Archive of SID

لکتین هیستوشیمیائی اپی‌تلیوم اپی‌دیدیم درموش

دکترسید حسن علوی* - فرزانه زمان سلطانی** - دکتر علیرضا محمودیان* - دکتر علیرضا فاضل***

* استادیار گروه علوم تشریحی وژنتیک، دانشکده پزشکی مشهد
**دانشجوی Ph.D علوم تشریحی، دانشکده پزشکی مشهد.
*** استاد گروه علوم تشریحی و ژنتیک، دانشکده پزشکی مشهد

تاریخ دریافت مقاله: ۸۲/۱۱/۱۹
تاریخ پذیرش: ۸۳/۳/۹

چکیده

مقدمه: سلول‌های مختلفی از نظر مورفولوژیکی در اپی‌دیدیم پستانداران نرتشخیص داده شده اند. این سلولها درجذب مایع لومینال وترشح گلیکوپروتئینهای مربوط به بلوغ اسپرم دخالت دارند. اهمیت گلیکوکانژوگه‌های در فرایند تکامل اسپرم‌ها در مطالعات فراوانی بررسی گردیده است. لکتین‌ها می‌توانند گلیکوکانژوگه‌های دارای قندهای انتهائی خاص را ردیابی نمایند.

هدف: این مطالعه توزیع گلیکوکانژوگه‌های دارای قندهای انتهائی خاص درسلول‌های نواحی مختلف اپی‌دیدیم و اسپرم‌های مجرای آن با استفاده از لکتین‌ها را بررسی می‌نماید.

مواد وروش‌ها: نمونه بافت اپی‌دیدیم از ۳۰ موش نر بالغ از نژاد BALB /c بدست آمده وپس از فیکساسیون وطی مراحل معمول آزمایشگاهی ازبلوک‌های پارافینی بدست آمده، مقاطع بافتی با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه شد. لام های تهیه شده با این روش با استفاده از روش لکتین هیستوشیمی تحت تاثیر لکتین‌های مختلف قرارگرفتند. سپس لام‌های تهیه شده با میکروسکپ نوری موردبررسی قرارگرفته وشدت واکنش درسلول‌های مختلف ارزیابی وامتیاز بندی شد.

نتایج : سلول‌های قاعده‌ای به لکتین‌های SBAوMPA و سلول‌های اصلی به کلیه لکتین‌ها واکنش نشا ن داد. شدت واکنش درسلول‌های اصلی نسبت به لکتین‌های مختلف و به یک لکتین خاص نیز در نواحی مختلف اپی‌دیدیم متفاوت بود. سلول‌های باریک به لکتین‌های LTA وMPA وسلول‌های روشن به کلیه لکتین‌های مورد استفاده واکنش نشان دادند. غشاء پایه و بافت بینابینی فقط به لکتینMPA واکنش دادند.

نتیجه‌گیری: اپی‌دیدیم گلیکوپروتئین‌های فراوانی درارتباط با تکامل و بلوغ اسپرم‌ها می‌سازد. واکنش‌های مختلف درسلول‌های متفاوت نشان می‌دهد که محصولات ترشحی آنها با هم متفاوت است. احتمالا گلیکوکانژوگه‌های ساخته شده درسلول‌های قاعده‌ای به دلیل عدم دسترسی به مجرا و محدودیت واکنش‌ها به غشاء ، صرف ترمیم و بازسازی غشاء می‌شود. واکنش‌های ضعیف یا عدم واکنش در ناحیه سر و ظهور واکنش‌ها در سلول‌های اصلی جسم نسبت به یک لکتین خاص، به نقش بیشتر این سلول‌ها در جذب آب درسر و/ یا ترشح گلیکوکانژوگه‌های در جسم اشاره دارد. عبور اسپرم‌ها ازمجرا همراه با افزایش محتوی فوکوز و تغییراتی درمحتوای قندهای دیگر می‌باشد.

کلید واژه ها: اپی‌دیدیم / لکتین‌ها / موش‌ها

مقدمه

اپی‌تلیوم اپی‌دیدیم در پستانداران از نوع مطبق کاذب استوانه‌ای‌ست (۱) و از نظر مورفولوژی چند نوع سلول مختلف اپی‌دیدیم دارد(۲). سلول‌های اصلی (Principal cells) بیشترین جمعیت سلولی را تشکیل می‌دهند که ساختمان‌های استوانه‌ای بلند با هسته بیضی و کشیده هستند که در۱/۳ قاعده‌ای سلول قرارمی‌گیرند و در راس آنها استرئوسیلیاهای منظم وبلندی وجوددارد(۱). ارتفاع استرئوسیلیاها ۸۰ میکرومتر–در ناحیه سر–تا ٤٠ میکرومتر – در ناحیه دم– است. از ارتفاع سلول‌ها در طول اپی‌دیدیم نیز کاسته می‌شود(۳). سلول‌های قاعده‌ای (Basal cells)، به شکل گرد یا چند گوش(۱) و دارای ارگانل‌های سلولی اندک (۳) هستند که لابلای قاعده سلول‌های اصلی قرار می‌گیرند و ممکن است که سلول‌های بنیادی برای ترمیم اپی‌تلیوم باشند، گرچه این نکته هنوز به اثبات نرسیده است(۱)(۳). سلول‌های باریک یا فلاسک (Narrow or Flask cells) دارای یک بخش یا نیمه راسی پهن حاوی هسته هستند وسیتوپلاسم بازال گردن باریک یا ساقه‌ای دارد که معمولا در قاعده قیفی

www.SID.ir

Archive of SID

شکل و پهن می‌شود و نسبت به سلول‌های اصلی میکروویلی‌های کمتری دارند. محل استقرار آنها در سر وجسم اپی‌دیدیم است(٤). سلول‌های روشن (Clear cells)، که شکل آنها از چند گوش تا هرمی متفاوت است. به نسبت سلول‌های اصلی یا فلاسک سطح لومینال آنها میکروویلی‌های کمتر و کوتاه‌تری دارد و اغلب حاوی وزیکول‌ها و واکوئول‌های بزرگی هستند. این سلول‌ها در موش و رت در بخش دیستال جسم ودم اپی‌دیدیم قرار دارد(۲ و ٤). در جوندگان ومیمون‌ها، در حدود ۲٪ ازکل جمعیت‌سلولی‌اپی‌تلیوم را لنفوسیت‌ها تشکیل می‌دهند(۳). نقش سلول‌های اصلی، جذب آب از برون ده بیضه‌ای باشد(۱و۵) حدود۹۰٪ کل برون‌ده بیضه در اپی‌دیدیم جذب‌می‌شود(۱).همچنین این سلول‌ها، گلیکوپروتئین‌های ضروری را برای بلوغ اسپرم‌ها ترشح می‌کنند(۱، ٤ و ۵). وجود دستگاه گلژی بزرگ وتکامل یافته و نیز شبکه آندوپلاسمی صاف وخشن فراوان درسلول‌های اصلی، نشان‌دهنده‌سنتزفعالانه پروتئین توسط این سلول‌هاست(٦). در پستانداران، اسپرمی که از بیضه خارج می‌شود نه تنها تحرک ندارد بلکه قادر به بارور ساختن تخمک نیز نیست. در انواع مختلف پستانداران، حین عبور اسپرم از اپی‌دیدیم، چندین تغییر بیوشیمیائی ومورفولوژیک رخ می‌دهد. از جمله می‌توان به بروز تغییراتی در شکل آکروزوم، متابولیسم و کسب توانائی اسپرم در حرکت به جلو اشاره کرد. با انتقال در اپی‌دیدیم، سطح اسپرم نیز دچارتغییراتی می شود که شامل تغییرات ریزساختمانی در غشاء پلاسمائی، تغییر در بار سطحی، آنتی ژنیسیته غشاء و خواص گلیکوپروتئین‌های غشاء است(۷). بررسی‌های پیشین با کمک لکتین‌ها نشان داده که عبور اسپرم از اپی‌دیدیم باعث ظهور/ پنهان شدن بنیان‌های کربوهیدرات ویژه در بخش‌های مختلف سلول وبخصوص درغشای پلاسمائی آن می‌شود(٤).

یکی‌از روش‌های بسیار سودمند که در ارزیابی ونیز ردیابی گلیکوکانژوگه‌هائی با قندهای انتهائی خاص استفاده می‌شود، روش لکتین هیستوشیمی است در سال ۱۹۸۰، لکتین‌ها به عنوان پروتئین‌هائی وصل شونده به کربوهیدرات‌ها شناخته شدند. این ترکیب‌ها، آنزیم یا پادتن نیستند ولی سلول‌ها را آگلوتینه می‌کنند و باعث جداسازی و رسوب پلی‌ساکاریدها یا گلیکوکانژگه‌ها می‌شوند(۸). لکتین‌ها تمایل متفاوت برای اتصال به کربوهیدرات‌های ویژه دارند و ابزاری سودمند برای بررسی سطح سلول، پی‌گیری تمایز و تغییر شکل سلولی هستند(۹).

با توجه به نقش و اهمیت گلیکوکانژوگه‌های اپی‌دیدیم و تغییر آنها با بلوغ اسپرم، برای تعیین گلیکوکانژوگه‌های دارای قندهای انتهائی خاص درسلول‌های اپی‌تلیوم اپی‌دیدیم و نیز محتوای مجرای آن، این بررسی با استفاده از روش لکتین هیستوشیمی انجام شد.

مواد وروش‌ها

۱- روش تهیه بافت وآماده سازی مقاطع:

این بررسی بر ۳۰ موش مذکر بالغ و بارور ۲ تا ٤ ماهه از نژاد BALB/c، انجام شد که از مرکز سرم سازی رازی مشهد، تهیه شده‌بودند و به این ترتیب در شرایط استاندارد از نظر درجه حرارت، نور، غذا و آب قرار داشتند. پس از بی‌هوشی با کلروفرم، اپی‌دیدیم آنها خارج شد و به مدت ٤۸ ساعت در فیکساتیوB4G قرار داده شد. B4G شامل شش در صد کلرید جیوه، یک درصد گلوتارآلدئید و یک درصد استات سدیم است. pH این محلول باید ٦باشد (۱۰، ۱۱ و ۱۲). پس از ثابت کردن مراحل آماده‌سازی معمولی، یعنی آب‌گیری در الکل‌های صعودی، شفاف سازی در گزیلل، آغشته کردن و قالب‌گیری با پارافین، از بلوک‌های پارافینی به‌دست آمده، برش‌های ۵ میکرونی تهـیه شد(۱۳) .

۲- روش لکتین هیستوشیمی :

در مقاطع ثابت شده با B4G برای برداشتن کامل نمک‌های جیوه موجود آنها را به مدت ده دقیقه در محلول

www.SID.ir

Archive of SID

Alcoholic Iodine و پس از شستشو به مدت نیم ساعت در محلول بافر فسفات سالین قرار دادند بر روی هر لام چند قطره از لکتین‌های اشاره شده درجدول شماره (۱)، که با بافر فسفات به نسبت ۱:۱۰۰ رقیق شده بودند، ریخته شد(۱۰، ۱۱ و ۱۲). لکتین‌ها به صورت کونژوگه با(Horse Radishe Peroxidase(HRP وازشرکت سیگما خریداری شده بود. پس از گذشت ۲ساعت، کلیه لام‌ها با بافر فسفات سالین شسته شد و به مدت ده دقیقه در مجاورت(Diaminobenzidine(DAB با غلظت ۳٪ گرم درصد میلی‌لیتر بافر فسفات قرار گرفت که به آن ۲۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه افزوده شده بود. سپس آنها را برای ایجاد رنگ زمینه به مدت پنج دقیقه در محلول آلسین بلو با۲/۵ =pH قرار دادند(۱۰، ۱۱ و ۱۲). پس از آن، لام‌های آماده شده، با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. براساس شدت واکنش نسبت به لکتین‌ها که در سلول‌های مختلف به رنگ قهوه‌ای ظاهر می‌شود و نیز با استفاده از روش مطالعه‌های Arya (٤ و ٥) وDesantis(١٤) برای هر یک نمره‌های صفر تا ٤+ منظورشد.

جدول ۱: انواع مختلف لکتین بکاربرده شده درمطالعه هیستوشیمیائی بیضه (٤،٩،١٥).

لکتین	مخفف	ویژگی اتصال کربوهیدراتی
Glycine max(soybean)agglutinin	SBA	β ,α-D-GalNAc
Arachis hypogaea(peanut)agglutinin	PNA	D-Gal-(β1-3)-D-GalNAc
Maclura pamifera agglutinin	MPA	Gal > GalNAc
Vicia villosa agglutinin	VVA	GalNAc
Lotus tetragonolobus agglutinin	LTA	L-fuc(α 1-3)GlcNAc
Ulex europeus agglutinin	UEA-I	L-fuc(α 1-2)Gal(β 1-4)Glc

Fuc=Fucose Gal= Galactose GalNAc=N-Acetylgalactosamine

نتایج

نتـــایج به دست آمده از واکنش در برابر لکتین‌های متفاوت در سلول‌های قسمت‌های مختلف اپی‌دیدیم در جدول شماره (۲) خلاصه شده است (تصاویر۱ تا ٤). غشـــای پایه اپی‌دیدیم و ماتریکس بین لولـــه‌ای، به جز لکتیـــن MPA، به هیچ یک ازلکتین‌ها واکنشی نشان نداد. لکتیـــن MPA نیز از شدت واکنش‌ها از ناحیه جسم به سمـــت دم به مقـدار قابل‌ملاحظه‌ای کاسته می‌شد.

جدول ۲ : واکنش بخش‌ها وسلول‌های مختلف درنواحی سر، جسم ودم اپی‌دیدیم به لکتینهای مختلف

لکتین	بخشهای مختلف	سلولهای اصلی B.C	G.Z	A.C	سلول روشن	سلول فلاسک	سلول فاعده ای	اسپرمها	سطح راسی
PNA	سر	−	−	−	وجود ندارند	−	−	++++	−
	جسم	−	−	−	+++	−	−	++++	++++
	دم	−	−	−	+++	وجود ندارند	−	++++	++++
SBA	سر	−	−	−	وجود ندارند	−	+	+++	−
	جسم	−	++	+	++	−	+++	+++	+++
	دم	−	+/++	+	++	وجود ندارند	++/+	++++	++++
MPA	سر	−	−	−	وجود ندارند	+++/++	++	++++	−
	جسم	++	++	+	+++/++	++	++	+++	++++
	دم	++	++	++	+++/++	وجود ندارند	++	++	++++
VVA	سر	+	++	+	وجود ندارند	−	−	+	+++/++
	جسم	+	++	+	+++	−	+	++	+++
	دم	−	+	−	−	وجود ندارند	−	−	−/+

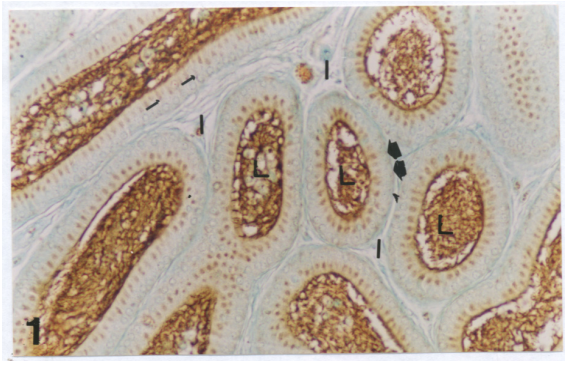
www.SID.ir

Archive of SID

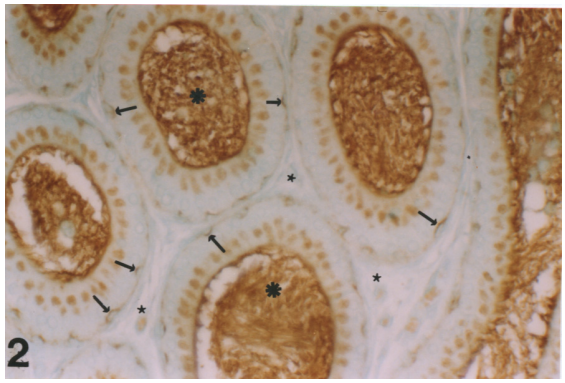
LTA	سر	–	–	–	وجود ندارند	+++	–	–
	جسم	–	+++	+	++/+++	+++	–	+++	++++
	دم	–	–/+	–	++++	وجود ندارند	–	+++	++++
UEA-I	سر	–/+	+/++	–/+	وجود ندارند	–	–	–	–
	جسم	++	+++	++	++++/+++	–	+	++++	++++
	دم	–	–	–	++/+++	وجود ندارند	–	++++	++++

B.C = سیتوپلاسم قاعده‌ای **G.Z** = منطقه گلژی **A.C** = سیتوپلاسم راسی

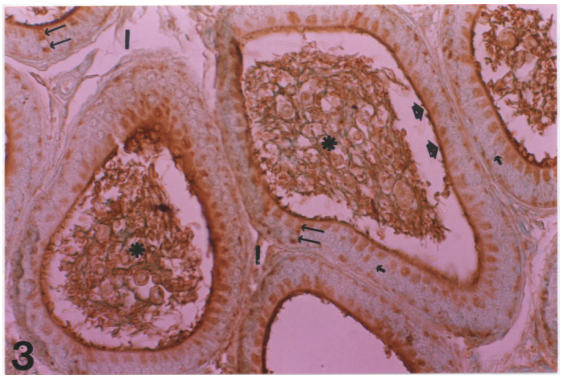
– : عدم واکنش + : واکنش ضعیف ++ : واکنش متوسط +++ : واکنش قوی ++++ : واکنش شدید



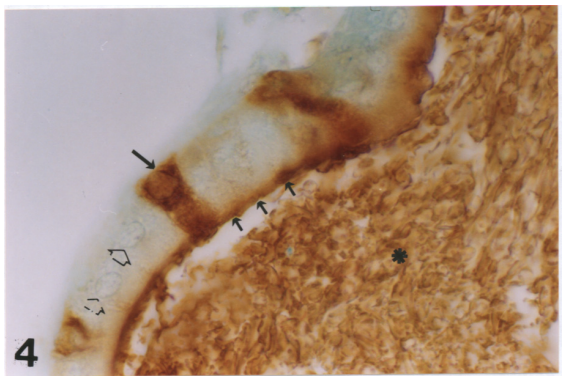
تصویر۱: مقاطع اپی‌دیدیم موش درناحیه دم رنگ‌آمیزی شده با آلسین بلوولکتین **PNA**، بزرگنمائی ٦٦٠×، واکنش اسپرم‌های لومینال وسطح لومینال اپی‌تلیوم و استرئوسیلیاها شدید است ودر منطقه گلژی در سلول‌های اصلی واکنش‌های متوسطی ظاهرشده است. ستاره بزرگ: مجرای لوله واسپرم‌های لومینال ستاره کوچک: بافت بینابینی پیـــکان کوتـــاه وپهن: غشای پایه لوله‌ها پیکان‌های باریک: منطقه گلژی در سلول‌های اصلی.



تصویر ۲: مقاطع جسم اپی‌دیدیم موش. رنگ آمیزی شده با لکتین **SBA**وآلسین‌بلو. بزرگنمائی ۱۳۲۰×،به واکنش قابل توجه‌سلول‌های قاعده‌ای(پیکان‌ها) توجه شود. ستاره‌بزرگ:مجرای‌لوله‌ستاره‌کوچک: بافت بینابینی.



تصویر۳: مقاطع ناحیه دم اپی‌دیدیم، رنگ‌آمیزی شده با لکتین **MPA** وآلسین بلو، بزرگنمائی ۱۰۰۰× ، واکنش‌های متوسط تا قوی در سلول های روشن(پیکان‌های بلند) دیده می‌شود. ستاره بزرگ: مجرای لوله با اسپرم‌های لومینال پیکان کوچک:سلول اصلی پیکان پهن: استرئوسیلیاها وسطح لومینال.



تصویر٤: بخشی ازمقطع عرضی اپی‌دیدیم در ناحیه دم، رنگ‌آمیزی شده با لکتین **LTA** وآلسین بلو، بزرگنمائی ۳۳۰۰×، واکنش شدید سلول‌های روشن (پیکان‌بلند) و نبود واکنش سلول‌های اصلی مجاور (پیکان‌های توخالی) به‌خوبی دیده می‌شود.اسپرم‌های مجرا(ستاره) واکنش‌شدیدوسطح لومینال اپی‌تلیوم واسترئوسیلیاهای بسیار کوتاه در ناحیه دم نیز واکنش شدیدی نشان می‌دهد.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث و نتیجه‌گیری

در حین عبور اسپرم‌ها از اپی‌دیدیم، گیرنده‌های لکتینی ازنظر فراوانی و در دسترس بودن تغییر می‌کنند(۱٦) وبه عبارت دیگر گلیکوکانژوگه‌های سطح اسپرم حین بلوغ در اپی‌دیدیم تغییر پیدا می‌کنند. این تغییرها با تکامل وعمل اسپرم‌ها رابطه نزدیک دارد(٦). از سوی دیگر نقش اپی‌تلیوم اپی‌دیدیم در ساختن و ترشح گلیکوپروتئین‌ها به داخل مایع لومینال غیرقابل انکار است(٤). درکنار تغییراتی که توسط گلیکوزیدازها و/ یا لیکوترانسفرازها در واحدهای قندی غشاء پلاسمائی به وجود می‌آید، برخی از گلیکوپروتئین‌های ترشح شده نیز به صورت انتخابی به غشای پلاسمایی اسپرم متصل می‌شوند(٤). تفاوت واکنش در برابر لکتین‌های مختلف نشان‌دهنده آن است که سلول‌های مختلف محصولات ترشحی متفاوتی دارند. به نظر نمی‌رسد که ساخت گلیکوپروتئین‌ها، توسط سلول‌های قاعده‌ای برای فعالیت ترشحی باشد، با توجه به این که این سلول‌ها به مجرای اپی‌دیدیم دسترسی ندارند و واکنش‌های ایجاد شده برابر لکتین‌ها نیز به غشای سیتوپلاسمی آنها محدود می‌شود. احتمالا گلیکوکانژوگه‌های جدیدی که در این سلول‌ها ساخته می‌شوند، به صورت مستقیم در ساختمان غشاء قرار می‌گیرند و آن را حفظ می‌کنند. گرچه با روش‌های بافت‌شناسی معمولی، گسترش سلول‌های قاعده‌ای به راحتی قابل مشاهده نیست، ولی با استفاده از لکتین‌ها، به ویژه لکتینSBA ، در ناحیه جسم اپی‌دیدیم (تصویر۲) به صورت یک لایه مداوم سلولی در زیر لایه سطحی به خوبی دیده می‌شوند.

براساس نتایج، گلیکوکانژوگه‌های دارای دی‌ساکارید انتهائی گالاکتوز- ان استیل گالاکتوزآمین به مقدارفراوان و پس از آن ترکیب‌های حاوی قند انتهائی ان استیل گالاکتوزآمین در غشای این سلول‌ها وجود دارند قرار دارد (تصویر۳).

واکنش سلول‌های اصلی به یک لکتین خاص در نواحی مختلف اپی‌دیدیم متفاوت است که می‌تواند به ایفای نقش‌های متفاوت توسط این سلول‌ها مربوط باشد. از آنجائی‌که این سلول‌ها در ناحیه سر با اکثر لکتین‌ها واکنشی بروز ندادند و نیز با توجه به این که مایع تولید شده از بیضه بیشتر توسط مجاری آوران و سراپی‌دیدیم جذب می‌شود(۲)، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالا، نقش این سلول‌ها درناحیه سر بیشتر جذب مایع ازمجراست در حالی‌که درناحیه جسم با در نظر گرفتن بروز واکنش‌های گسترده، در زمینه ترشح گلیکوکانجوگیتها نیز فعال هستند. بروز واکنش‌های قابل ملاحظه در منطقه گلژی این سلول‌ها (دستگاه گلژی، سیتوپلاسم بین دستگاه گلژی و غشاء، غشای سیتوپلاسمی آن ناحیه)، این نظریه را تایید می‌کند(تصاویر۱و۲). گلیکوزیلاسیون موادساخته شده در دستگاه گلژی انجام می‌شود که باعث واکنش در برابر لکتین‌ها می‌شود(۱۷). در مجموع، این بررسی، طیف وسیعی از گلیکوکانژوگه‌های حاوی قندهای انتهائی گالاکتوز، فوکوز، ان استیل گالاکتوزآمین ودی ساکارید گالاکتوز- ان استیل گالاکتوزآمین دراین سلولها ردیابی شدند.

سلول‌های فلاسک عمدتا درساختن گلیکوکانژوگه‌های دارای قند انتهائی فوکوزودی ساکارید گالاکتوز- ان استیل گالاکتوزآمین نقش دارند. واکنش‌های شدید و نیز مورفولوژی متفاوت آنها از سلول‌های اصلی که به ویژه در ناحیه سراپی‌دیدیم به وضوح مشاهده می‌شود، نشان می‌دهد که این سلول‌ها، گروهی متفاوت ومجزا هستند. واکنش سلول‌های روشن مستقر در نواحی جسم و دم اپی‌دیدیم نیز به نحو قابل توجهی با سلول‌های اصلی مجاورشان تفاوت دارد. این تفاوت بخصوص در لکتین‌های اختصاصی برای فوکوز برجسته‌تر است (تصویر٤). با توجه به بروز واکنش‌های گسترده در داخل این سلول‌ها به نظر می‌رسد که گلیکوکانژوگه‌های متنوعی در آنها ساخته می‌شود که بیشترین آنها را ترکیبات دارای فوکوز انتهائی تشکیل می‌دهد.

در اسپرم‌های لومینال، این عبور با افزایش محتوای فوکوز آنها همراه است. همچنین درانتقال اپی‌دیدیمی اسپرم‌ها،

www.SID.ir

Archive of SID

تغییراتی در محتوای قندهای دیگر نظیر ان استیل گالاکتوز آمین ودی ساکارید گالاکتوز- ان استیل گالاکتوزآمین بوجود می‌آید.

مطالعه‌های گسترده‌ای با لکتین‌های کونژوگه بافلوروکرم و پراکسیداز بر اپی‌دیدیم انسان وانواع مختلف حیوانات نظیر اسب (١٦)، قوچ(١٨) و گراز(١٩) انجام شده است. نتایج این مطالعات، به طور قابل توجهی اختلاف و در برخی موارد تضاد را نشان داده است. مثلاً واکنش‌های یک سلول خاص اپی‌تلیوم به یک لکتین خاص در انواع مختلف تفاوت دارد که نشان‌دهنده اختصاصی بودن این واکنش‌ها برای هرگونه خاص حیوانی است. این نتیجه‌گیری از مطالعات Retamal (١٦) نیز بدست آمده است. احتمالاً بخشی از این اختلاف‌ها مربوط به فیکساتیوی باشد که بکار برده شده است. مطالعات Soderstrom (٩) بروز واکنش‌های متفاوت در موارد کاملا مشابه ولی با فیکساتیوهای مختلف رانشان داده است.

تقدیروتشکر:نویسندگان مقاله کمال تشکر و قدردانی‌خود را از حمایت مالی وهمکاری صمیمانه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد ابراز می‌دارندو خدمات فنی خانم متجدد در کارهای آزمایشگاهی نیز قابل تقدیر است.

منابع

1. Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE, Ferguson MWJ. Gray's Anatomy.38 th ed. Newyork; Churchill Livingstone, 1995: 1849-1853.

2. Brown D, Montesano R. Membrane Specialization in the Rat Epididymis. II. The Clear Cells. Anat Rec 1981; 201:477-483.

3. Weiss L. Histology: cell and tissue biology. 5 th ed. New york; Elsevier Science. 1983:1004-104.

4. Arya M, Vanha-Perttula T. Distribution of Lectin Binding in Rat Testis and Epididymis. Andrologia 1984; 16(6): 495-508.

5. Arya M, Vanha- Perttula T. Lectin- Binding Pattern of Bull Testis and Epididymis. J Androl 1985; 6(4): 230-42.

6. Liu HW, Shang ST, Chao CF, Muller C. The Secretion of two Sperm Maturation- Related Glycoproteins in BALB/c Mouse Epididymis. Cell Tissue Res 1991; 265(3): 409-414.

7. Sinowatz F, Friess A. Localization of Receptors on Epididymal Spermatozoa Using a Colloidal Gold 7 Technique. Histochemistry 1983;79:335-344.

8. Montreuil J, Vliegenthart JFG, Schachter H. Glycoproteins II. Amsterdam; Elsevier Science, 1997: 357,403.

9. Soderstrom KO, Malmi R, Karjalainen K. Binding of Fluorescein Isothiocyanate Conjugated Lectins to rat Spermatogenic Cells in Tissue Sections. Enhancement of Lectin Fluorescence Obtained by Fixation in Bouins fluid. Histochemistry 1984; 80(6):575-579.

10. Fazel A, Schulte B,Thompson R. Lectin Histochemistry of the Embryonic Heart :Fucose-Specific Lectin Binding Sites in Developing Rats and Chicks. Am J Anat 1984; 184: 76-84.

11. Fazel A R, Thompson R P, Sumida H, Schulte B A. Histochmistry of the Embryonic Heart: Expression of Terminal and Penultimate Galactose Residues in Developing Rats and Chicks. Am J Anat 1989; 184(1):85-94.

12. Ganji FC, Fazel AR. Lectin-binding Pattern in the Microenvironment of the Mouse Developing T-Cell. Iranian Biomedical Jurnal 2003; 7 (1) : 19-22.

13. Bancroft JD, Gamble M. Theory and Practice of Histological- Techniques. 5th ed. New york; Churchill Livingstone, 1991: 86-88.

14. Desantis S, Labate M, Labate GM, Cirillo F. Evidence of Regional Differences in the Lectin Histochemistry Along the Ductus Epididymis of the Lizard, Poarcis Sicula Raf. The Histochemical Journal 2002;34:123-130.

15. Saez FJ, Aparicio R, Alonso E, Hernandez F. Glycan Residues of N- and O-linked Oligosaccharides in the Premeiotic Spermatogenetic Cells and of the Urodele Amphibian PleurodelesWaltl. Characterized by Means of Lectin Histochemistry. Tissue and Cell 2000; 32(4):302-311.

16. Retamal C, Urzua J, Lorca C, Lopez ML, Alves EW. Changes in Plasma Membrane Protein of

www.SID.ir

Archive of SID

18. Magargee SF, Kunze E, Hammerstedt RH. Changes in Lectin Binding Features of ram Sperm Surfaces Associated with Epididymal Maturation and Ejaculation. Biol Reprod 1988; 38(3): 667-685.

19. Calvo A, Pastor Lm, Bonet S, Pinart E, Ventura M. Characterization of the Glycocojugates of Boar Testis and Epididymis. J Reprod Fertil 2000;120(2): 325-335.

Stallion Spermatozoa During Maturation in the Epididymis. J Submicrosc Cytol Pathol 2000; 32(2):229-39.

17. Calvo A, Pastor LM, Bonet S, Pinart E, Ventura M. Chracterization of the Glycocojugates of Boar Testis and Epididymis. J Reprod Fertil 2000;120(2): 325-335.

www.SID.ir

Archive of SID

Lectin Histochemistry Epididymal Epithelium in Mouse

Alavi SH.Ph.D, Zaman Soltani F.MS, Mahmoodian A.Ph.D, Fazel A.Ph.D.

Abstract

Introduction: Several different cell types have been identified morphologically in the epididymal epithelium in male mammals. They absorb luminal fluid and secret sperm-maturation glycoconjugates. Lectin histochemical method is useful for detection of glycocojugates with specific terminal sugars.

Objective: This study surveys the distribution of glycoconjugates containing terminal sugals in cells of different areas of epididym and its canal sperms by the use of lectins.

Materials and Methods: Sample of epididymal tissue was obtained from 30 adult male BALB/C mouse. After fixation and routine laboratory process, 5 µm sections was prepared from paraffin blocks. Slides were exposed to lectins with lectin-histochemistry. Then the slides were assessed by light microscope and graded reaction intensity in different cells.

Results: Basal cells reacted to MPA, SBA and principal cells to all of lectins. Reaction intensity in essential cells was different as compared to various lectins and a special lectin in different areas of epididym. Narrow cells reacted to LTA, MPA and clear cells reacted to all of lectins. There wasn't any reaction in basal lamina and interstitial tissue except for MPA.

Conclusion: epididymis secrets many sperm-maturation related glycoconjugates. Different reactions in different Probably synthesieed glycoconjugates in basal cells due to inability to reach lumen and limited reaction in membrane, are used for repair and reconstruction of membrane. Faint or lack of reactions in caput of epididymis and appearance in corpus principal cells indicates that these cells in caput are involved in fluid absorption and/or glycoconjugates secretion in corpus. Epididymal sperm transit are accompanied with focuse content increasing and alternation in other terminal sugars.

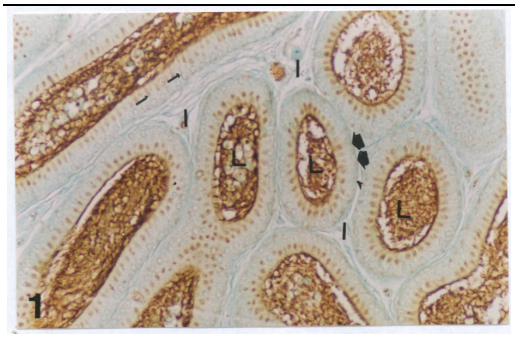
Keywords: Epididymis / Lectins/Mice

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID



www.SID.ir