

Vimentin, Sitokeratin, -SMA ve Desmin'in Yeni Zellanda Tav anı Testis ve Epididimisindeki mmunohistokimyasal Ekspresyonu*

Feyzullah BEYAZ, Güner KÜÇÜK BAYRAM, Emel ALAN
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji Embriyoloji ABD, Kayseri-TÜRK YE

Özet: Çalı ma vimentin, sitokeratin, desmin ve -SMA (alfa smooth actin) gibi hücre iskeletinin yapısına giren bazı proteinlerin tav an testis ve epididimislerindeki immunohistokimyasal lokalizasyonlarını ortaya koymak amacıyla planlandı. Ara tırmada 15 adet sağlıklı eri kin erkek Yeni Zellanda tav anından alınan testis ve epididimisler kullanıldı. mmunohistokimyasal boyamalar için Strept-ABC boyama metodu uygulandı. Vimentin immunoreaktivitesi, seminifer tubüllerdeki Sertoli hücrelerinin perinükleer sitoplazmalarında, intertübüler alanlarda Leydig hücrelerinde, tubülus rektus ve rete testis epitelleri ile kan damarı endotellerinde belirlendi. Sitokeratin immunoreaktivitesi testiste belirlenmezken, epididimiste duktuli eferentis ve duktus epididimis epitellerinde gözlemlendi. -SMA immunoreaktivitesi, seminifer tubüllerdeki peritübüler myoid hücrelerde, rete testis, duktuli eferentis ve duktus epididimis epiteli altında uzanan myofibroblastlar ile damar duvarı ve tunika albugineaada bulunan düz kas hücrelerinde belirlendi. Desmin için yapılan boyamalarda, desmin immunoreaktivitesinin -SMA'ninkine benzerlik gösterdiği dikkati çekti. Sonuç olarak, Sertoli hücreleri ile tubülus rektus ve rete testis epitel hücrelerinin vimentin intermediyer filamanlarını içermesi, tav an testislerinde bu yapıların mezen imal kökenli olduğunu belirtir. Ayrıca, -SMA ve desminin aynı hücrelerde bulunması, spermatozoanların ve testiküler sıvının rete testis ve epididimise doğru ta nması ve duktus epididimis boyunca spermin geçi inde bu iki proteinin birlikte görev yaptığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Desmin, sitokeratin, -SMA, testis, vimentin

The Immunohistochemical Expression of Vimentin, Cytokeratin, -SMA and Desmin in New Zeland Rabbit Testis and Epididymis

Summary: This study was planned to determine the immunohistological localization of certain proteins that constitute the cytoskeleton such as vimentin, cytokeatin, -SMA and desmin in rabbit testis and epididymis. The testis and epididymis patterns taken from fifteen healthy, adult, male New Zeland rabbits formed the material of our study. For the determination of the localization of the vimentin, cytokeatin, -SMA and desmin, a strept-ABC immunohistochemical staining procedure was applied. The vimentin immunoreactivity was determined in perinuclear cytoplasm of Sertoli cells, epithelium of tubuli recti and rete testis, and endothelium of blood vessels. The cytokeatin immunoreactivity was defined in the epithelium of ductuli efferentes and ductus epididymis, but not in testis. -SMA immunostaining was found in peritubular cells of the seminiferous epithelium, the myofibroblasts underlied the epithelium of rete testis, ductuli efferentes and ductus epididymis, and the smooth cells in wall of vessels and tunica albuginea. In the staining for desmin, the desmin immunoreactivity was similar to that of -SMA. In conclusion, the vimentin is found in the Sertoli cells and epithelium of tubulus rectus or rete testis suggest that those structures are derived from mesoderm. Futhermore, the -SMA and desmin are present identical cellular structures exhibit that those proteins together serve to move the spermatozoa and testicular fluid towards rete testis and epididymis.

Key Words: Cytokeratin, desmin, -SMA, testis, vimentin

Giri

Hücre iskeleti (sitoskeleton), mikrofilamanlar (aktinler, 6-7 nm), intermediyer filamanlar (sitokeratinler, vimentin, desmin, 8-10 nm) ve mikrotübüluslardan (tübülünler, 25 nm) olu an protein tabiatında aktif sitosolik bir olu umdur (16). Sitoskeletonu olu turan bu proteinlerin hücre yapısı ve fonksiyoları üzerindeki görevleri; hücreye ekil verme, kutuplama, organellerin konumlandırılması, sitoplazmik uzantıların desteklenmesi ve organellerin hücre membranına bağlanması olarak açıklanmaktadır (17).

Aktin kalp kası aktini, iskelet kası aktini, düz kas aktini ve yapısal F-aktin olmak üzere 4 izoforma sahiptir (31, 44). ntermediyer filamanlar, hücrenin kökenine bağlı olarak farklı hücrelerde yerle im gösteren yapılardır (16, 17). ntermediyer filamanlar sitokeratinler (epitel hücreleri), vimentin (mezen imal hücreler), desmin (kas hücreleri), nörofilamentler (sinir hücreleri) ve gliyal fibriler asidik proteinler (gliya hücreleri) olmak üzere be alt gruba ayrılmaktadır (19). Mikrotübüluslar ise içi bo borucuklar olup, ve tubülün olmak üzere iki alt üniteden olu maktadır (16, 17).

Testiste Sertoli hücreleri, germ hücrelerini destekleyerek seminifer tubüllerin yapısına katılmaktadır (7, 13, 26, 27, 40). Sertoli hücreleri, bu fonksiyonu gerçekle tirebilmek için iyi geli mi bir hücre iskeletine sahiptirler (12, 22). Puberti döneminde,

Geli Tarihi/Submission Date : 16.11.2009

Kabul Tarihi/Accepted Date : 14.01.2010

* Bu ara tırma EÜBAP- VA-07-07 nolu proje ile Erciyes Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Birimi tarafından desteklenmiştir.

Sertoli hücreleri hücre iskeletinde de i ikliklere neden olan bir dönü üm geçirirler (13). Hücre iskeleti üzerindeki bu de i iklikler özellikle FSH hormonunun etkisi altında olmaktadır (35). Sertoli hücrelerinde dominant intermediyer filaman, özellikle çekirdek etrafında lokalize olan ve hücreye yapısal bir destek sa layan vimentindir (4, 6, 12). Sitokeratinler, fetal ve pubertiden önceki dönemlerde Sertoli hücrelerinde vimentinle birlikte bulunurken puberti ile birlikte ortadan kalkarlar (5, 8, 20, 28, 34). -SMA düz kas hücrelerinin farklı -ma durumlarını ortaya koyan spesifik bir belirleyicidir (3, 9). -SMA ekspresyonu seminifer tubülleri çevreleyen myoid hücrelerde ve rete testis, duktuli eferentis ve duktus epididimis epitelleri altında uzanan myofibroblastlarda bulunmaktadır (9, 10, 18, 23, 36). Myoid hücreler tubüllerin peristaltik hareketinden sorumlu kontraktıl elementlerdir ve spermatazoonlar ile testiküler sıvının rete testis ve epididimise ta nmasında rol oynarlar (24, 25, 36). Desmin, hem çizgili hem de düz kaslarda bulunan bir intermediyer filaman olup testis ve epididimiste -SMA ile aynı hücrel fonksiyonlara sahiptir (3, 34, 41).

Hücre iskeletinin yapısına giren proteinlerinin varlığı ve da ılımıyla ilgili olarak insan (3, 4, 7, 8, 11, 28, 30, 32), sıçan (6, 22, 31, 35, 40, 41, 45) bo a (9, 10, 38, 44), koç (37, 38), köpek (43), maymun (36), domuz (41), ayı (21), lama (33) ve kanatlı (1, 18, 25) testis ve epididimisleriyle yapılmı çok sayıda ara tırma bulunmaktadır. Bununla birlikte, yapılan literatür taramalarında tav anların testis ve epididimislerinde sitoskelatal proteinlerin varlığı ve lokalizasyonlarıyla ilgili herhangi bir ara tırmaya rastlanılmamı tır. Çalı ma, tav an testis ve epididimislerinde vimentin, sitokeratin, -SMA ve desminin varlığı ve lokalizasyonunu immunohistokimyasal yöntemle belirlemek amacıyla planlanmı tır.

Gereç ve Yöntem

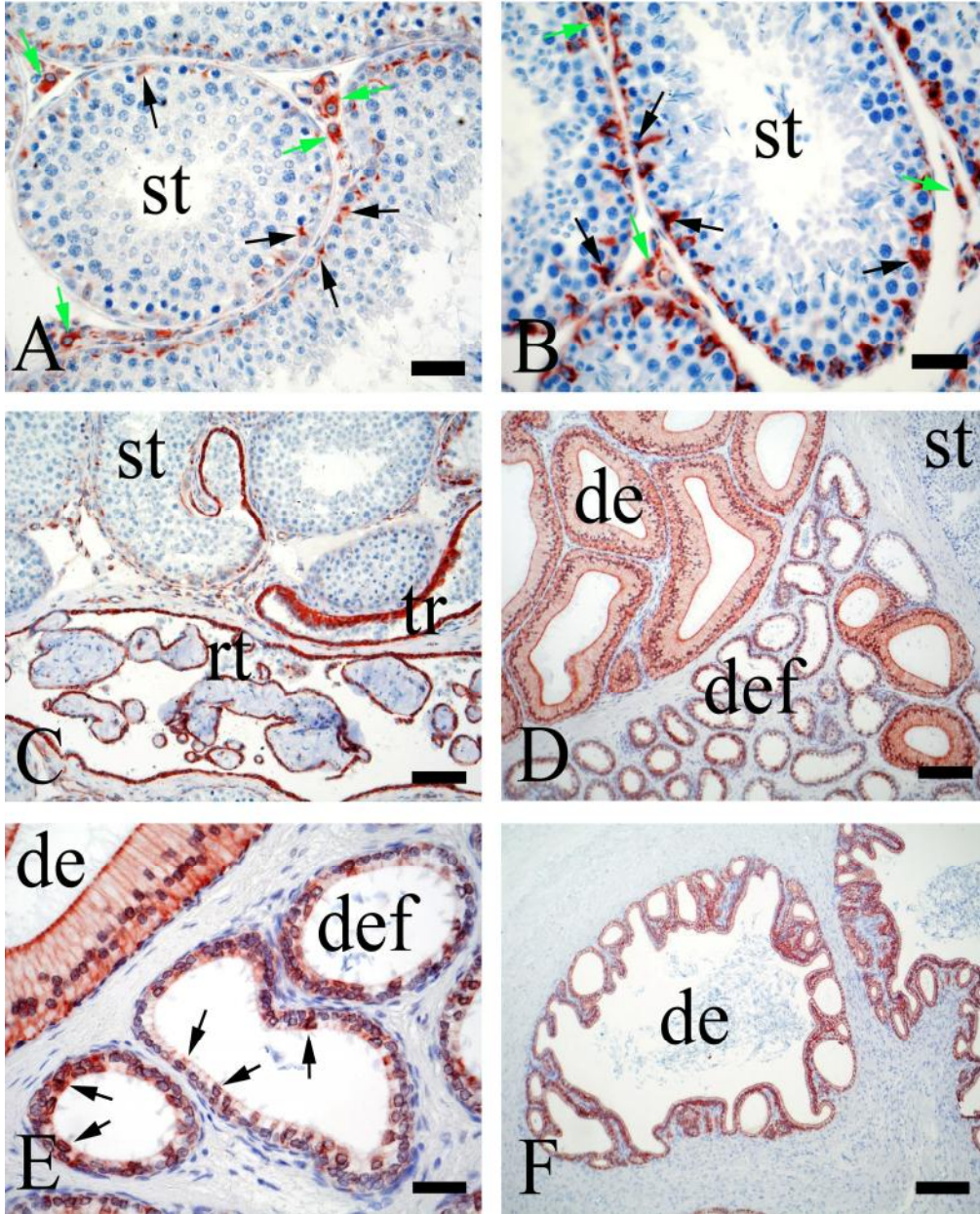
Çalı manın materyalini, 15 adet sa lıklı, erkek, Yeni Zellanda tav anından temin edilen 30 adet testis ve epididimisler olu turdu. Kas içi sodyum pentobarbital uygulaması ile ötanazi edilen tav anların testisleri çıkarılarak, epididimisin tam ortasından geçecek ekilde uzunlamasına bir ensizyonla iki e it parçaya ayrıldı. Bouine tespit solüsyonuyla 12 saat süreyle tespitten sonra dokular sırasıyla dereceli alkoller, metil benzoat ve benzol serilerinden geçirilerek parafinde bloklandı. Parafin bloklardan Poly-Lysinli lamalara 5 µm kalınlı ında alınan kesitlere, vimentin, sitokeratin, -SMA ve desminin testis ve epididimisteki lokalizasyonunun belirlen-

mesi amacıyla strept-ABC immunohistokimyasal boyama yöntemi uygulandı. Kesitler, endojen peroksidazın inaktivasyonu amacıyla metanolde hazırlanan %3'lük hidrojen peroksitte 20 dakika süreyle tutuldu. Ardından, vimentin (sitrat buffer) ve sitokeratin (tripsin) antikoları için antijen retrieval i lemi yapılırken, -SMA ve desmin primer antikoları için herhangi bir i lem uygulanmadı. Daha sonra, kesitler non-spesifik ba lanmaları engellemek için %10'luk keçi serumu (Labvision, Ultravision kit, TM-125-HL) ile 5 dakika süreyle muamele edildi. Bu i lemden sonra, kesitler monoklonal mouse anti-vimentin (1:200, Novacastra, Kat No; NCL-L-VIM-V-9, Klon; V9), monoklonal mouse anti-sitokeratin 8/18 (1:100, Novacastra, Kat No; NCL-L-5D3, Klon; 5D3), monoklonal mouse anti-sitokeratin 5/6/18 (1:100, Novacastra, Kat No; NCL-L- LP34, Klon; LP34), monoklonal mouse anti- -SMA (1:800, Thermo Scientific, Kat No; MS 113, Klon; 1A4) ve monoklonal mouse anti-desmin (1:100, Thermo Scientific, Kat No; MS 376, Klon; D33) primer antikolarıyla 1 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Ardından, kesitlere 20 dakika süreyle biotinli anti-mouse sekonder antikor (Labvision, Ultravision kit, TM-125-HL) ve 20 dakika süreyle de avidin-peroksidaz solüsyonları (Labvision, Ultravision kit, TM-125-HL) uygulandı. Bu i lemin ardından, kesitlere antijen-antikor reaksiyonun görüntülenebilmesi için 5-10 dakika süreyle 3-amino 9-etil karbozol (AEC) kromojeni (Labvision), ardından zemin boyaması için 2-3 dakika süreyle Gill'in hematoksileni tatbik edildi. Tüm boyama i lemleri oda ısısında bir nem kamarası (Shandon, UK) içerisinde gerçekleştirilirken, yıkamalar PBS (Phosphate buffer saline, 0.01 M, pH;7.4) ile yapıldı. Pozitif kontrol olarak, tav anların deri ve ba ırsak kesitleri kullanıldı. Negatif kontrol için primer antikoların yerine non-spesifik immun serum damlatılarak geriye kalan boyama i lemlerine normal boyamalarda oldu u gibi devam edildi.

Bu çalı ma, ERÜ Veteriner Fakültesinin 10.04.2007 tarihli 13 toplantı sayılı ve 21 karar nolu Etik Kurulu kararıyla gerçekleştirildi.

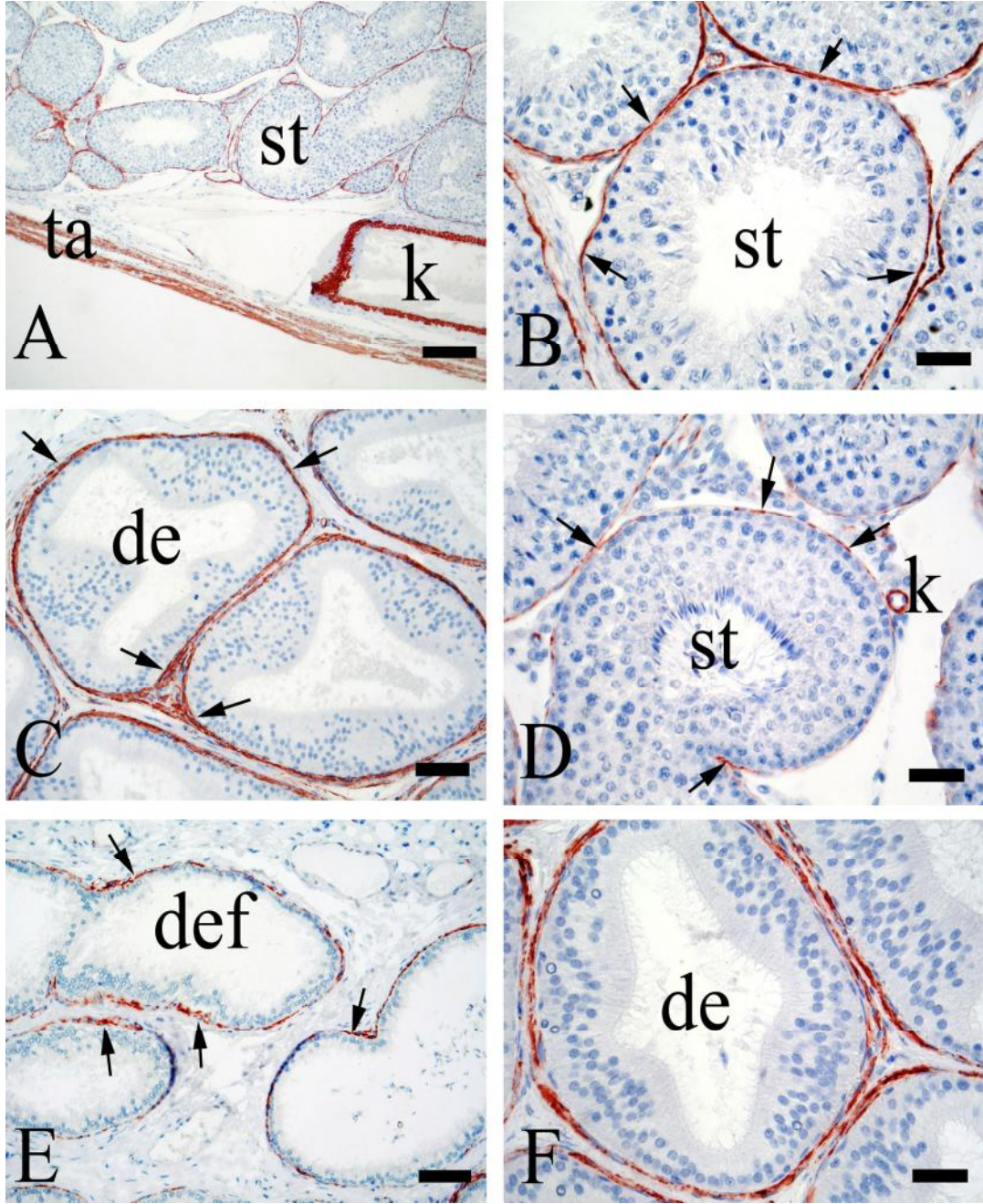
Bulgular

mmunohistokimyasal boyamalarda, safha 1-5'deki seminifer tubüllerdeki Sertoli hücrelerinin sadece perinüklear sitoplazmasında (ekil 1A), safha 6-8'deki seminifer tubüllerdeki Sertoli hücrelerin ise perinüklear sitoplazmasından apikal sitoplazmasına do ru uzanan (ekil 1B) vimentin immunreaktivitesi oldu u dikkati çekti. Ayrıca, intertübüler alanlarda Leydig hücreleri (ekil 1A ve



ekil 1. Tav an testis ve epididimisinde vimentin ve sitokeratinin immunohistokimyasal lokalizasyonu, immunperoksidaz, AEC.

- A) Safha 1'deki seminifer tubüllerde (st) Sertoli hücrelerinin perinükleer sitoplazmasında vimentin pozitif immunboyanma (siyah oklar) ve intersitisyel dokuda vimentin pozitif Leydig hücreleri (ye il oklar), bar; 25 μ m.
- B) Safha 6'daki seminifer tubüllerde (st) Sertoli hücrelerinin perinükleer ve apikal sitoplazmasında vimentin pozitif immunboyanma (siyah oklar) ve intersitisyel dokuda vimentin pozitif Leydig hücreleri (ye il oklar), bar; 25 μ m.
- C) Tubülüs rektus (tr) ve rete testis (rt) epitellerinde vimentin pozitif immunboyanma, st; seminifer tubüller, bar; 50 μ m.
- D) Duktuli eferentis (def) ve duktus epididimis (de) epitellerinde sitokeratin pozitif boyanma, st; negatif boyanan seminifer tubüller, bar; 100 μ m.
- E) Duktuli eferentis (def) epitelinde sitokeratin pozitif silyumlu hücreler (oklar) ve duktus epididimis (de) epitellerinde özellikle hücrelerin apikal ve bazal sitoplazmasında sitokeratin pozitif boyanma, st; negatif boyanan seminifer tubüller, bar; 25 μ m.
- F) Kaput epididimisinde duktus epididimisin (de) epitelinde sitokeratin pozitif immunboyanma, bar; 100 μ m.



ekil 2. Tav an testis ve epididimisinde α -SMA ve desminin immunohistokimyasal lokalizasyonu, immunperoksidaz, AEC.

- A) Testiste seminifer tubüllerde (st) peritubüler myoid hücrelerde, kan damarı (k) duvarında düz kas hücrelerinde ve tunika albugineyada (ta) düz kas hücrelerinde α -SMA pozitif immunreaksiyon, bar; 100 μ m.
- B) Testiste seminifer tubüllerde (st) peritubüler myoid hücrelerde (oklar) α -SMA pozitif immunreaksiyon, bar; 100 μ m.
- C) Duktus epididimis (de) epiteli altında uzanan α -SMA pozitif myoid hücreler (oklar), bar; 50 μ m.
- D) Testiste seminifer tubüllerde (st) peritubüler myoid hücrelerde (oklar) ve kan damarlarında (k) desmin pozitif immunreaksiyon, bar; 25 μ m.
- E) Duktuli eferentis (def) epiteli altında uzanan desmin pozitif myoid hücreler, bar; 50 μ m.
- F) Duktus epididimis (de) epiteli altında uzanan desmin pozitif myoid hücreler (oklar), bar; 25 μ m.

B) ve damar endotelileri ile tubulus rektus ve rete testis epitellerinde (ekil 1C) de vimentin pozitif immunreaksiyon belirlendi. Bununla birlikte, duktuli eferentis ve duktus epididimis epitellerinde boyanma tespit edilmedi.

ki farklı sitokeratin primer antikoru (sit. 8/18 ve sit. 5/6/18) için yapılan boyamalarda, testiste Sertoli hücreleri, Leydig hücreleri ve peritubüler myoid hücrelerinde negatif immunreaksiyon gözlemlendi. Epididimiste duktuli eferentis ve duktus epididimis epitellerinde sadece sitokeratin 8/18 için pozitif immunreaksiyon belirlendi (ekil 1D ve E). Duktuli eferentis epitellerindeki silyumlu hücrelerin sitoplazmasında, duktus epididimis epitelindeki prensipal hücrelerin ise özellikle apikal ve bazal sitoplazmalarında kuvvetli immunreaksiyon görüldü (ekil 1E). Kaput, korpus ve kauda epididimis (ekil 1F) boyunca duktus epididimis epitellerinde sitokeratin 8/18 için pozitif immunreaksiyon olduğu dikkati çekti.

-SMA primer antikoru için yapılan immunboyamalarda, testiste seminifer tubülleri çevreleyen peritubüler myoid hücrelerin sitoplazmasında pozitif immunreaksiyon belirlendi (ekil 2A). Bununla birlikte, tunika albuginea içerisindeki ve kan damarlarının duvarındaki düz kas hücrelerinin de pozitif boyandı dikkati çekti (ekil 2A). Rete testis ve duktuli eferentis epitelleri altında uzanan myoid hücre katmanının immunpozitif boyandı görüldü. Ayrıca, kaput, korpus ve kauda epididimis boyunca duktus epididimis epitelinin altında uzanan myofibroblastlarda da kuvvetli pozitif immunreaksiyon tespit edildi (ekil 2B ve C).

Desmin primer antikoru için yapılan immunboyamalarda, -SMA için yapılan boyamalara benzer sonuçlar elde edildi. Testiste, seminifer tubüllerdeki peritubüler myoid hücrelerde ve kan damarlarında (ekil 2D), ayrıca rete testis, duktuli eferentis (ekil 2E) ve duktus epididimis (ekil 2F) epitelleri altında uzanan myofibroblastlarda da pozitif immunboyanma gözlemlendi.

Tartışma ve Sonuç

Erikin testislerindeki Sertoli hücrelerinde baskın intermediyer filaman özellikle perinükleer sitoplazmada yerleşim gösteren vimentindir (4, 6, 12). Bununla birlikte, germ hücrelerinin farklı gelişim aşamalarında bulunma durumuna göre, vimentin filamanlarının Sertoli hücrelerinin perinükleer sitoplazmasıyla birlikte apikal veya bazal sitoplazmalarında da yerleşim gösterdiği belirlenmiştir (21, 27, 45). Sıçan testislerinde seminifer tubüllerdeki farklı gelişim safhalarında Sertoli hücrelerinde vimentin

ekspresyonuyla ilgili de değişiklikler olabileceği gösterilmiştir (22). Vimentinin, spermatogenez sırasında Sertoli hücrelerinin sitoplazmasında meydana gelen morfolojik değişikliklere uyum sağlamasına katkı sağladığı düşünülmektedir (4, 5, 8, 12, 20, 22). Tav an seminifer tubüllerinde, spermatid ve spermatozoanların durumları dikkate alınarak 8 farklı spermatojenik safha tespit edilmiştir (39). Yapılan çalışmada safha 1-5'deki seminifer tubüllerdeki Sertoli hücrelerinin sadece perinükleer sitoplazmasında, safha 6-8'deki seminifer tubüllerdeki Sertoli hücrelerinde ise perinükleer sitoplazmadan apikal sitoplazmaya doğru bir vimentin immunreaktivitesi belirlenmiştir. Sertoli hücreleri sitoplazmasındaki bu farklılık, seminer tubüllerin farklı gelişim aşamadaki germ hücrelerini içermesinden ve özellikle de safha 5'ten itibaren spermatozonlara dönüşümün başlamasından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte yapılan bazı çalışmalarda (9-11, 29, 32, 43), vimentinin Leydig hücrelerinde, tubulus rektus ve rete testis epitelleriyle kan damarı endotelilerinde pozitif boyandı gözlemlenmiştir. Sunulan çalışmada ara tırmacıların bulgularıyla uyumlu kuvvetli vimentin immunreaktivitesi belirlenmiştir. Bununla birlikte bazı ara tırmacıların (6, 20, 43) bulgularının aksine, duktus epididimis epitellerinde vimentin için herhangi bir immunreaksiyon belirlenmemiştir. Sunulan çalışmada, Sertoli hücrelerinde, Leydig hücrelerinde, tubulus rektus ve rete testis epitellerinde ve damar endotelilerinde vimentin pozitif immunboyanmanın tespit edilmesi, tav an testislerinde bu yapıların mezoderm kökenli olduğunu göstermiştir. Vimentin ve aktin gibi sitoskeletal proteinlerin adrenal bezi hücrelerinde steroidogenezde rol oynadığı belirlenmiştir (14,15). Benzer durum için testislerindeki Leydig hücrelerinde de tespit edilmiştir (2). Sunulan çalışmada, tav an testis Leydig hücrelerinde belirlenen vimentinin hücre iskeletinin yapısına katıldığında steroidogenezde de rol oynayabileceği düşünülebilir.

Sitokeratinlerin, fötüs ve yeni doğan testislerindeki Sertoli hücrelerinin sitoplazmalarında vimentinle birlikte yerleşim gösterdikleri ortaya konulmuştur (13, 20). Ancak, pubertéyle birlikte sitokeratinlerin ortadan kaybolduğu ve sadece vimentinin hücre iskeletinin yapısına katıldığı bildirilmiştir (4, 6, 12). Bununla birlikte, yaşı insanların testislerinde germ hücrelerini içermeyen atrofik seminifer tubüllerde ise Sertoli hücrelerinin yeniden sitokeratinleri içerebildikleri gösterilmiştir (8). Özellikle, sitokeratin 18'in pre-Sertoli hücrelerinde bulunduğu ve erişkin Sertoli hücrelerinde ise bulunmadığı yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur. Sitokeratin 18 testislerde Sertoli hücrelerinin olgunlaşma durumunu

gösteren bir hücre farklılaşma belirleyicisi olarak kullanılmaktadır (13, 26, 27). Yapılan çalışmada içerisinde sitokeratin 18 içeren iki farklı anti-sitokeratin primer antikoru kullanılmıştır. Bununla birlikte, yapılan boyamalarda Sertoli hücrelerinde bu antikora karşı negatif reaksiyon görülmüştür. Bu bulgu, çalışmada kullanılan tav anların testislerindeki Sertoli hücrelerinin gelişimlerini tamamladıklarını göstermektedir. İnsan ve bazı hayvanların rete testis, duktuli eferentis ve duktus epididimis epitel hücrelerinin sitokeratin intermediyer filamanlarını içerdikleri bildirilmiştir (1, 7, 11, 20, 30, 32, 43). Sunulan çalışmada, bu ara tırmacıların bulgularının aksine rete testis epitelinde sitokeratin immunoreaktivitesine rastlanılmamış, duktuli eferentis ve duktus epididimis epitelinde ise pozitif immunreaksiyon belirlenmiştir. Duktuli eferentislerde özellikle silyumlu hücrelerde pozitif immunboyanma dikkati çekerken, duktus epididimis epitelinde prensipal hücrelerin özellikle apikal ve bazal sitoplazmalarında yoğun immunreaksiyon görülmüştür. Bu durumun, çalışmada kullanılan sitokeratinlere (sit. 8/18 ve sit. 5/6/18) özgü oldu ğu farklı sitokeratinlerin kullanılmasıyla daha fazla sonuçların ortaya çıkabileceğini göstermektedir.

-SMA, genellikle testislerdeki peritübüler myoid hücreleri gibi kontraktıl fonksiyonlara sahip hücrelerde bulunmaktadır (3). -SMA, son düz kas hücre farklılaşma masının spesifik bir belirleyicisi olarak bilinir (9). Bu nedenle, -SMA'nın sadece testiste farklılaşma masını tamamlamış düz kas hücrelerinde bulunması beklenir. Çalışmada, insan ve di ğer hayvan türlerinde oldu ğu gibi (3, 9, 18, 23, 24, 33) tav an testisinde de seminifer tubülleri çevreleyen myoid hücrelerde kuvvetli -SMA pozitif immunreaktivite belirlendi. Ayrıca, rete testis, duktuli eferentis ve duktus epididimis epitelinde uzanan peritübüler kas katmanını ile damar duvarı ve tunika albuginedaki düz kas hücrelerinde -SMA pozitif immunreaktivite gözlemlendi. Bulgularımıza benzer olarak bazı ara tırmacılar sıçan (24, 31), maymun (36), koç (37, 38), bo a (9, 10, 38), kanatlı (25) ve insan (30) testis ve epididimislerinde de benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Peritübüler myoid hücrelerin spermatozoanların ve testiküler sıvının rete testis ve epididimise doru ta nmasında peristaltik aktiviteden sorumlu oldukları, epididimal kanal boyunca spermin geçişinin ise duktus epididimisin etrafındaki peritübüler kas katmanının aktif kontraksiyonlarına bağlı oldu ğu bildirilmiştir (24). Peritübüler hücrelerin kontraktıl yeteneklerinden dolayı, Sertoli hücrelerinde total protein üretimini stimüle ettikleri ve ABP (Androgen-binding protein) ile transferrin üretimini arttırdıkları anlaşılmıştır (24, 37).

Bu hücrelerin ayrıca in vitro Sertoli hücre fonksiyonlarının önemli bir düzenleyicisi oldu ğu bilinen P-mod-S (peritubuler factor that modulates Sertoli cell function) isimli bir proteini ürettikleri de bilinmektedir (40). Ayrıca bu hücrelerin seminifer tubüllerde androjenlerin etkisini modüle ettiklerini ve dolayısıyla spermatogenez üzerinde etkili olduklarını dü ğündürdükleri belirtilmektedir (24).

Desmin, hem çizgili hem de düz kaslarda bulunan bir intermediyer filaman olup testis ve epididimiste -SMA ile benzer hücresele fonksiyonlara sahiptir (3, 34, 41). Bazı ara tırmacılar, özellikle fetal dönemdeki testislerde Sertoli hücrelerinin desmin filamanlarını içerebildiklerini bildirmiştir (34). Bununla birlikte yapılan bazı ara tırmalarda, kriptomatik ve tümörlü testislerdeki Sertoli hücrelerinde desmin immunreaktivitesi saptanmıştır (8, 34). Sunulan çalışmada desmin için yapılan immunboyamalarda, -SMA'ya benzer olarak peritübüler myoid hücreler ile rete testis, duktuli eferentis ve duktus epididimis epitelinde uzanan kas hücrelerinde pozitif immunreaksiyon reaksiyon gözlenirken, Sertoli hücrelerinde bir immunreaksiyon belirlenmemiştir. Ancak, seminifer tubüllerdeki peritübüler hücrelerde saptanan pozitif immunreaksiyonun -SMA'ya göre daha zayıf oldu ğu dikkati çekmiştir. Sunulan çalışmada desmin ve -SMA'nın aynı yapıları boyaması bu iki proteinin benzer fonksiyonlara sahip olduklarını göstermektedir.

Sunulan çalışmada, Sertoli hücrelerinin vimentin intermediyer filamanlarını içermesi sitokeratin 18 intermediyer filamanını ise içermemesi, bu hücrelerin olgunlaşmalarını tamamladıklarını göstermektedir. Sertoli hücrelerinde vimentin ekspresyonu, seminifer tubüllerdeki spermatojenik safhalara göre değişmektedir. Epididimiste, duktuli eferentis ve duktus epididimis epitelindeki hücrelerin sitokeratinlerden sadece sitokeratin 8'i içerdikleri anlaşılmıştır. Sonuç olarak, Sertoli hücreleri, Leydig hücreleri, tubulus rektus ile rete testis epitelindeki hücreler ile damar endotel hücrelerinin vimentin intermediyer filamanlarını içermesi, tav an testislerinde bu yapıların mezenşimal kökenli oldu ğunun belirtisidir. Ayrıca, -SMA ve desminin aynı hücresele yapılarla bulunması, spermatozoanların ve testiküler sıvının rete testis ve epididimise doru ta nması ve duktus epididimis boyunca spermin geçişinde bu iki proteinin birlikte görev yaptığını göstermektedir.

Kaynaklar

1. Aire TA, Ozegbe PC, 2008. Immunohistochemistry of the cytoskeleton in the excurrent ducts of the testis of the Galloanserae monophyly. *Cell Tissue Res*, 333: 311-321.
2. Almahbobi G, Williams LJ, Han XG, Hall PF, 1993. Binding of lipid droplets and mitochondria to intermediate filaments in rat Leydig cells. *J Reprod Fertil*, 98(1): 209-217.
3. Arenas MI, Bethencourt FR, De Miguel MP, Fraile B, Romo E, Paniagua R, 1997. Immunohistochemical and quantitative study of actin, desmin, vimentin in the peritubular cells of the testes from elderly men. *J Reprod Fertil*, 110(1): 183-193.
4. Aumüller G, Steinbrück M, Krause W, Wagner HJ, 1988. Distribution of vimentin-type intermediate filaments in Sertoli cells of human testis, normal and pathologic. *Anat Embryol*, 178(2): 129-136.
5. Aumüller G, Schulze C, Viebahn C, 1992. Intermediate filaments in Sertoli cells. *Microsc Rec Tech*, 20(1): 50-72.
6. Danahey DG, Wu JC, Lin LH, DePhilip RM, 1995. A monoclonal antibody identifies vimentin filaments in Sertoli cells and in a subset of epithelial cells in the rat epididymis, urinary bladder, and prostate. *J Urol*, 154(6): 2190-2196.
7. Davidoff MS, Breucker H, Holstein AF, Seidl K, 1990. Cellular architecture of lamina propria of human seminiferous tubules. *Cell Tissue Res*, 262: 253-261.
8. De Miguel MP, Bethencourt FR, Arenas MI, Fraile B, Paniagua R, 1997. Intermediate filaments in the Sertoli cells of ageing human testis. *Virchows Arch*, 431: 131-138.
9. Devkato B, Sasaki M, Takahashi K, Matsuzaki S, Matsui M, Haneda S, Takahashi M, Osawa T, Miyake Y, 2006. Postnatal developmental changes in immunohistochemical localization of -smooth muscle actin (SMA) and vimentin in bovine testis. *J Reprod Dev*, 52: 43-49.
10. Devkato B, Sasaki M, Matsui M, Montoya CA, Miyake Y, 2006. Alteration in the immunohistochemical localization patterns of -smooth muscle actin (SMA) and vimentin in the postnatally developing bovine cryptorchid testis. *J Reprod Dev*, 52: 329-334.
11. Dinges HP, Zatloukal K, Schmid C, Mair S, Wirnberger G, 1991. Co-expression of cytokeratin and vimentin filaments in rete testis and epididymidis. An immunohistochemical study. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*, 418(2): 119-127.
12. Franke WW, Grund C, Schmid E, 1979. Intermediate-sized filaments present in Sertoli cells are the vimentin. *Eur J Cell Biol*, 19(3): 269-275.
13. Franke FE, Paulus K, Rey R, Marks A, Bergmann M, Steger K, 2004. Differentiation markers of Sertoli cells and germ cells in fetal and early postnatal human testis. *Anat Embryol*, 209: 169-177.
14. Hall PF, 1997. The roles of calmodulin, actin, and vimentin in steroids synthesis by adrenal cells. *Steroids*, 62: 185-189.
15. Hall PF, Almahbobi G, 1997. Roles of microfilaments and intermediate filaments in adrenal steroidogenesis. *Microsc Res Tech*, 36: 463-479.
16. Herrmann H, Bar H, Kreplak L, Strelkov SV, Aebi U, 2007. Intermediate filaments: from cell architecture to nanomechanics. *Nature Rev*, 8: 562-573.
17. Herrmann H, Strelkov SV, Burkhard P, Aebi U, 2009. Intermediate filaments: primary determinants of cell architecture and plasticity. *J Clin Invest*, 119(7): 1772-1783.
18. Holt WV, Waller J, Moore A, Jepson PD, Deaville R, Bennett PM, 2004. Smooth muscle actin and vimentin as markers of testis development in the harbour porpoise (*Phocoena phocoena*). *J Anat*, 205: 201-211.
19. Ivaska J, Pallari H-M, Nevo J, Eriksson JE, 2007. Novel functions of vimentin in cell adhesion, migration, and signaling. *Exp Cell Res*, 313: 2050-2062.
20. Kasper M, Stosiek P, 1989. Immunohistochemical investigation of different cytokeratins and vimentin in the human epididymis from the fetal period up to adulthood. *Cell Tissue Res*, 257(3): 661-664.
21. Komatsu T, Yamamoto Y, Atoji Y, Tsubota T, Suzuki Y, 1998. Immunohistochemical demonstration of cytoskeletal proteins in the testis of the Japanese Black Bear, *Ursus thibetanus japonicus*. *Anat Histol Embryol*, 27: 209-213.

22. Kopecky M, Semecky V, Nachtigal P, 2005. Vimentin expression during altered spermatogenesis in rats. *Acta Histochem*, 107: 279-289.
23. Maekawa M, Kazama H, Kamimura K, Nagano T, 1995. Changes in the arrangement of actin filaments in myoid cells and Sertoli cells of rat testes during postnatal development and after experimental cryptorchidism. *Anat Rec*, 241(1): 59-69.
24. Maekawa M, Kamimura K, Nagano T, 1996. Peritubular myoid cells in the testis: their structure and function. *Arch Histol Cytol*, 59 (1): 1-13.
25. Marettova M, Marettova E, 2004. Immunohistochemical demonstration of myoid cells in the testis and its excurrent ducts in the domestic fowl. *British Poult Sci*, 45(5): 585-589.
26. Maymon B-S, Paz G, Elliott DJ, Hammel I, Kleiman SE, Yogev L, Hauser R, Botchan A, Yavetz H, 2000. Maturation phenotype of Sertoli cells in the testicular biopsies of azoospermic men. *Human Reprod*, 15(7): 1537-1542.
27. Maymon B-S, Yavetz H, Schreiber L, Paz G, 2002. Immunohistochemistry in the evaluation of spermatogenesis and Sertoli cell's maturation status. *Clin Chem Lab Med*, 40(3): 217-220.
28. Miettinen M, Virtanen I, Talerma A, 1985. Intermediate filaments proteins in human testis and testicular germ-cell tumors. *Am J Pathol*, 120: 402-410.
29. Ortega HH, Lorente JA, Salvetti NR, 2004. Immunohistochemical study of intermediate filaments and neuroendocrine marker expression in Leydig cells of laboratory rodents. *Anat Histol Embryol*, 33: 309-315.
30. Palacios J, Regadera J, Paniagua R, Gamallo C, Nistal M, 1993. Immunohistochemistry of the human ductus epididymis. *Anat Rec*, 235(4): 560-566.
31. Paranko J, Pelliniemi LJ, 1992. Differentiation of smooth muscle cells in fetal rat testis and ovary: localization of alkaline phosphatase, smooth muscle myosin, F-actin, and desmin. *Cell Tissue Res*, 268: 521-530.
32. Regadera J, Palacios J, Martin-Cordova C, Nistal M, Cobo P, Paniagua R, 1993. Enzymohistochemical and immunohistochemical study of the human efferent ducts. *Int J Androl*, 16(5): 315-323.
33. Rodriguez A, Rojas MA, Bustos-Obregon E, Urquieta B, Regadera J, 1999. Distribution of keratins, vimentin, and actin in the testis of two south American camelids: Vicuna (*Vicugna vicugna*) and Llama (*Lama glama*). An immunohistochemical study. *Anat Rec*, 254: 330-335.
34. Rogatsch H, Jezek D, Hittmair A, Mikuz G, Feichtinger H, 1996. Expression of vimentin, cytokeratin, and desmin in sertoli cells of human fetal, cryptorchid, and tumour-adjacent testicular cells. *Virchows Arch*, 427 (5): 497-502.
35. Sasaki M, Yamamoto M, Arishima K, Eguchi Y, 1998. Effects of follicle-stimulating hormone on intermediate filaments and cell division of Sertoli cells of fetal rat testis in culture. *J Vet Med Sci*, 60(1): 35-39.
36. Schlatt S, Weinbauer GF, Arslan M, Nieschlag E, 1993. Appearance of alpha-smooth muscle actin in peritubular cells of monkey testes in induced by androgens, modulated by follicle-stimulating hormone, and maintained after hormonal withdrawal. *J. Androl*, 14: 340-350.
37. Steger K, Wrobel K-H, 1994. Immunohistochemical demonstration of cytoskeletal proteins in the ovine testis during postnatal development. *Anat Embryol*, 189 (6): 521-530.
38. Steger K, Schimmel M, Wrobel K-H, 1994. Immunohistochemical demonstration of cytoskeletal proteins in seminiferous tubules of adult rams and bulls. *Arch Histol Cytol*, 57 (1): 17-28.
39. Swierstra EE, Foote RH, 1963. Cytology and kinetics of spermatogenesis in the rabbit. *J Reprod Fertil*, 5: 309-322.
40. Verhoeven G, Hoeben E, De Gendt K, 2000. Peritubular cell-Sertoli cell interaction: factors involved in PmodS activity. *Andrologia*, 32: 41-64.

41. Virtanen I, Kallojoki M, Narvanen O, Paranko J, Thornell LE, Miettinen M, Lehto VP, 1986. Peritubular myoid cells of human and rat testis are smooth muscle cells that contain desmin-type intermediate filaments. *Anat Rec*, 215(1): 10-20.
42. Von Vorstenbosch CJ, Colenbrander B, Wensing CJ, Ramaekers FC, Vooijs GP, 1984. Cytoplasmic filaments in fetal and neonatal pig testis. *Eur J Cell Biol*, 34: 292-299.
43. Wakui S, Furusato M, Shinichiro U, Kano Y, 1994. Coexpression of different cytokeratins, vimentin and desmin in the rete testis and epididymis in the dog. *J Anat*, 184: 147-151.
44. Wrobel KH, Bickel D, Kujat R, 1995. Distribution pattern of F-actin, vimentin and alpha-tubulin in the bovine testis during postnatal development. *Acta Anat*, 153(4): 263-272.
45. Zhu L-J, Zong S-H, Phillips DM, Moo-Young AJ, Bardin W, 1997. Changes in the distribution of intermediate filaments in rat Sertoli cells during the seminiferous epithelium cycle and postnatal development. *Anat Rec*, 248: 391-405.

Yazı ma Adresi

Yrd. Doç. Dr. Feyzullah BEYAZ
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Barı Manço Cad. No.1 Kocasinan KAYSER
Tel: 352 3380006-155
e-Mail: fbeyaz@erciyes.edu.tr