



## Prepubertal Sıçan Testis Dokusunun İncelenmesinde Parafin, Epon Yarı İnce ve İnce Kesitlerin Sağladığı Bilgilerin Karşılaştırılması

### A Comparison of the Information Provided by Paraffin, Epon Semi-Thin and Thin Sections on the Examination of Prepubertal Rat Testicular Tissue

Gülnaz Kervancıoğlu<sup>1</sup>, Elif Kervancıoğlu Demirci<sup>2</sup>

<sup>1</sup> İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

<sup>2</sup> İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye.

#### GİRİŞ

Son yıllarda fertilitate restorasyonu çalışmaları hız kazanmıştır. Bu kapsamda kanser tedavisi görece çocuklarda ileriye yönelik olarak fertilitenin korunması ve restorasyonu için kullanılacak testis dokuları dondurularak saklanmaktadır. Dondurma öncesi ve dondurup çözme sonrası testis dokularına ışık mikroskopunda histolojik inceleme yapılmaktadır. Bu araştırmalar intratubular ve interstisyel testiküler hücrelerin detaylı morfolojilerinin incelenmesini gerektirir. Prepubertal testis dokusu erişkin testis dokusuna göre farklılıklar gösterir. Erişkin testis dokularının parafin kesitlerinin infertilite açısından değerlendirilmeleri rutinde yeterli olmaktadır. Ancak prepubertal testis dokularına rutin doku takibi ile parafin kesitlerinin incelenmesi için aynı şey söylenemez.

Puberte döneminde testis hacmi artmasına rağmen prepubertal testis erişkine oranla küçüktür. Aynı zamanda prepubertal dönemde seminifer tubuluslar da solid yapıdadır. Henüz tubulus lümenleri oluşmamıştır. Darolan tubulus çapları da puberte doğru genişlemeye başlar (1).

Bu dönemde tubulus lümenine karşılık gelen alanda Sertoli hücrelerinin sitoplazması ve az sayıda gonositler bulunmaktadır (2-4). Henüz Sertoli hücreleri arasında sıkı bağlantı kompleksleri, kantestis bariyeri, bazal ve adluminal kompartman oluşmamıştır. Bazal membran üzerinde Sertoli hücreleri dağınık olarak bulunmaktadır. Gonositler bazal membrana doğru ilerleme safhasında ya da yeni temas etmiş durumdadır. Bazal membrana tam yerleşmemiştir. Yapılacak araştırmalarda bu safhadaki hücre morfolojilerinin belirlenmesi önem arz etmektedir.

Puberteyle birlikte tubulus lümeni ve spermatogonyum alt hücreleri serisi oluşmaya başlar (5-7). Germinal epitel giderek kalınlaşmasına seminifer tubulus çaplarının genişlemesi eşlik eder.

Prepubertal testis dokusunun, fertilitate restorasyonu için taze ve kriyoprezervasyon yapılmış dokuların transplantasyonu, iki ve üç boyutlu kültür uygulamaları çalışmaları yapılmaktadır.

Günümüzde henüz araştırma halinde olan testiküler dokuda spermatogonyal kök hücrelerin (SKH) in vitro matürasyon uygulamalarında (8,9) kullanılabilmesi için testis nişini oluşturan Sertoli, leydig ve miyoid hücrelerin ve SKH'lerin morfolojik özelliklerinin iyi tanımlanması önem arz etmektedir.

**Başvuru Tarihi:** 19.10.2020 **Kabul Tarihi:** 01.12.2021

**Correspondence:** Gülnaz Kervancıoğlu, İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye. **E-mail:** gkervancioglu@gmail.com

Kocaeli Medical Journal published by Cetus Publishing.



Kocaeli Medical Journal 2021 <https://kocaelimj.org>

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial International License.

Burada konunun güncelliği açısından uzmanlık tezi hazırlanması esnasında edindiğimiz deneyimizle literatür bilgilerini birleştirdik. Aynı testislerin geçirimli elektron mikroskobu kesitlerinin incelemesi ile başa dönük olarak ışık mikroskobik kesitlerde morfolojik özelliklerini karşılaştırdık. Deneyimimizi çalışmak isteyen araştırmacılara yardımcı olması için buraya aktardık.

## SONUÇ

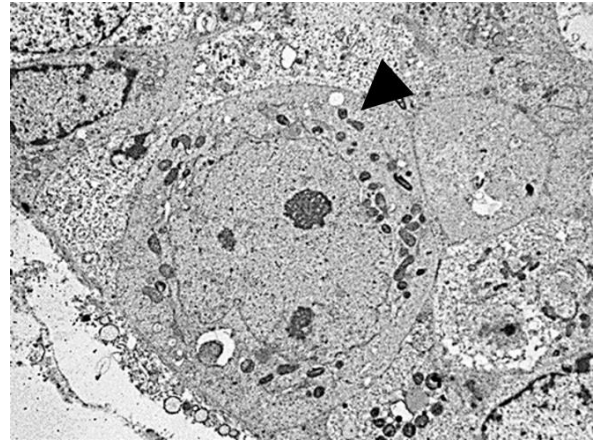
Epon yarı ince kesitler, parafin kesitlere oranla, testiküler hücrelerin değerlendirilmesinde daha uygun olduğunu gördük ve tez çalışmamızda tüm ışık mikroskobik değerlendirmelerimizi yarı ince kesitlerde yaptık (10). Tubular yapının gelişimi, seminifer tubulus çaplarındaki değişiklikleri (1) ve gonositlerin göçü, yerleşimi sırasında geçirilen proliferasyon değişikliklerini inceleyen araştırmacılar da ışık mikroskobik incelemelerinde yarı ince kesitleri kullanmıştır (11). Drumond ve ark. da immatür testiste SKH'lerin morfolojilerinin belirlenmesinde rezolüsyon gücü yüksek ışık mikroskobu kullanarak hücre detaylarının daha iyi görüntüleyebilmiştir (12).

## TEM İnce Kesitler

Gonositler, gelecekte tubulus lümenini oluşturacak alanda 1-2 iriyuvarlak hücre olarak görülür. Nukleuslar yuvarlak, 1-2 nukleolusludur. Spermatogonyum bazal membrana oturmadan yuvarlak olarak şekillidir. Geniş sitoplazmalı, ortada yuvarlak tek nukleus mevcuttur. Sitoplazmada nukleusta 1-2 adet nukleolus mevcuttur. Bazal membranla temas edip oturmaya başlayan spermatogonyumların bazal yüzeyi yassılaşıp genişler. Sertoli hücrelerine bakan yüzeyi yuvarlaktır. Sitoplazmada bol miktarda nukleus etrafına yerleşmiş mitokondriler, düz endoplazmik retikulum görülür. Nukleus tek, iri, santral yerleşimli, yuvarlak oval şekillidir. Nukleolus belirgindir.

Mitotik figürler görülebilir. Sertoli hücreleri, bazaldan lümeneye doğru uzanmaktadır. Sitoplazma membranları görülür. Sitoplazmada mitokondriler ve düz endoplazmik retikulumlar görülür. Nukleus açık renkli ovoid şekillidir.

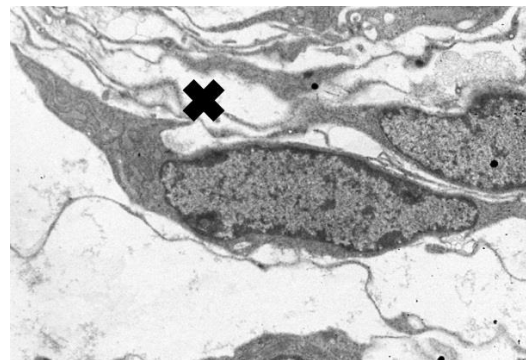
Nukleus ortasında bir çentik bulunmaktadır. Nukleusta 2-3 nukleolus bulunur. Perivasküler alanda Leydig hücreleri, makrofajlar, görülmektedir. Leydig hücrelerinin sitoplazmasında bol miktarda düz endoplazmik retikulum, tübüler kristal mitokondriler mevcuttur. Miyoid hücreler, bazal lamina boyunca bazal membran içine yerleşmiş olarak görülür (Şekil. 1a-b-c).



Şekil.1-a: X7500. Spermatogonyum (Okbaşı)



Şekil.1-b: X5000. Sertoli hücreleri (Yıldız), miyoepitel hücreleri (Ok).

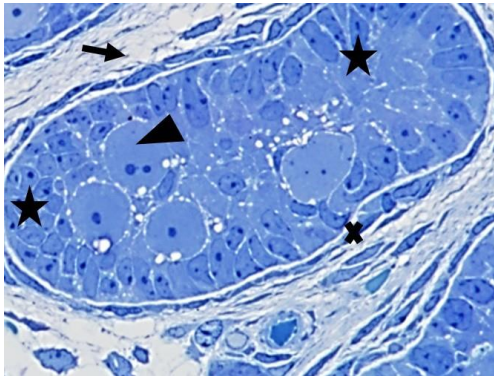


Şekil.1-c: X7500. İntertisyel alan Sertoli hücreleri (Çarpı).

### Yarı İnce Kesitler

İntra tubular alanda bazal membran üzerinde oval nukleuslu, uzun eksenleri bazaldan lümene doğru uzanmış Sertoli hücrelerinin nukleusları görülür. Sertoli hücrelerinin 1- 2 nukleolusları farkedilmektedir. Lümen bölgesinde yuvarlak nukleuslu, iri az sayıda hücreler mevcuttur.

Seminifer tubulusların lümen bölgesinde ve lümenden bazal membrana doğru ilerleyen gonositler mevcuttur. İri nukleuslu, nukleolusları belirgin, daha açık renk boyalı sitoplazmaları ve sitoplazma sınırları fark edilmektedir. Bazal membran çevresinde kesintisiz dizilmiş yassı miyoepitel hücreleri mevcuttur. İnterstisyel alanda uzun fuziform nukleuslu somatik Leydig hücreleri, makrofajlar, kapiller damar kesitleri rahatlıkla seçilmektedir. Hemen tüm kesitlerde Sertoli hücreleri ile spermatogonyumlar ayırt edilebilmektedir (şekil.2).



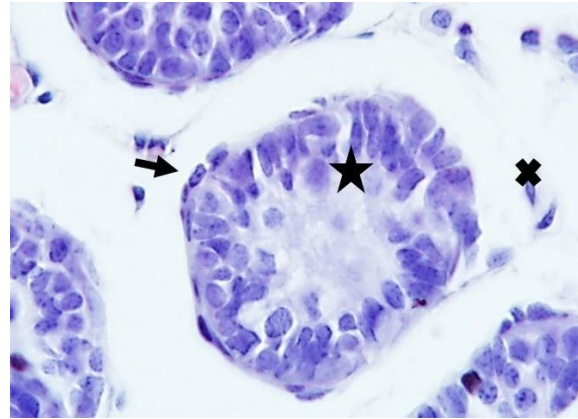
**şekil.2:** X40. Gonositler (okbaşı), Sertoli hücreleri (Yıldız), miyoepitel hücreleri (Ok), Leydig hücreleri (arpı). Toluidin mavisi.

### Parafin Kesitler

Seminifer tubuluslar ve interstisyel alanlar görülmektedir. İnatubular alanda bazal membran boyunca dağınık şekilde çok sayıda koyu boyanmış yuvarlak-oval nukleuslar görülmektedir. Sertoli hücreleri ve germ hücrelerinin tam ayrımı yapılamamaktadır.

Lümen bölgesinde de az sayıda nukleuslar bulunmaktadır. Bazal membran çevresinde yassı koyu boyalı nukleuslar mevcuttur. Bazal membran üzerinde dizilmiş dağınık çok sayıda uzun oval nukleuslar, bazılarında nukleolusları fark edilen nukleuslar görülmektedir.

Bazı nukleusların uzun eksenleri bazal membrana dik yerleşimlidir. Bazal membran çevresinde miyoepitel hücreleri dizilmiştir. İnterstisyel alanda oval ve uzun nukleuslu hücreler göze çarpmaktadır. Sitoplazma sınırları fark edilmemektedir (şekil.3).



**şekil.3:** X40. İnatubuler hücreler (Yıldız), miyoepitel hücreleri (Ok), Leydig hücreleri (arpı). Hematoksilen eosin.

Prepubertal testiste parafin 3µm kesitler hücrelerin morfolojik özelliklerini belirlemede yetersiz kalmaktadır. Sertoli hücreleri yığın halinde süperpoze görülmektedir. Spermatogonyumlar ile Sertoli hücreleri birbirinden tam ayırt edilememektedir. Germ hücrelerinin nukleus ve sitoplazmik morfolojik yapıları tam olarak tanımlayıcı olamamaktadır.

İmmatür sıçan testis dokularının ışık mikroskopik incelemesinde parafin blok kesitlerinin Sertoli ve SKH'lerinin ayrımında yetersiz kalabildiği, elektron mikroskopik yarı ince kesitlerin kullanımının uygun olacağını söyleyebiliriz. Ancak elektron mikroskobu doku takibi, epon blokların ve kesitlerin hazırlanması özel uygulama gerektirmesi nedeniyle elektron mikroskobu bulunan merkezlerde yapılabilmesi dezavantaj oluşturmaktadır.

**KAYNAKLAR**

1. Paniagua R, Nistal M. Morphological and histometric study of human spermatogonia from birth to the onset of puberty. *J. Anat.* 1984;139(3):535-552
2. Tam PP, Snow MH. Proliferation and migration of primordial germ cells during compensatory growth in mouse embryos. *J Embryol Exp Morphol.* 1981;64:133-47.
3. McLaren A. Primordial germ cells in the mouse. *Dev Biol.* 2003;262(1):1-15.
4. Thnen V, Ritzn EM, Nordqvist K, Wedell A. Male sex determination and prenatal differentiation of the testis. *Endocr Dev.* 2003;5:1-23
5. Ross MH, Pawlina W. *Histology: A Text and Atlas.* 6th ed. China. JB. Lippincott Company; 2011;784-828
6. Tegelenbosch RA, de Rooij DG. A quantitative study of spermatogonial multiplication and stem cell renewal in the C3H/101 F1 hybrid mouse. *Mutat Res.* 1993;290:193-200.
7. Russell LD, Ettlın RA, Hikim APS, Clegg ED. *Histopathological Evaluation of The testis.* 1st ed. Cache River Press; 1990
- A. T, Katagiri K, Kubota Y et al. In vitro sperm production from mouse spermatogonial stem cell lines using an organ culture method. *Nat Protoc.* 2013;8(11):2098-104
8. Lancaster MA, Knoblich JA. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies. *Science.* 2014;345(6194):1247125.
9. Kervancıoğlu G. İmmatr Sıan Testis Dokusunun, Fertilitenin Korunması Amacıyla Yavaş Dondurma Ve Vitrifikasyon Yntemleriyle Dondurup zme Sonrası Işık Ve Elektron Mikroskopik Olarak incelenmesi Ve Karşılaştırılması. İstanbul; Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2013.
10. Nagano R, Tabata S, Yoshihiko, Nakanishi Y, et al. Reproliferation and Relocation of Mouse Male Germ Cells (Gonocytes) During Prespermatogenesis. *The Anatomical Record.* 2000; 258:210-220
11. Drumond AL, Meistrich ML, Chiarini-Garcia H. Spermatogonyal mofrology and kinetics during testis development in mice: a high-resolution light microscopy approach. *Reprod Fertil.* 2011;142 (1):145-155