civarındadır. Yapısında bulunan hyaluronidaz enzimi vaginanın muköz salgısını eritip, sperm hareketlerini artırıcı etki yapar (Guyton ve Hall, 2006; Noyan, 1993).

Sperm akrozomunda fazla miktarda hyalüronidaz ve proteolitik enzimler depolanır. Hyalüronidaz, granüloza hücrelerindeki hücreleri bir arada tutan hyalürik asit polimerlerini monomerlerine ayırır. Proteolitik enzimler ise yumurtaya bağlı olan yapısal elemanların proteinlerini sindirir. Ovum fallop tüplerine atıldığında etrafında çok sayıda granüloza hücre tabakası bulunur ve sperm ovuma ulaşmadan önce bu tabakayı geçmek zorundadır. Daha sonra ovumun çevresinde kalın bir örtü olan zona pellusida'yı delmelidir. İşte bu enzimler sperm'in ovuma ulaşması için önemli enzimlerdir. İlk sperm ovuma girdikten sonra, oosit zarlarından kalsiyum salınımı başlar ve buna bağlı birçok kortikal granül ekzositozla oositten perivitelin boşluğuna bırakılır. İşte bu granüller daha fazla sperm oosite girmesini engeller (Guyton ve Hall, 2006).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız kapsamında öncelikle Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu'ndan etik çalışma onayı (AKÜHADYEK-158-12) alındı.

#### 3.1. Hayvanlar

Çalışmamızda toplam 24 adet Sprague-Dawley tipi erkek ratlar kullanılmış olup bu hayvanlar öncelikle yaş gruplarına göre 4 gruba ayrılmıştır. Hayvanlar aşağıdaki şekilde gruplanmıştır;

Grup 1. Prepubertal dönemdeki (14 günlük) ratlar

Grup 2. Erken Pubertal dönemdeki (30 günlük) ratlar

Grup 3. Geç Pubertal dönemdeki (60 günlük) ratlar

Grup 4. Ergin (90 günlük) ratlar

#### 3.2. Deney

Cerrahi işlemden 12 saat önceden itibaren aç bırakılan ratlar,  $21\pm 1$  °C sıcaklık ve % 45–55 nem olan ortamda 12/12 saat ışık siklusu göz önünde bulundurulacak şekilde polikarbonat kaplarda Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney hayvanları ünitesinde büyütüldü ve beslendi ayrıca operasyon öncesi özel odaya alındı. Burada 2 saat kadar ortama adaptasyon için beklendikten sonra herhangi bir kimyasal ajan verilmeksizin hayvanlara anestezi uygulandı. Anestezi için ksilazin 87 mg/kg im ve ketamin 13 mg/kg im uygulandı. Anesteziyi takiben, sıçanlar olası ani hareketleri ile sterilizasyonu bozmaması için ekstremitelerinden ameliyat masasına bağlandı. Batın tıraş edilip, povidone-iodine solüsyonu ile silindikten sonra steril koşullarda, median laparotomi ile açıldı, Anestezi sonrasında sırtüstü yatırılan ratların alt abdominal bölgesine kesi uygulanarak bu bölgeden her iki testis çıkartıldı (Resim 7). Eksizyonla



alınan dokular histolojik doku takibi için Bouin solüsyonu içine konuldu. Hayvanlara eksizyon dışında kan alma, biyopsi alma vb. herhangi bir müdahale yapılmadı. Eksizyon sonrası hayvanlar sakrifiye edilerek özel atık poşetleri ile deney hayvanları ünitesine teslim edilerek yok edilmeleri sağlandı.



**Resim 6.** 14 günlük ratın batin bölgesinden testislerin eksizyonu.

### 3.3. Histolojik Değerlendirme

Alınan testisler Bouin fiksatifine konduktan sonra dokunun büyüklüğüne paralel olacak şekilde 3-5 gün fikse edildi. Fiksasyon sonrası rutin histolojik doku takip metodu ile testisler parafin bloklara gömüldü. Bu bloklardan 5µ kalınlığında kesitler histokimyasal boyama için klasik lam üstüne, immunohistokimyasal boyama için polilizinli lam üzerine alındı. Alınan örnekler deparafinize edildikten sonra histokimyasal olarak Hematoksilen-eozin ve immunohistokimyasal olarak Pan-Kaderin ve Klaudin ile boyandı. Histokimyasal olarak dokuların değerlendirilmesi Nikon E600-Japan ışık mikroskobu altında yapıldı. Histokimyasal ve immunohistokimyasal inceleme sırasında ışık mikroskobunda her materyale ait birbirinden farklı 20 alanda kesit düzlemi yuvarlak veya hafif oval şekilli olan

seminifer tübül çapları Nikon Digital Sight-DS-L1 Image Analysis software ile ölçüldü. Bu incelemeler ile ilgili detaylar aşağıda verilmiştir.

### **1. Bouin fiksatifinin hazırlanması;**

- 1) Saturated pikrik asit 3000 ml
- 2) Formaldehit 1000 ml
- 3) Glasiyal asetik asit 200 ml

### **2. Histokimyasal boyama;**

Hematoksilen-eozin boyama basamakları

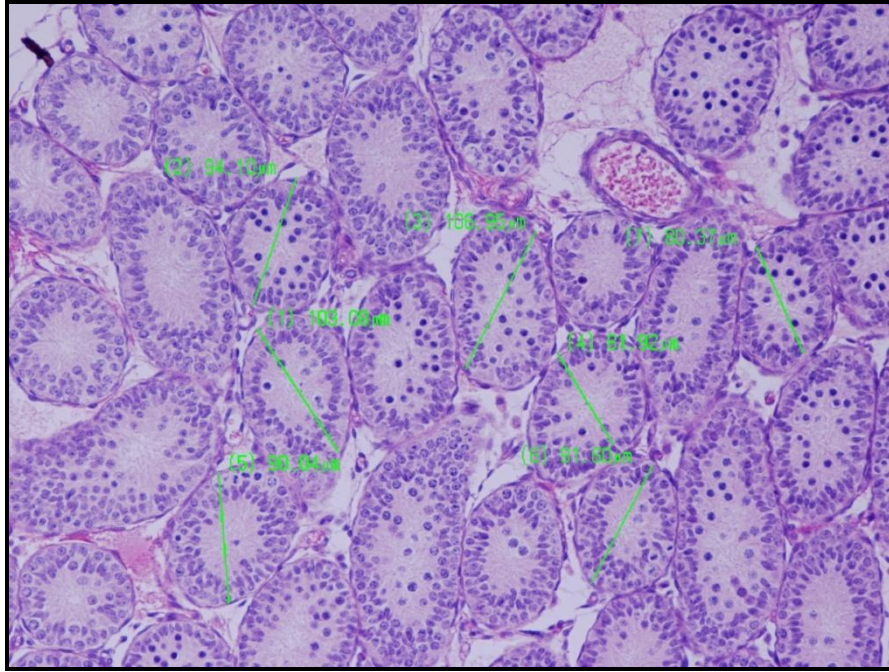
1. Deparafinizasyon
2. Rehidratasyon
  1. Absolü alkolde 2 dakika
  2. %90 alkolde 2 dakika
  3. %80 alkolde 2 dakika
  4. %70 alkolde 2 dakika
  5. Distile su 2 dakika
3. Boyama
  1. Hematoksilen 2.5 dakika
  2. Akarsuda bolca yıkandı
  3. Eozin 1 dakika
  4. %70 alkolde yıkandı
  5. %80 alkolde yıkandı
  6. %90 alkolde yıkandı
  7. Absolü alkolde yıkandı.
  8. Ksilene alındı.
4. Kapatma

### **İmmunohistokimyasal boyama:**

- 1) Parafin kesitleri 64 °C'de 1 gece bekletip deparafinize edildi
- 2) Sabah ksilen'de 30 dk bekletildi ve tam deparafinizasyonu sağlandı.
- 3) Doku dehidrate edildi. Bu amaçla
  1. %96 alkolde 5 dakika
  2. %96 alkolde 5 dakika
  3. %90 alkolde 3 dakika
  4. %80 alkolde 3 dakika
  5. %70 alkolde 3 dakika
- 4) Çeşme suyu ile bolca yıkandı
- 5) Antikorların alındığı firmanın önerileri doğrultusunda primer antikor türüne göre buffer ile muamele edilmek üzere mikrodalgada önce 7-8 dakika, sonra 20 dakika kaynatılarak antijen retrieval işlemi yapıldı.
- 6) TBS ile 2 kez yıkandı
- 7) 15 dakika Hidrojen peroksitte bekleterek preparatlardaki peroksidaz aktivitesi kaldırıldı
- 8) TBS ile 2 kez yıkandı
- 9) Ultra V Block ile 5 dakika boyanıp zemin boyaması engellendi
- 10) Primer antikor damlatıldı ve oda sıcaklığında yaklaşık 2 saat bekletildi (Süreler antikorların alındığı firmaların istediği sürede kullanıldı).
- 11) TBS ile iyice yıkandı
- 12) HRP kit uygulandı
  1. 20 dakika Anti-Goat serumda bekletildi
  2. TBS
  3. 20 dakika Streptavidinde bekletildi
- 13) TBS'te 4 kez yıkandı
- 14) AEC kromojende 10 dakika bekletilip renklendirme yapıldı
- 15) Çeşme suyunda yıkandı
- 16) 1 dakika Mayers Hematoksilen'de bekletilip zıt boyama yapıldı.
- 17) Çeşme suyunda yıkandı
- 18) Özel su bazlı kapatma solüsyonu ile kapatıldı.

### 3.4. Görüntü Analizi

Yapılan histokimyasal boyamalarda boyanan testis dokularında mevcut seminifer tübüllerin çapları Nikon Digital Sight-DS-L1 Image Analysis software ile ölçüldü. Ölçüm sırasında her bir rata ait testis dokusundan alınan kesitlerden, x20 objektif büyütmede, farklı alanlardan 20'şer olmak üzere toplam 120 seminifer tübül çapı ölçüldü (Resim 7). Ölçüm sırasında kesit düzlemi yuvarlak veya hafif oval olan tübüllerin çapları ölçüldü. Elde edilen değerler istatistiksel analiz için kullanıldı.



**Resim 7.** Işık mikroskobu altında seminifer tübüllerin çaplarının görüntü analiz programı ile ölçümü.

### 3.5. İstatistiksel Analiz

Image Analysis Software ile ölçülen seminifer tübül çaplarına ait veriler, SPSS for Windows 16.0 paket istatistik programında analiz edildi. Analiz için Oneway ANOVA metodu kullanıldı. PostHoc testi olarak Tukey HSD testi kullanıldı. P değeri 0.05'den küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Yapılan histolojik değerlendirmelerde 4 gruba ait testislerin incelemelerinde seminifer túbüllerin çapları, içlerindeki hücreslerin varlığı ve dağılımı yanında kan-testis bariyerinin varlığı ve yapılanması yorumlanmıştır. Bu kriterler çerçevesinde aşağıdaki bulgular elde edilmiştir.

### **Seminifer túbüllerin histolojik değerlendirilmesi:**

Yapılan değerlendirmelerde tüm yaş gruplarındaki ratların testislerinde seminifer túbüle ait histolojik komponentlerin yani spermatogonyaların, Sertoli hücrelerinin ve seminifer túbül dışındaki intertúbüler alanda Leydig hücrelerinin ve bağ dokusu hücrelerinin mevcut olduğu tespit edildi. Bununla birlikte, 14 günlük ratlara ait testislerden alınan kesitler x20 objektif büyütmede mikroskobik olarak incelendiğinde soluk renkli sitoplazmalarıyla Sertoli hücrelerinin daha yoğunlukta olduğu spermatogonya sayısının az olduğu ve hiç spermatid olmadığı gözlendi. Ayrıca túbüllerin büyük kısmında lümenin şekillenmemiş olduğu görüldü. Intertúbüler alanda ise seyrek de olsa Leydig hücreleri görülmekteydi (Resim 8).

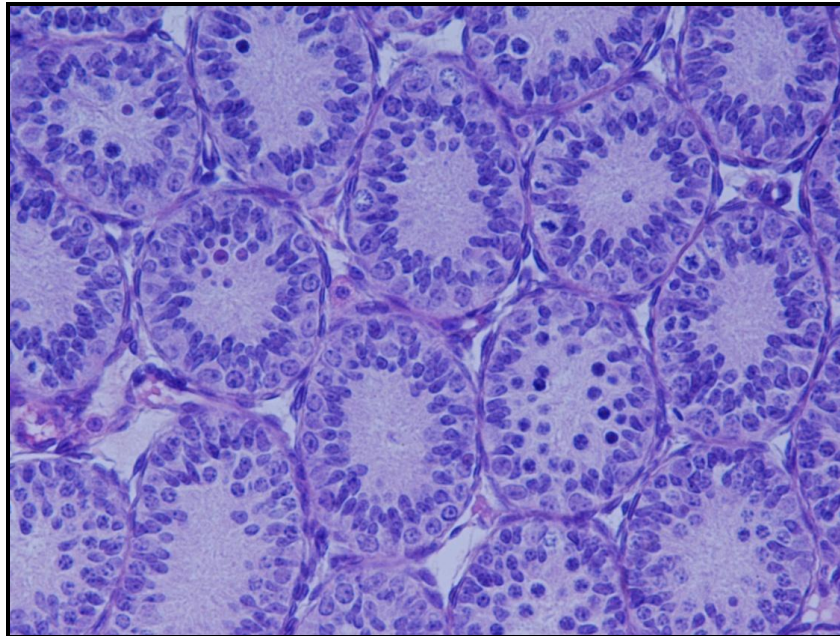
Diğer yandan 30 günlük ratlara ait testislerden alınan kesitler x20 objektif büyütmede mikroskobik olarak incelenmesinde seminifer túbüllerin organizasyonunun gelişmiş olduğu túbül çaplarının arttığı, túbül içinde A ve B tipi spermatogonyaların belirgin derecede arttığı ve Sertoli hücrelerinin ayrımının güçleştiği tespit edildi. Bununla birlikte oldukça az sayıda spermatid olduğu lümene yakın bölgede tip B spermatogonyaların daha yoğun olduğu gözlendi. Intertúbüler alanda ise Leydig hücre sayısında artış dikkati çekmekteydi. Ayrıca tunica albuginea'nın sıkı bağ dokusu özelliğinde yapılandığı dikkati çekti (Tablo 1, Resim 9).

60 günlük ratların testislerinin incelenmesinde (x20 objektif büyütmede) ise testislerin tam organize bir yapılanma içinde olduğu, seminifer túbüllerin bol miktarda spermatogonyalar ve spermatidlerle dolu olduğu tespit edildi. Sertoli hücrelerinin seçilmesinin oldukça zorlaştığı belirlendi. Túbül çaplarının oldukça artmış olduğu ve lümenlerinde belirgin derecede genişlemiş olduğu tespit edildi.

İntertübüler alanda Leydig hücre sayısının belirgin derecede arttığı ve bağ dokusunun gelişmiş olduğu tespit edildi (Tablo 1, Resim10).

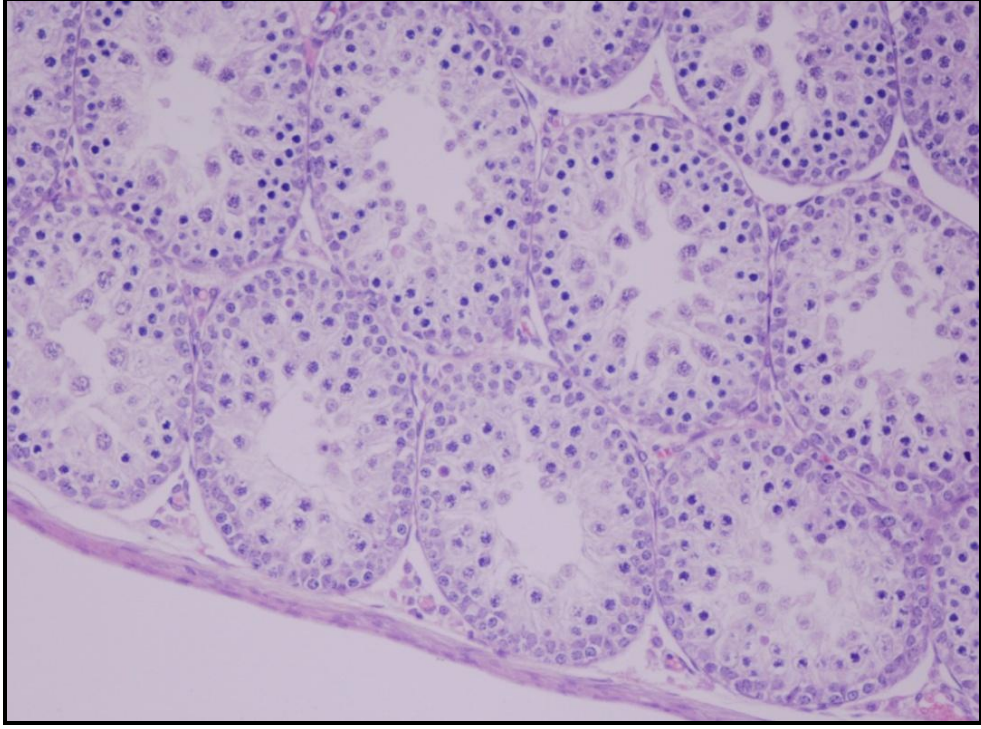
90 günlük ratların testislerinin incelemesinde (x20 objektif büyütmede) ise histolojik organizasyonun 60 günlük rat testislerine benzer olduğu görüldü. Spermatogonyaların sayısının oldukça fazla olduğu lümen çapının iyice genişlemiş olduğu, Sertoli hücrelerinin iyice seçilemez hale geldiği ve lümenin iç kısmına kadar spermatidlerin bolca dağılmış halde olduğu gözlemlendi. İntertübüler alanda Leydig hücre sayısının bol olduğu ve bağ dokusunun gelişmiş olduğu gözlemlendi (Tablo 1, Resim 11).

Tübüllerin çaplarının gelişimi ile ilgili yapılan morfometrik ölçümlerde tübül çaplarının yaşa bağlı olarak giderek arttığı ancak 60 günden sonra artışın yatay bir seyir gösterdiği görüldü. Seminifer tübül çaplarının ölçümünde elde edilen değerler aşağıda verilmiştir. Diğer yandan tübül çaplarının gruplar arasındaki değişimi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde tübül çaplarındaki artışın 60. gün rat testisleriyle 90. gün rat testislerinde istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ( $p=0.681$ ), bunun dışında diğer tüm gruplar arasında değişimin istatistiksel olarak anlamlı olduğu (hepsi için  $p \leq 0.001$ ) tespit edildi. Bu analizlerle ilgili istatistiksel veriler Tablo-1’de verilmiştir.

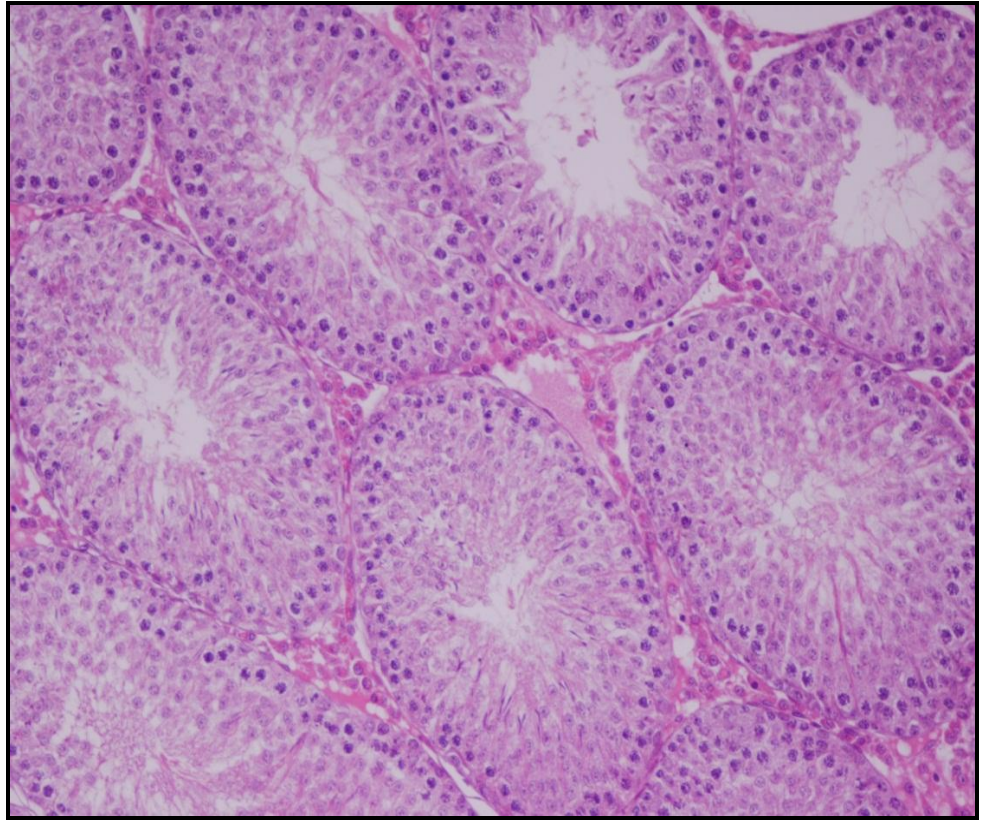


**Resim 8.** 14 günlük rat testislerinin genel histolojik görünümü (Hematoksilen-eozin, x40).

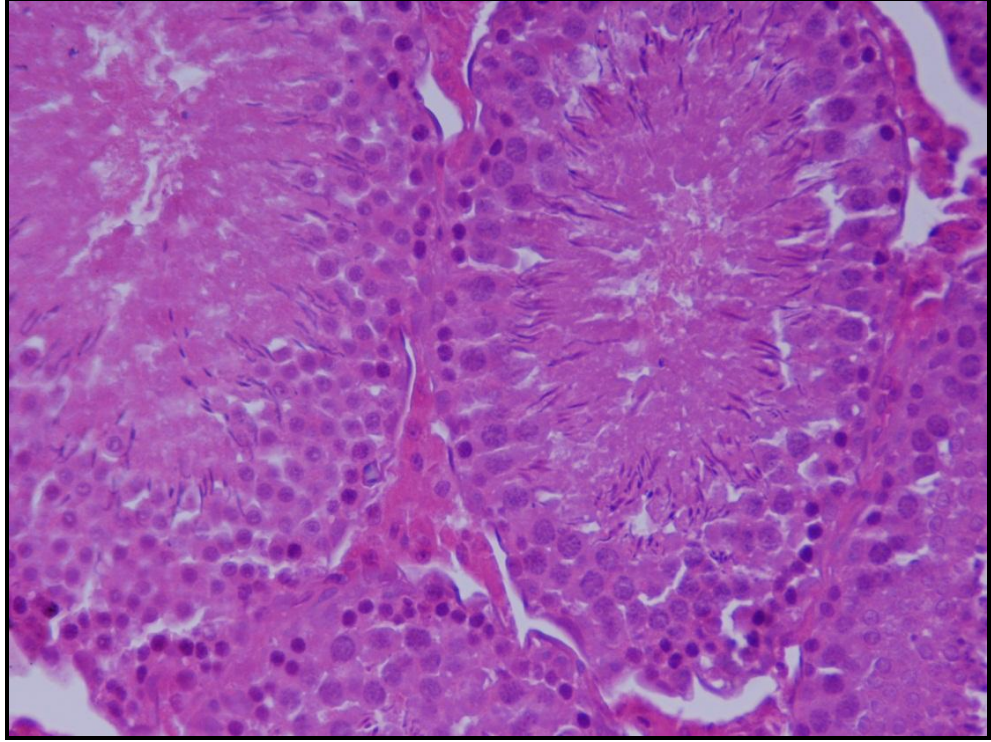




**Resim 9.** 30 günlük rat testislerinin genel histolojik görünümü (Hematoksilen-eozin, x40).



**Resim10.** 60 günlük rat testislerinin genel histolojik görünümü (Hematoksilen-eozin, x40).



**Resim 11.** 90 günlük rat testislerinin genel histolojik görünümü (Hematoksilen-Eozin, x60).

**Tablo1.** Seminifer tübül çaplarının tanımlayıcı değerleri ( $\mu\text{m}$ ).

Tübül çapı

	Ölçüm				
	sayısı	Ortalama	Std. hata	Minimum	Maximum
14 gün	120	81,86	,93845	55,03	106,90
30 gün	120	154,07	1,79737	110,70	217,80
60 gün	120	226,98	2,29416	167,50	296,90
90 gün	120	230,38	3,04771	157,30	324,70
Total	480	173,32	2,98665	55,03	324,70

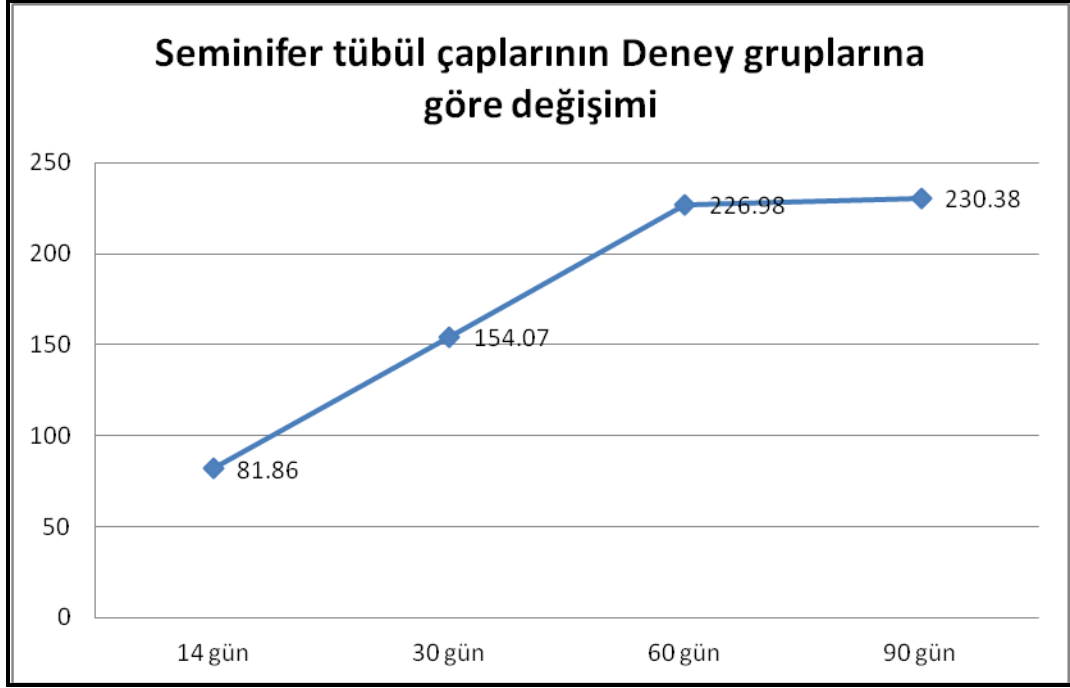


**Tablo 2.** Seminerifer tübül çaplarının tanımlayıcı değerleri ve değişimin karşılaştırılması.

**Çoklu karşılaştırmalar**

(I) Gruplar	(J) Gruplar	Ortalama fark (I-J)	Std. hata	P değeri	95%'lik güvenirlik aralığı	
					Alt sınır	üst sınır
I.grup	II.grup	-72,21167	3,05475	,000	-80,0872	-64,3361
	III.grup	-145,11558	3,05475	,000	-152,9911	-137,2401
	IV.grup	-148,51842	3,05475	,000	-156,3939	-140,6429
II.grup	I.grup	72,21167	3,05475	,000	64,3361	80,0872
	III.grup	-72,90392	3,05475	,000	-80,7794	-65,0284
	IV.grup	-76,30675	3,05475	,000	-84,1823	-68,4312
III.grup	I.grup	145,11558	3,05475	,000	137,2401	152,9911
	II.grup	72,90392	3,05475	,000	65,0284	80,7794
	IV.grup	-3,40283	3,05475	,681	-11,2784	4,4727
IV.grup	I.grup	148,51842	3,05475	,000	140,6429	156,3939
	II.grup	76,30675	3,05475	,000	68,4312	84,1823
	III.grup	3,40283	3,05475	,681	-4,4727	11,2784

Seminifer tübül çaplarındaki değişim grafik haline getirildiğinde 14. günden 60. güne kadar olan artışın 60. günden sonra daha yatay bir seyir gösterdiği tespit edildi (Resim 12).



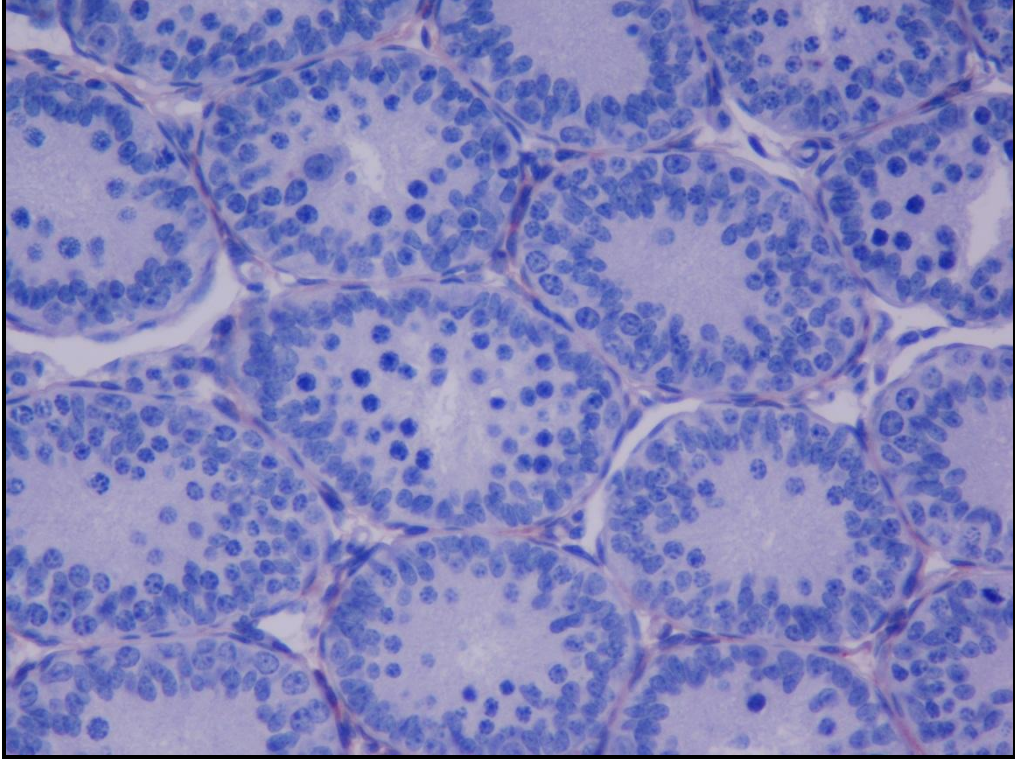
**Resim 12.** Seminifer tübül çaplarının deney gruplarına göre değişimi.

Deney grupları içindeki hayvanların seminifer tübülleri içinde bulunan kan-testis bariyerinin immunohistokimyasal incelenmesinde ise aşağıda belirtilen bulgular elde edildi.

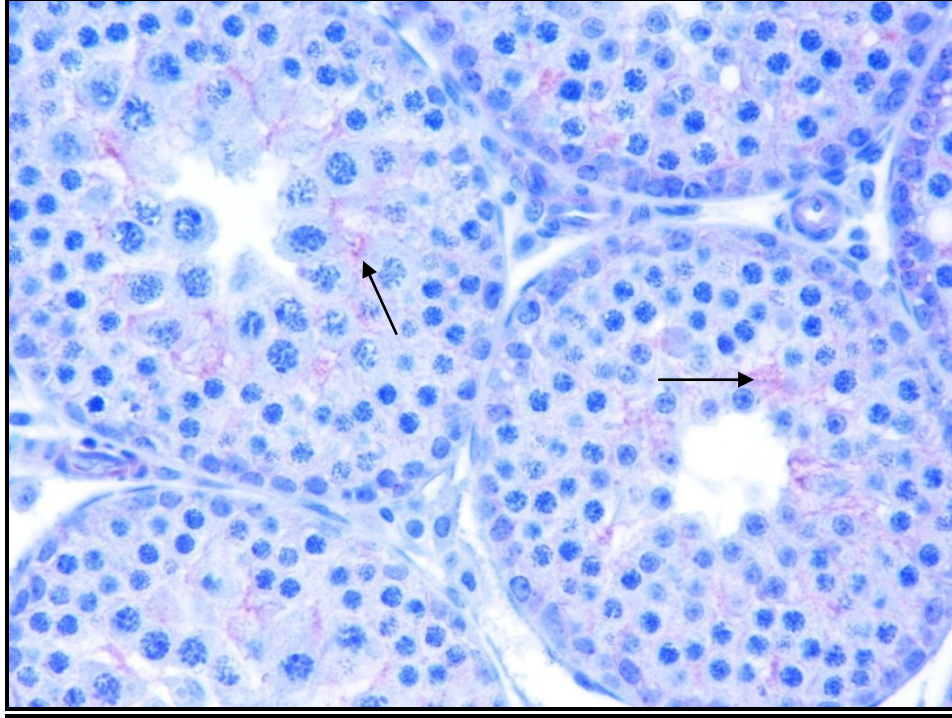
Klaudin molekülü tight junctionlarda yer alan bir protein olup doku entegrasyonunda önemli rol oynar. Tight junctionlarda klaudin molekülü varsa immunohistokimyasal olarak yapılan boyamalarda kırmızımsı bir renkte görülmeleri sağlanır. Yapılan immunohistokimyasal boyama sonrası ışık mikroskopik incelemelerde Klaudin ekspresyonunun 14 ve 30 günlük rat testislerinde seminifer tübüller içinde olmadığı gözlendi (Resim 13 ve 14). Ancak 60 ve 90 günlük dönemde olan ratlarda bilhassa tübüllerin orta kısımlarda belirgin olmak üzere ve evre 7 üzeri tübüllerde Klaudin ekspresyonu olduğu tespit edildi (Resim 15 ve 16).

Kaderin molekülü ise hücre yapışma molekülleri içinde yer alan ve hücreler arası entegrasyonu sağlamak suretiyle solid dokuların organizasyonunu sağlayan bir moleküldür. Yapılan immunohistokimyasal boyama sonrası ışık mikroskopik incelemelerde Kaderin ekspresyonunun 14 günlük rat testis seminifer tübüllerinde

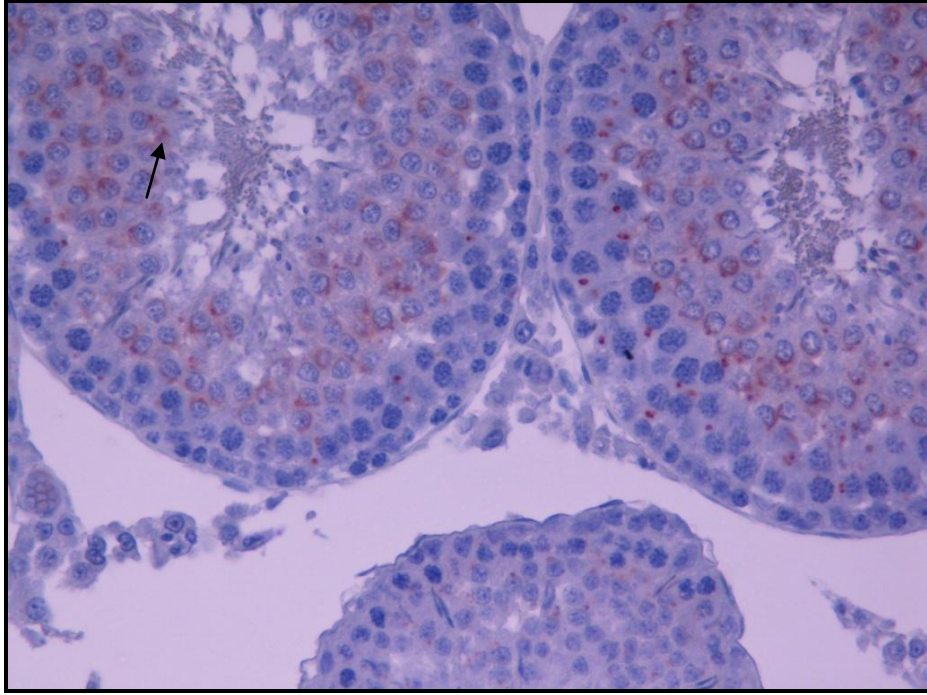
olmadığı 30 günlük ratlarda bilhassa lümene yakın bölgelerde ortaya çıkmaya başladığı görüldü (Resim 17 ve 18). 60 ve 90 günlük ratlarda ise bilhassa seminifer tübül bazalindeki spermatogonyalar arasında ve lümene yakın spermatidlerin çevresinde mevcut olduğu gözlemlendi (Resim 19 ve 20).



**Resim 13.** 14 günlük rat testisinde Klaudin primer antikoruna ile boyanma sonucu ekspresyon görülmemektedir. (Anti-Klaudin. x40).

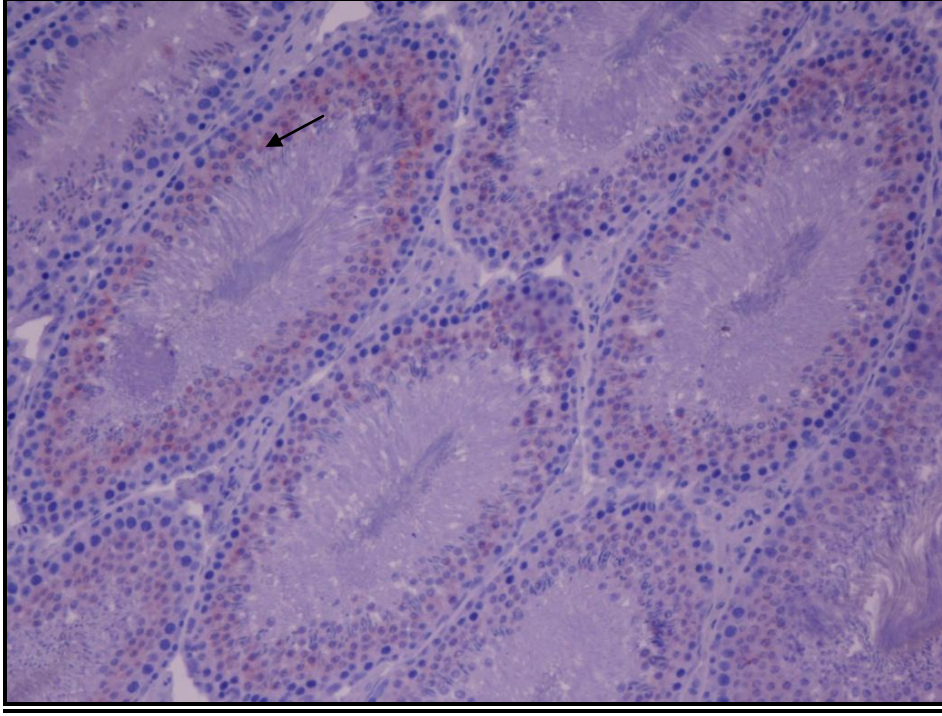


**Resim 14.** 30 günlük rat testisinde Klaudin ekspresyonu (kiremit kırmızı boyanma görülen hücre zarları). (Anti-Klaudin. x60).

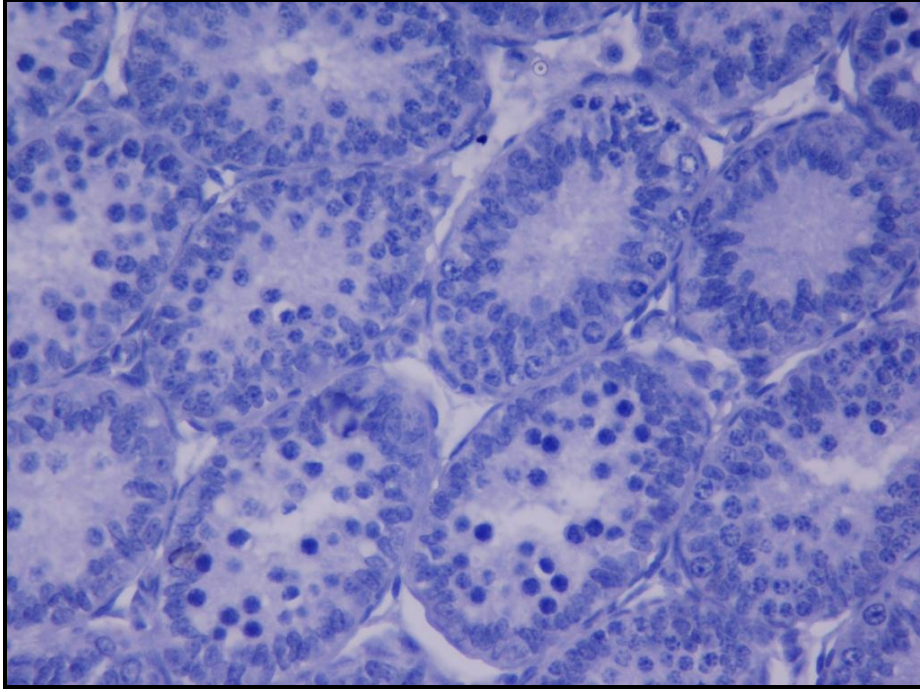


**Resim 15.** 60 günlük rat testisinde Klaudin ekspresyonu (kiremit kırmızı boyanma görülen hücre zarları). (Anti-Klaudin. x60).

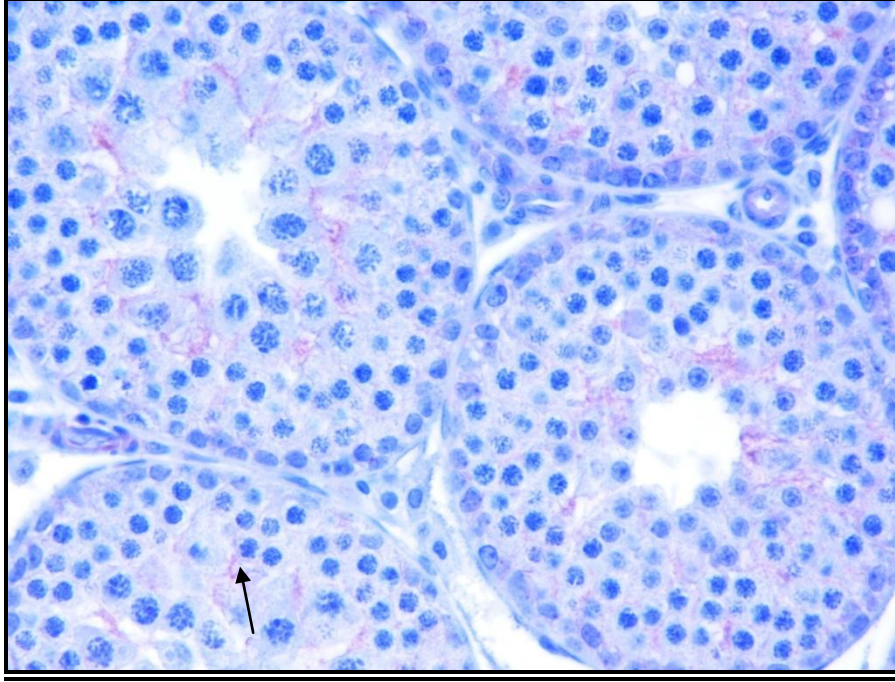




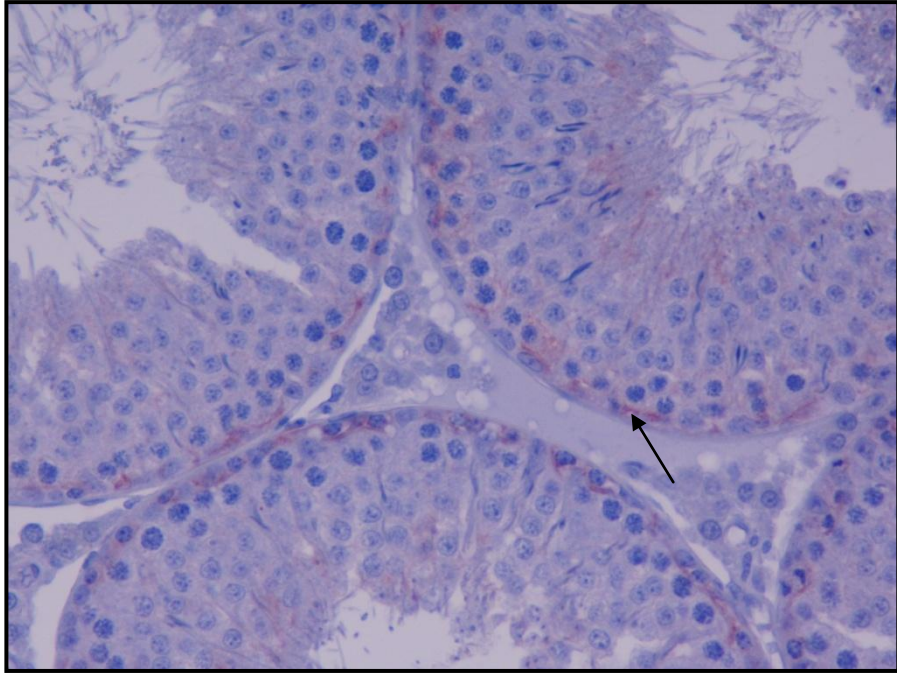
**Resim 16.** 90 günlük rat testisinde Klaudin ekspresyonu (kiremit kırmızı boyanma görülen hücre zarları). (Anti-Klaudin. x40).



**Resim 17.** 14 günlük rat testisinde Kaderin primer antikoruna boyanma sonucu ekspresyon görülmemektedir (Anti-Kaderin. x40).

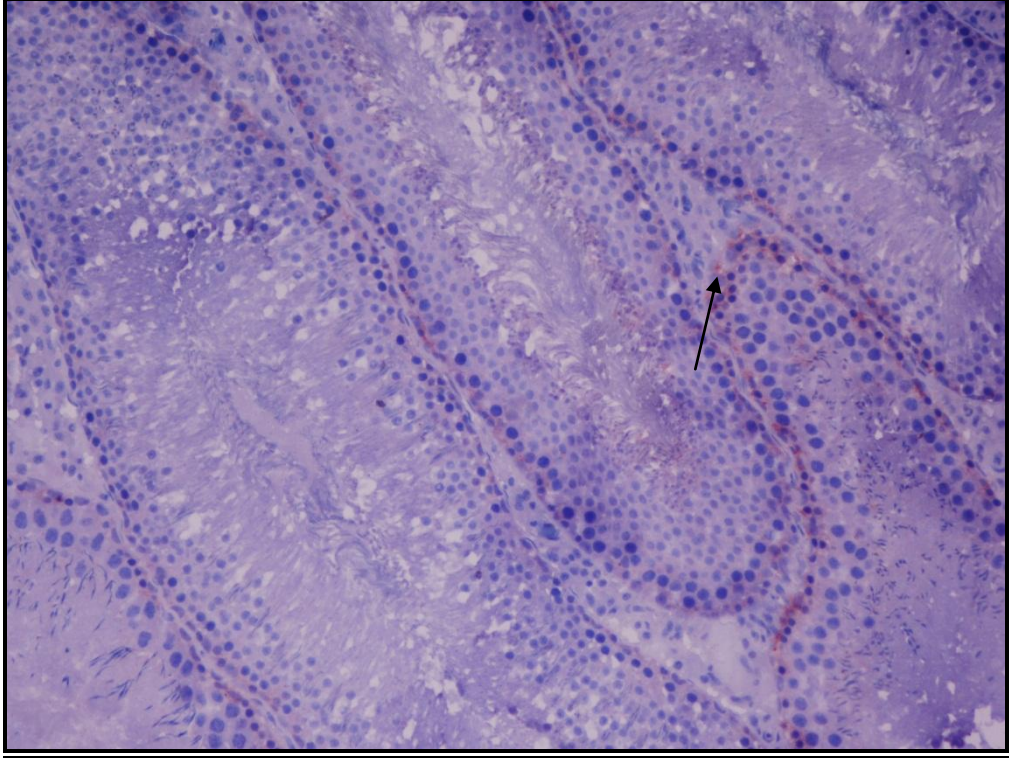


**Resim 18.** 30 günlük rat testisinde Kaderin ekspresyonu (kiremit kırmızı boyanma görülen hücre zarları) (Anti-Kaderin. x60).



**Resim 19.** 60 günlük rat testisinde Kaderin ekspresyonu (kiremit kırmızı boyanma görülen hücre zarları) (Anti-Kaderin. x60).





**Resim 20.** 90 günlük rat testisinde Kaderin ekspresyonu (kiremit kırmızı boyanma görülen hücre zarları) (Anti-Kaderin. x40)

## 5. TARTIŞMA

Erkek ratlarda spermatogenezis puberte döneminde görülen fizyolojik değişikliklerden bir tanesidir. Her ne kadar seminifer tübüllerde tek bir somatik hücre olarak Sertoli hücreleri olsa da farklı tipte germ hücre serilerinin olması oldukça önemlidir (Hess ve Franca, 2008). Bu hücreler içinde uzamış veya yuvarlak spermatidler, pakiten veya preleptoten spermatositler ile A ve B tipi spermatogoniumlar bulunur. Puberteye kadar sadece seminifer tübüllerin bazal membranlarında, dışideki oogonyaların gelişiminden farklı olarak, mayoz bölünmeye girmeksizin bekleyen spermatogonyalar testosteron salgılanmasında görülen artış ile uyarılarak bölünmelerine başlarlar. Bazal membranda yer alan A tipi spermatogonyalar mayoz bölünmelerine başladıktan sonra, B tipi spermatogonya adını alırlar ve spermiyogenez süreci içinde mayoz bölünmelerini tamamlayarak ergin sperm haline gelirler. Bu gelişim süreci içinde spermatogonyalar bazal membrandan lümeneye doğru hareket gösterirler. Bu süreçte hücrelerin boyutu daha küçülür ve spermatid aşamasında ince uzun kuyrukları belirgin hale gelir ve baş kısmı fuziform bir hal alır. Lümeneye dökülmeden önce baş ve boyun kısımları iyice belirginleşir ve kuyruk hareketi başlar. Bununla birlikte, lümeneye geçen spermatozoa henüz oositi dölleme yeteneğine sahip değildir. Gerekli hareketin kazanılması ve hücrenin yapısının olgunlaşması için epididim içinde uzun bir yolculuk gerekir. Bu dönemde epididim epitelinde yer alan stereosilyalar spermatozoaların olgunlaşmasında fiziksel ve metabolik destek sağlarlar (Xia ve ark., 2005).

Mülazımoğlu ve ark., (2012)'nin ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada spermlerin üretiminin ilk defa doğum sonrası 45. günde görüldüğü ancak optimum üretimin 75. günden itibaren gerçekleştiği gösterilmiştir. Ancak bu dönem içinde spermatogonyalar lümen içinde yerleşik haldedir ve bazıları spermatogenezis sürecini geçirmeye başlar. Bahsedilen süreler ilk olgun sperm oluştuğu zaman olarak tanımlanabilir. Aynı şekilde ratlardaki puberteye girme yaşının kardeş sayısı, hormonlar ve beslenme gibi faktörlerden dolayı değişebildiği ve seksüel olgunluk dönemlerinin doğum sonrası 65.-110. günler arasında olduğu bildirilmiştir (Soylu,



2012). Üreme biyologları tarafından testis epitel yapısının ilk tarif edildiği 1950’li yıllardan günümüze dek spermatogonyalardan epitelyumu geçen spermlerin nasıl ürediği ve gelişimlerini nasıl tamamladıkları, ayrıca bu dönem içerisinde Sertoli hücreleriyle kurdukları bağlantılar değişik çalışmalarla açıklanmaya çalışılmıştır (Mruk ve Cheng, 2004; Xiao ve ark., 2011). Yapılan değişik çalışmalarda bu süreç morfolojik anlamda oldukça iyi anlaşılmış olmasına karşın moleküler düzeyde görülen değişikliklerle ilgili veriler her gün gelişmekte ve güncellenmektedir. Xiao ve ark., (2011)’nin yaptıkları bir çalışmada spermatogenezis sırasında gelişmekte olan germ hücrelerinin bazal kısımdan seminifer epitelin adluminal kompartmanına doğru göç ederek ilerlediği ve bu süreçte spermatogonyalar ve Sertoli hücreleri arasında hücre-hücre arayüzünün yeniden yapılandığını göstermişlerdir. Yaptığımız çalışmada da spermatogonyalardan spermatozoalara dönüşümde bu tarzda bazal membrandan lümene doğru bir ilerlemenin olduğu ve Sertoli hücreleri ile aralarında bağlantı komplekslerinde yapısal değişim olduğu gözlenmiştir.

Spermatogenezis sürecinde spermlerin olgunlaşması türler arasında farklılık gösterir ve gelişim süreçleri histolojik özelliklere göre evrelendirilir. Bu özel evrelendirmeler seminifer tübülün belirli bir bölgesinde oluşur ve bu da bir dizi döngüdür. Bu döngü her tür için özel olup rat ve maymunda 12 basamak, insanda ise 6 basamak şeklinde gerçekleşir. İşte bu döngü evrelerine etki eden faktörler ve karakteristik özellikler evreseldir. Ayrıca evre, yani süreçte gen ekspresyonu da evrensel bir çerçevede gerçekleşir (Silva ve ark., 2009). Ratlardaki evrelendirmeler incelendiğinde; 1. evrede tübüllerde spermatidlerin küçük perinükleer bir golgi alanı içermesine karşın akrozom oluşumu yoktur. 2. ve 3. evrede akrozom oluşumu gözlenmeye başlar. Başlık fazı ise evre 4 ve 5’te görülen özelliklerdendir. Evre 6-7’de akrozomik vezikül incelik ve granül yassılaştır. Evre 8’de son dönem spermatidler görülür ve bu dönem sonunda çekirdekler şekil değiştirmeye başlarlar. 9. ve 12. evreler arasında uzanmış halde tek nesil spermatidler görülür ve yan tarafında PAS+ akrozomun olduğu tespit edilir. Bu dönemin sonunda yani evre 10 ve 11’de Sertoli hücrelerinin sitoplazmik rezidüel yapıları fagosite ederek yok ettikleri görülür. Evre 10’da spermatid başı tam şekillenir ve pakiten fazdaki spermatosit çekirdek diplotene geçmeye bağlı olarak en geniş çapa ulaşır. Evre 11’de ise

spermatid çekirdeği incelik, uzar ve kondanse hale gelir. Hücre çekirdeği mayoz 1 diakineze girmiş haldedir. Son evrenin en belirgin özelliği ise mayotik sekonder spermatositlerin varlığıdır (Hess ve Franca, 2008).

Bizim çalışmamızda da 14 günlük ratların seminifer tübüllerinin incelenmesinde tübüllerin çaplarının oldukça dar, lümenlerin oluşmamış ve bazal kısımda yerleşik çok sayıda spermatogonya olduğu görülmüştür. Hatta normal histolojik incelemelerde tanımlanması zor olan Sertoli hücrelerinin lümen içinde soluk çekirdekleri ve saydam sitoplazmalarına rağmen çok belirgin bir şekilde ayırt edilebildiği gözlenmiştir. Herhangi bir spermatid oluşumu söz konusu olmadığı için spermatogenezin başlamamış olduğu kabul edildi. Diğer yandan Leydig hücrelerinin sayısının intertübüler alanda az sayıda olduğu ve bu dönem içerisinde Hess ve Franca'nın (2008) ve Xia ve ark. (2005)'in bulgularına göre evrelendirmelerin incelenmesi sonucunda hiçbir spermatogenetik aktivasyon olmadığı gözlemlendi.

Otuz günlük ratların testislerinin incelenmesinde ise seminifer tübül çaplarının 14 günlük rat testis tübüllerine göre anlamlı şekilde arttığı gözlemlendi. Seminifer tübüllerin histolojik incelemesinde spermatogonya sayısında artış ve B tipi spermatogonyaların belirginleştiği görüldü. Bununla birlikte, Sertoli hücrelerinin tübül içinde daha seçilemez hale geldiği ve sayılarının spermatogonyaların sayısına göre, 14 günlük rat testisleriyle karşılaştırıldığında, azaldığı gözlemlendi. Bu azalmanın daha önce bahsettiğimiz gibi artan spermatogonya sayısına bağlı olarak Sertoli hücre sayısının tübül içi toplam hücre sayısına oranındaki azalmayla ilişkili olduğu şeklinde yorumlandı. Lümenin incelenmesinde henüz birçok tübülde lümen şekillenmesinin olmadığı gözlemlendi. Bunun yanında bazı tübüllerin lümenine yaklaşık bölgelerinde oldukça az sayıda spermatidin mevcut olduğu gözlemlendi. 30 günlük ratların testislerinde intertübüler alanda yapılan değerlendirmede bu bölgedeki Leydig hücrelerinin sayısında artış ve bağ dokusunun daha büyük ve organize olduğu gözlemlendi. Evrelendirmelerin incelenmesinde ise bu dönemde testis içinde bazı tübüllerde spermatidlerin oluştuğu ve bu tübüllerin Hess ve Franca (2008) ve Yılmaz (2009) 'nın bulgularına göre evre 1-3 arasında değişmekte olduğu görüldü.

Altmış günlük ratların testislerinin histolojik incelenmesinde ise tübüllerin histolojik organizasyonlarını tamamladıkları, bazal membran üzerinde açık renkli sitoplazmalarıyla iri A tipi spermatogonyalar ve onların daha iç kesiminde kromatin ağı belirgin hiperkromatik çekirdekleriyle B tipi spermatogonyalar ve lümene yakın yerlerde çok sayıda yuvarlak ve fuziform spermatidler olduğu ve spermatidlerin kuyruklarının lümene doğru adeta at kuyruğu gibi sarkmış halde olduğu görüldü. Bununla birlikte bu yüksek evreli tübüllerin yanında düşük evreli tübüllerin de mevcut olduğu, buralarda spermatid sayısının daha az olduğu gözlemlendi. Sertoli hücrelerinin hemen hemen hiç seçilemediği ancak dikkatle bakıldığında hücre zarlarının uzantıları dikkat çekiyordu. Sertoli hücre sayısının tübül için tüm genel hücre popülasyonuna göre belirgin derecede azalmış olduğu görüldü. Tübüllerin çaplarının 30 günlük rat testis tübüllerine göre anlamlı şekilde arttığı tespit edildi. İntertübüler alanda Leydig hücreleri sayısı artmış ve bağ dokusu iyi yapılanmış durumdaydı. Çalışmamızın evrelendirmeleri incelendiğinde ise bu dönemde tüm tübüllerde spermatojenik aktivasyonun olduğu, her evreye ait çok sayıda tübül olduğu ve tübül içlerinin değişik evrelerde bulunan germ hücreleri ile dolu oldukları görüldü.

90 günlük olan ergin ratların testislerinin incelenmesinde ise tübül çaplarının 60 günlük rat testislerine göre anlamlı olmayacak şekilde arttığı, tübül içi ve dışındaki hücre dağılımı ve organizasyonunun 60 günlük ratların hemen hemen hepsinde tamamen aynı olduğu sadece evresi yüksek tübül sayısının biraz daha fazla olduğu görüldü. Diğer yandan intertübüler alandaki histolojik özelliklerinde ve evrelendirme değerlendirmesinde 60 günlük ratlar ile aynı olduğu belirlendi.

Testislerin yukarıda anlatılan histomorfolojik özellikleri genel ışık mikroskopik incelemelerde daha çok spermatogenezin değerlendirilmesinde kullanılırken, fonksiyonel anlamda, çok bilgi verici değildir. Bununla birlikte, moleküler düzeyde yapılan incelemelerde tübül içinin apayrı bir yapılanma gösterdiği ve tüm testisi oluşturan tübüllerin arasında bile farklılıklar olduğu tespit edilmiştir (Xia ve ark., 2005).

Bu yapılanmalar içinde belki de en önemli organizasyon tübül içinde yer alan Sertoli hücreleri ile spermatogonyalar arasında oluşturulan kan-testis bariyeridir. Bu bariyer oldukça antijenik karakterde olan spermatogonyaların kan ile irtibatını kesmek suretiyle immun sistem içinde spermatogonyalara karşı bir antikor oluşumunu ve diğer bir deyişle otoimmun cevabı engeller (Alberts ve ark., 2008; Su ve ark., 2012).

Kan-testis bariyerinin rutin histolojik örneklerde görülebilmesi mümkün değilken bu bariyeri oluşturan moleküler komponentlerin işaretlenmesi ile yapısı hakkında önemli bilgiler edinilmektedir. Bu amaçla kullanılan en yaygın işaretleme metodlarının başında immunohistokimyasal boyamalar gelmektedir. Yapılan ileri analizler ve elektron mikroskopik incelemeler sonrası kan-testis bariyerini oluşturan komponentlerin hücreler arasında bağlantı kompleksleri ve hücre yapışma molekülleri olduğu anlaşılmıştır. Bu yapılar hücreleri birbirine ve bazal membrana tutundurmak için bazolateral yüzlerde bulunur. Hücre yapışma (adezyon) molekülleri  $Ca^{2+}$  bağımlı moleküller olan kaderinler ve selektinlerin dahil olduğu proteinler,  $Ca^{2+}$  bağımsız moleküller olan immünglobulin süper ailesi ve integrinlerdir. İntegrinler temel olarak hücre-hücrelerarası matriks etkileşiminde önemlidir. Kaderinler ve integrinler hücre iskeleti ile diğer hücrede yer alan kaderinlerle ya da hücre dışı matriks (integrinler) ile bağlantı kurar. Hücreler arasındaki bağlantılar karşılıklı iki hücrede yerleşmiş simetrik yapılardır (Kierszenbaum, 2006; Su ve ark., 2012).

Tıkayıcı, tutundurucu ve oluklu bağlantılar olmak üzere 3 tip simetrik hücre bağlantı birimleri vardır

Kan-beyin bariyeri, kan-retina bariyeri gibi apikal bölgedeki kılcal endotel hücreleri arasındaki tight junction'lar tarafından oluşturulan kan-doku bariyerlerinin aksine, kan-testis bariyeri bazal membran yakınında bulunan seminifer epitelyumdaki Sertoli hücreleri tarafından oluşturulur (Morrow ve ark., 2009; Li ve ark., 2010). Tight junction hücreler arasındaki boşluklar aracılığıyla moleküllerin polaritesini tanımlayan bir sınır oluşturarak bir epitel ya da endotel bariyer teşkil eden tek örnektir (Xia ve ark., 2005). Tight junctionlarda Klaudin grubu moleküller

ve Occludin molekülleri bulunur ve bunlar immun işaretleme yöntemleriyle görülebilir duruma getirilir (Alberts ve ark., 2008).

Tight junctionların testislerde oluşturdukları bağlantılar sonucu oluşan kan-testis bariyerinin gelişiminde süreç içinde farklılıklar olduğu bilinmektedir. Kan testis bariyerinde süreç içerisinde farklılıklar olduğu ve çeşitli moleküllerin farklı fonksiyon gösterdikleri bilinmektedir. Bu moleküllerden Occludin spermatogenetik gelişim evrelerinden bağımsız olarak her dönemde farklı tübüllerde var olabilir (Mruk ve ark., 2011). Diğer yandan bir diğer önemli molekül olan Klaudin grubundan günümüze dek en çok üzerinde çalışılan Klaudin 11'dir (Morrow ve ark., 2010; Florin ve ark.,2005). Bununla birlikte çalışmamızda farklı olarak Klaudin 1 çalışılmış olup, bu proteinle ilgili daha önce kan-testis bariyerindeki önemi ile ilgili literatür bilgisi bulunamadı. Dolayısıyla çalışmamızın sonuçlarından bir tanesi olan testisteki klaudin 1 üretimi literatürdeki ilk bulgulardan biri olarak katkıda bulunacaktır. Diğer yandan hücre yapışma molekülleri içinde yer alan kaderinlerin spermatogonyal süreçteki etkileri de oldukça az çalışılan bir konu olup daha çok kateninle etkileşimi incelenmiştir. Çalışmamız bu nedenle kaderinlerin ekspresyonunun spermatogenetik süreçte incelendiği ilk çalışmalardandır.

Kan-testis bariyeri, memeli testisindeki seminifer tübülleri içinde bulunan sertoli hücrelerinin oluşturduğu, spermatogenesis esnasında oluşacak ve mayoz sonrası dönemdeki üreme hücrelerinin oluşumuna kadar değişen gelişim özellikleri içinde bu oluşan spermatogenik hücreleri toksik ve ilaç içeren çevresel zararlı maddelerden, ilaveten sistemik sirkülasyondaki bilinmeyen hormonlar ve biyomoleküllerden ayıran önemli yapılardır. Kan testis bariyerinin doğum sonrası hücre gelişim periyodu başlangıcıyla aynı zamana denk gelen post natal 15-21 sonrası günlerde oluşmaya başladığı gösterilmiştir. Ancak bu tam olarak fonksiyonel bir bariyer değildir ve fonksiyonel kan-testis bariyeri Sprague-Dawley cinsi ratlarda doğum sonrası 20. güne kadar kurulamamıştır (Mok ve ark., 2011). Çalışmamızda kan-testis bariyerindeki tight junctionlardaki klaudinler ve kaderinler immunohistokimyasal olarak boyanmak suretiyle işaretlenmiş olup 30, 60 ve 90 günlük rat gruplarımızdaki varlıkları ortaya konmuştur. Ancak 15 günlük ratlara ait

testislerde kan-testis bariyerinin yapılanmadığını tespit edilmiştir. Bu bakımdan kan-testis bariyeri oluşumunun intrauterin dönemde tamamlanan bir süreç olmadığı, doğum sonrası dönemde tam olarak şekillenmeye başladığını söyleyebiliriz.

Ratlardaki spermatogenesis esnasında, spermatogonyalar kan testis bariyeri dışında yerleşmiş olup orada prelepton/lepton spermatozoid içinde farklılaşmak zorunda olup, oluşan spermatozoid hücreleri 8. evrenin sonu ile 9. evrenin başında kan testis bariyerini geçip seminifer epitelinin komşu kompartmanının bazaline göç ederler. Pakiten evresine gelen spermatozoidler ve yuvarlak spermatid haline gelen germ hücreleri ratlardaki 14 aşamalı epitel döngüsü sırasında Sertoli hücrelerine bağlı kalmak zorundadır. Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar kan-testis bariyerini oluşturmakla birlikte anatomik olarak seminifer epitelyumu bazal kompartman ve komşu kompartman olarak bölmektedir (Mruk ve Cheng, 2004).

Özellikle memeli testislerinde kan-testis bariyerinde bugüne kadar farklı membran proteinleri bulunmuştur. Bunlar tight junction proteinleri (örneğin okludin, klaudin), bazal ektoplazmik bağlantı proteinleri (örneğin N-kaderin) ve gap junction proteinleri (örneğin konneksin 43)'dir (Alberts ve ark., 2008; Li ve ark., 2010). Örneğin klaudin 5 ile yapılan araştırmalar sonucu seminifer epitelyumda bu proteinin gözlendiği ve bu proteinlerin kan-testis bariyerinin işlevlerine katkıda bulunduğu ortaya konmuştur (Morrow ve ark., 2009). Çalışmamızda kullandığımız Klaudin 1'in 14 günlük ratlarda ekspresyon olmamasına karşın 30, 60 ve 90 günlük ratlarda ekspresyonlarının gösterilmesi yukarıda sayılan proteinler yanında Klaudin 1'inde kan-testis bariyerinin yapısında yer alan önemli bir protein olduğunu ortaya koymaktadır.

$Ca^{2+}$  bağımlı hücre yapışma glikoproteinlerinden olan kaderinler testislerin seminifer epitelyumlarında bulunur ve 'ankraj bağlantı proteinleri' olarak bilinirler. Bu bağlanma proteinleri ankraj bağlantı tip olan aderens bağlantı, fokal kontaklar ya da adezyonlar, desmozom ve hemidesmozomlara tutunurlar. Tip-1 klasik kaderinler en iyi testiste bulunur. Ayrıca kaderinlerin E-kaderin, N-kaderin ve P-kaderin türleri bulunmaktadır (Xia ve ark., 2005; Alberts ve ark., 2008). E-kaderin ve  $\alpha$ -kateninin

varikosele bağlı kısırlıkta değerlendirilmiştir (Ha ve ark., 2011). Çalışmamızda pan-kaderin kullanılmasının nedeni kaderinlerin bu kadar farklı tipte olabilmesindedir. Kullandığımız primer antikör yukarıda sayılan tüm kaderin içeriği moleküllere tutunabildiği için her ne kadar spesifik olmasa da tutundurucu bağlantıların yerini belirleme açısından bize önemli bulgular sağlamıştır. Bu molekülünde 14 günlük rat testislerinde eksprese olmadığı ama ileri dönemdeki gruplarda giderek artan bir şekilde eksprese olduğunu tespit edildi.

Tubulobulbar kompleksleri son dönemlerde varlığı ortaya konan ve seminifer tübül epitelinde hücreler arası bağlanma bölgelerinde sıkı bağlanmalar yaptığı belirlenen aktin ilişkili endositik yapılarıdır. Bu yapılar spermeleri lümene bırakma mekanizmasında etkin hücreler arası bağlantılardandır (Young ve ark., 2012).

Connexinler gap junction proteinlerini içerir ve connexin 43 proteini ile yapılmış olan bir çalışmada sıkı bağlantılar üzerinde bulunan bu protein kan-testis bariyerinin homeostazisini korumak için önemlidir (Li ve ark., 2010; Alberts ark., 2008). Ayrıca P-glikoproteini spermatogenez sırasında kan-testis bariyeri yapılanmasında yer alır. Bu p-glikoproteininin aracılık ettiği ilaçlar için kan-testis bariyeri kapalı olup bu özellik infertilite de önemlidir. Bu proteinler dışında olan filaminler aktin bağlayıcı proteinler olup, testiste şuana kadar rastlanamamıştır (Su ve ark., 2011). Çalışmamızda bu proteinlerin kullanılmama nedeni bu proteinlerin kan-testis bariyerine morfolojik anlamda değil fonksiyonel anlamda katkı sağlıyor olmasındandır.

## 6. SONUÇLAR

Elde edilen sonuçlar ratlarda spermatogenetik sürecin intrauterin hayatta başlamadığı ve hatta doğum sonrası 14. günde bile mevcut olmadığını göstermektedir. 30. günden kısa süre önce başladığını düşündüğümüz spermatogenetik sürecin yaşa bağımlı bir paralellik gösterdiği ortaya konmuş olup fonksiyonel anlamda testis yapılanmasının 60 günlük ratlarda mevcut olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte elde edilen bu yapılanma bulgularının ilerleyen günlerde fazla değişiklik göstermediği de belirlenmiştir.

Diğer yandan kan-testis bariyerininde incelendiği çalışmamızda kan-testis bariyerinin 14 günlük rat testislerinde henüz oluşmadığı, 30. günde yavaş yavaş belirginleşmeye başladığı ve 60. gün ile sonrası ratlarda yapılanmanın tamamlandığı tespit edilmiştir.

Elde edilen bulgular her ne kadar literatürde mevcut bulgularla örtüşse de çalışmamızda kullanılan Klaudin1 ve Pan kaderinin bu konu başlığı ile ilgili konularda oldukça az çalışılmış olması nedeniyle bu moleküllerle ilgili literatürde ilk dönemlerde yer alacak verilerden birisi olmasını çalışmamızın özgün yönünü oluşturmuştur.



## 7. ÖZET

### **Ratlarda Postnatal Dönemde Testis Dokusu İle Kan Testis Bariyerinin Gelişiminin Histomorfometrik ve İmmünohistokimyasal Değerlendirilmesi**

Erkek üreme sisteminin temel görevi sperm üretip, oluşturduğu bu spermeleri dişi vajinasına iletmeye yardımcı olmaktır. Bu işlemi yapabilmesi için 4 farklı tipte yapıya sahiptir. Bu yapılar testisler, yardımcı kanallar, yardımcı bezler ve penis'tir. Testisler, sperm ve primer erkek cinsiyet hormonu olan testosteronu üretirken; yardımcı kanallar, testislerdeki ya da yardımcı bezlerdeki salgıları depolayıp penis'e taşırlar. Çalışmamızın amacı erkek genital sisteminin temel öğelerinden biri olan testislerin histomorfolojik olarak doğum sonrası dönemdeki farklı gelişim zamanlarında incelenmesini sağlamak ve Sertoli hücrelerinin oluşturduğu kan-testis bariyerinin gelişimin hangi döneminde oluştuğunu saptamaktır.

Çalışmamızda postnatal dönemde bulunan 14., 30., 60. ve 90. günlerde Sprague-Dawley türü 24 erkek rat kullanıldı. Elde edilen testis kesitleri hemotoksilen-eozin ile kaderin ve kludin immun boyaları ile boyanarak kan-testis bariyerinin gelişimi ve histolojik yapılanması değerlendirildi. Ayrıca testislerin diğer bileşenleri olan spermatogonyumların, Sertoli hücrelerinin ve Leydig hücrelerinin gelişimi ile organizasyonu değerlendirildikten sonra gelişimsel süreçte seminifer tübüllerin histomorfolojik anlamda geçirmiş olduğu değişiklikler belirlendi.

Elde edilen sonuçlara göre ratlarda sperm üretim sürecinin intrauterin hayatta başlamadığı ve hatta doğum sonrası 14. günde bile mevcut olmadığı görülmüştür. 30. günden kısa süre önce başladığını düşündüğümüz spermatogenetik sürecin yaşa bağımlı bir paralellik gösterdiği ortaya konmuş olup, kludin ve pan kaderin primer antikoru sayesinde kan-testis bariyerinin varlığı ile birlikte fonksiyonel anlamda testis yapılanmasının 60 günlük ratlarda mevcut olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte elde edilen bu yapılanma bulgularının ilerleyen günlerde fazla değişiklik göstermediği de belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler :** İmmünohistokimya, Kan-testis bariyeri, Seminifer tübül çapları, Sertoli hücreleri, Spermatogenezis.

## 8. SUMMARY

### **Histomorphometric and immunohistochemical evaluation of the testes and blood-testis barrier in postnatal period in rats.**

The main function of male reproductive system is not only to produce sperms but also to transfer these sperms to female vagina. To carry out these functions, male reproductive system have four different type of structures. These structures are testes, accessories ducts, accessorius glands and penis. While testes produce sperm and testosterone which is the primary male sex hormone, accessories ducts store the secretions located in testes or accessorius glands and they transport these secretions to penis. The aim of our study is to examine the testes, one of the main part of male reproductive systems, histomorphologically at different developmental times after the post natal period and also to determine the period in which the development of blood-testis barrier formed by Sertoli cells was accomplished.

24 Sprague-Dawley types of male rats which are during the postnatal period in the 14th, 30th, 60th and 90 days were used in this study. The development and histological structure of blood-testis barrier were investigated by labeling the obtained testes sections using hematoxylin-eosin, cadherin and claudin dyes. Furthermore, after the examination of the development and organization of the other components of testis which are spermatogoniums, sertoli and Leydig cells, the changes were histomorphologically determined in the seminiferous tubeles at the developmental stages.

According to the obtained results on rats, the sperm production process do not start in utero life and even the sperm production do not take place at 14 th day after the birth. We thought that spermatogenetic process started less than 30 days ago and it depends on the age. By the help of claudin and pan cadherin primer anticor and the existence of blood-testis barrier enable us to detect the functional testis settlement in 60 days rats. Besides, the obtained settlement findings did not show significant difference in the upcoming days.

**Keywords :** Blood-testis barrier, Immunohistochemistry, Sertoli cells, Seminiferous tubules diameters, Spermatogenesis.

## 9. KAYNAKLAR

- ALBERTS B, JOHNSON A, LEWIS J, RAFF M, ROBERTS K, WALTER P, (2008). Hücrenin Moleküler Biyolojisi, 4.baskı, Sistem Ofset Basım Yayın San. Tic. Ltd. Şti., Ankara.
- ANTONY CT, GLENN BK and SKINNER MK, (1987). Effect of an extracellular matrix on the hormonal regulation Sertoli cell function, Cell Biology of the Testis and Epididymis, Ann of the NY Acad of Sciences: Volume 513, 413-414.
- APRIL EW, (1984)Pelvic Region In Anatomy, Harwal Publishing Company, Media, Pennsylvania.
- ARINCI K, ELHAN A, (2001). Anatomi, 3.Baskı 2. Cilt Güneş Kitapevi, Ankara.
- BERNE RM, LEVY MN, KOEPPEN BM, STANTON BA, (2008). Çeviri; Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, Fizyoloji, 5. Baskı, Güneş Tıp Kitabevi, Ankara.
- CARLOS JL, CARNEIRO J, KELLEY RO, (1993). Çev. Ed: AYTEKİN Y., SOLAKOĞLU S., Temel Histoloji, Barış Kitapevi, İstanbul.
- DREWS U, (1995) Male Organs In Color Atlas of Embryology, Thieme Medical Publishers Inc, New York.
- ERBENGİ T, (1990). Histoloji 2, 2. Baskı, Güneş Kitabevi.
- ERKOÇAK A, (1973). Özel Histoloji, Ajans-Türk Matbaacılık.
- EŞREFOĞLU M, (2009). Özel Histoloji, Medipres Matbaacılık.
- FLORIN A, MAIRE M, BOZEC A, HELLANI A, CHATER S, BARS R, CHUZEL F, BENAHMED M, (2005). Androgens and postmeiotic germ cells regulate claudin-11 expression in rat Sertoli cells. Endocrinology. 2005 Mar;146(3):1532-40. Epub 2004 Dec 9.
- GANONG WF, (1999). Çev.Ed: Türk Fizyolojik Bilimler Derneği, Tıbbi Fizyoloji, 19.baskı, Ankara.
- GÖVSA GÖKMEN F, (2003). Sistematik Anatomi, İzmir Güven Kitabevi, İzmir.
- GRIGOR KM and SKAKKEBAEK NE, (1993). Pathogenesis and cell biology of germ cell neoplasia: General discussion, Eur Urol, 1993; 23, 46-53.
- GUYTON AC, HALL JE, (2006). Çeviri Editörleri: ÇAVUŞOĞLU H., ÇAĞLAYAN YEĞEN B., Tıbbi Fizyoloji, 11.basım, Yüce yayımları A.Ş & Nobel Tıp Kitabevleri.
- HA HK, PARK HJ, PARK NC, (2011)Expression of E-cadherin and  $\alpha$ -catenin in a varicocele-induced infertility rat model. Asian J Androl. 2011 May;13(3):470-5.
- HESS RA, FRANCA LR, (2008). Spermatogenesis and Cycle of the Seminiferous Epithelium In: Molecular Mechanisms in Spermatogenesis (Ed: Cheng CY). Landes Bioscience and Springer Science+Business Medicine LLC, Texas USA. P:1-14.
- HOLE JW, (1993). Human anatomy & Physiology, Sixth edition, Wm. C. Brown Publishers.
- KALAYCI Ş, (1986). Histoloji, Uludağ Üniversitesi Basımevi.
- KARAÖZ E, (2002). Özel Histoloji, SDÜ Basımevi.
- KAYALI H, ŞATIROĞLU G ve TAŞYÜREKLİ M, (1992). İnsan Embriyolojisi, Yedinci Baskı, Alfa Basım Yayım Dağıtım.

- KIERSZENBAUM AL, (2006). Çeviri editörü: Prof. Dr. DEMİR R. Histoloji ve Hücre Biyolojisi (Patolojiye Giriş), 1.baskı, Palme Yayıncılık, Ankara.
- KURAN O, (1983). Sistematik Anatomi, Filiz Kitabevi.
- LI MW, MRUK DD, LEE WM, CHENG CY, (2010). Connexin 43 is critical to maintain the homeostasis of the blood–testis barrier via its effects on tight junction reassembly. Proc Natl Acad Sci USA. 19;107(42):17998-8003.
- MALI P, VIRTANEN I and PARVINEN M, (1987). Expression of Vimentin in rat Sertoli and spermatogenic cells, Cell Biology of the Testis and Epididymis, Ann of the NY Acad of Sciences, Volume 513, 294-295.
- MOK KW, MRUK DD, LEE WM, CHENG CY, (2011). A study to assess the assembly of a functional blood-testis barrier in developing rat testes. Spermatogenesis. Jul;1(3):270-280.
- MOORE KL, DALLEY II AF, (2007). Çeviri Ed: Şahinoğlu K., Kliniğe Yönelik Anatomi, 4.baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- MORROW CM, TYAGI G, SIMON L, CARNES K, MURPHY KM, COOKE PS, HOFMANN MC and HESS RA, (2009). Claudin 5 Expression in Mouse Seminiferous Epithelium Is Dependent upon the Transcription Factor Ets Variant 5 and Contributes to Blood-Testis Barrier Function. Biol Reprod Nov;81(5):871-9.
- MORROW CM, MRUK D, CHENG CY, HESS RA, (2010). Claudin and occludin expression and function in the seminiferous epithelium. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. May 27;365(1546):1679-96.
- MRUK DD, CHENG CY (2004) Sertoli-Sertoli and Sertoli-Germ Cell Interactions and Their Significance in Germ Cell Movement in the Seminiferous Epithelium during Spermatogenesis, Endocrine Reviews, Oct;25(5):747-806. New York.
- MRUK DD, SU L, CHENG CY, (2011).Emerging role for drug transporters at the blood-testis barrier. Trends Pharmacol Sci. Feb;32(2):99-106.
- MÜLAZIMOĞLU SB, İDE T, ASLAN S, Çeviri Ed: YÜCEL O, (2012) Küçük Deneysel Hayvanlarından Rat (Ratlarda Üreme) Matris Tanıtım Baskı Hizmetleri, Ankara
- NETTER FH, (2010). Çeviri Ed: CUMHUR M., İnsan Anatomisi Atlası, 5. baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- NOYAN A, (1993). Üreme Fizyolojisi, Fizyoloji, Sekizinci Baskı, Meteksan Anonim Şirketi.
- ODAR İV, (1986). Anatomi (İç organlar, hazım, solunum, urogenital, sirkülasyon sistemleri ve iç salgı bezleri), Hacettepe-Taş Kitapçılık.
- OLSON GE and WINFREY V, (1991). Structure-function relationships in the sperm acrosome, Ann of the NY Acad of Sciences, Volume 637, 240-257.
- ÖZDEN M, (2003). Anatomi ve Fizyoloji, Ankara.
- PAKER Ş, (1993). Histoloji, Uludağ Üniversitesi Basımevi.
- PETORAK İ, (1986). Medikal Embriyoloji, Beta Basım.
- ROSS MH and REITH EJ, (1985). Histology A Text and Atlas, Harper International Edition.
- SADLER TW, (1995). Çeviri Editörü; Başaklar AC., Medikal embriyoloji, Palme yayıncılık.
- SANCAK B ve CUMHUR M, (2008). Foksiyonel Anatomi (Baş-Boyun ve İç Organlar), 4.baskı, Odtü Yayıncılık, Ankara.

- SILVA C, WOOD JR, SALVADOR L, ZHANG Z, KOSTETSKII I., WILLIAMS CJ, STRAUSS JF, (2009). 3rd., Expression profile of male germ cell associated genes in mouse embryonic stem cell cultures treated with all trans retinoic acid and testosterone. *Mol Reprod Dev.* Jan;76(1):11-21.
- SNELL RS, (2004). Çeviri editörü: Yıldırım M., *Tıp Öğrencileri İçin Klinik Anatomi*, 6. Edisyon, Nobel-Tıp Kitapevleri.
- SOYLU SM, Çeviri Ed: YÜCEL O, (2012) *Küçük Deneysel Hayvanlarından Rat (Rat Fizyolojisi) Matris Tanıtım Baskı Hizmetleri*, Ankara.
- STOREY BT, (1991). Sperm capacitation and the acrosome reaction, *Annals of the New York Academy of Sciences*, Volume 637, 459-473.
- SU L, MRUKA DD, LUI WY, LEE WM, and CHENG CY, (2011). P-glycoprotein regulates blood-testis barrier Dynamics via its effects on the occludin/zonula occludens 1 (ZO-1) protein complex mediated by focal adhesion kinase (FAK). Edited by Ryuzo Yanagimachi, University of Hawaii, Honolulu, HI, and approved October 25, 2011 (received for review July 13, 2011).
- SU W, MRUK DD, CHENG CY, (2012). Filamin A, A regulator of blood-testis barrier assembly during post-natal development. *Spermatogenesis* 2:2, 73-78; © 2012 Landes Bioscience.
- ŞEFTALİOĞLU A, (1998). *Genel & Özel İnsan Embriyolojisi*, 3.baskı, Tıp&Teknik Yayıncılık, Ankara.
- TEKELİOĞLU M, (1995). *İnsan Üremesi ve Gelişmesi*, DuMat Ofset Matbaacılık.
- TOSUN M, (1998). *İnsan Gonadlarının İntrauterin Gelişiminin Histolojik Değerlendirilmesi*, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji Embriyoloji (TIP) Anabilim Dalı, Doktora Tezi-Konya.
- TSAI-MORRIS CH, KONX GF and DUFAU ML, (1987). Acquisition of hormone-mediated mechanisms regulating testicular steroidogenesis during development, *Cell Biology of the Testis and Epididymis*, Ann of the NY Acad of Sciences, Volume 513, 40-57.
- WEISS L, (1977). *Histoloji*, Ed.by Blandau RJ, Mc Grow-hill Book Company.
- WILLIAMS PL, BANNISTER LH, BERRY MM, COLLINS P, DYSON M, DUSSEK JE et al. (1989), *Grays Anatomy*, 37th edition, Edinburgh: Churchill Livingstone, Wiley.
- XIA W, MRUK DD, LEE WM, CHENG CY, (2005). Cytokines and junction restructuring during spermatogenesis-a lesson to learn from the testis. *Cytokine Growth Factor Rev.* Aug-Oct;16(4-5):469-493.
- XIAO X, MRUK DD, CHENG CY, (2013) c-Yes regulates cell adhesion at the apical ectoplasmic specialization-blood-testis barrier axis via its effects on protein recruitment and distribution, *Am J Physiol Endocrinol Metab*; Mar 1; 304(2):E145-59. New York.
- XIAO X, MRUK DD, LEE WM, CHENG CY, (2011) c-Yes regulates cell adhesion at the blood-testis barrier and the apical ectoplasmic specialization in the seminiferous epithelium of rat testes, *Int J Biochem Cell Biol.* Apr;43(4):651-65. New York.
- YILMAZ A, (2009) *Spermatogonial Kök Hücreleri ve Transplantasyonu (Spermatogonial stem cells and transplantation)*. Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg. 46 (2): 145-154.
- YOUNG JN S, ASIS M, GUTTMAN J and VOGL AW, (2012). Cortactin depletion results in short tubulobulbar complexes and spermiation failure in rat testes) . *Biology Open* 1, 1069–1077.