

لکتن هیستوشیمیایی اپی تلوم اپی دیدیم در موش

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

* استادیار گروه علوم تشریحی و ژنتیک، 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 اپی دیدیم پستانداران نر تشخیص داده شده اند. این سلولها در جذب مایع لومینال و ترشح گلیکوپروتئینهای مربوط به بلوغ اسپرم دخالت دارند. اهمیت گلیکوکانز و گه‌های در فرایند تکامل اسپرم‌ها در مطالعات فراوانی بررسی گردیده است. لکتن‌ها می‌توانند گلیکوکانز و گه‌های دارای قندهای انتهایی خاص را ردیابی نمایند.
هدف: این مطالعه توزیع گلیکوکانز و گه‌های دارای قندهای انتهایی خاص در سلول‌های نواحی مختلف اپی دیدیم و اسپرم‌های مجرای آن با استفاده از لکتن‌ها را بررسی می‌نماید.

مواد و روش‌ها: نمونه بافت اپی دیدیم از ۳۰ موش نر بالغ از نژاد BALB / c بدست آمده و پس از فیکساسیون و طی مراحل معمول آزمایشگاهی از بلوک‌های پارافینی بدست آمده، مقاطع بافتی با ضخامت ۵ میکرومتر تهیه شد. لام‌های تهیه شده با این روش با استفاده از روش لکتن هیستوشیمی تحت تاثیر لکتن‌های مختلف قرار گرفتند. سپس لام‌های تهیه شده با میکروسکپ نوری مورد بررسی قرار گرفته و شدت واکنش در سلول‌های مختلف ارزیابی و امتیاز بندی شد.
نتایج: سلول‌های قاعده‌ای به لکتن‌های SBA و MPA و سلول‌های اصلی به کلیه لکتن‌ها واکنش نشان داد. شدت واکنش در سلول‌های اصلی نسبت به لکتن‌های مختلف و به یک لکتن خاص نیز در نواحی مختلف اپی دیدیم متفاوت بود. سلول‌های باریک به لکتن‌های LTA و MPA و سلول‌های روشن به کلیه لکتن‌های مورد استفاده واکنش نشان دادند. غشاء پایه و بافت بینایی فقط به لکتن MPA واکنش دادند.
نتیجه‌گیری: اپی دیدیم گلیکوپروتئین‌های فراوانی در ارتباط با تکامل و بلوغ اسپرم‌ها می‌سازد. واکنش‌های مختلف در سلول‌های متفاوت نشان می‌دهد که محصولات ترشعی آنها با هم متفاوت است. احتمالاً گلیکوکانز و گه‌های ساخته شده در سلول‌های 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 لکتن خاص، به نقش بیشتر این سلول‌ها در جذب آب در سر و / یا ترشح گلیکوکانز و گه‌های در جسم اشاره دارد. عبور اسپرم‌ها از مجرا همراه با افزایش محتوی فوکوز و تغییراتی در محتوای قندهای دیگر می‌باشد.

کلید واژه‌ها: اپی دیدیم / لکتن‌ها / موش‌ها

مقدمه

اپی دیدیم نیز کاسته می‌شود (۳). سلول‌های قاعده‌ای (Basal cells)، به شکل گرد یا چند گوش (۱) و دارای ارگانل‌های سلولی اندک (۳) هستند که لایه‌ای قاعده سلول‌های اصلی قرار می‌گیرند و ممکن است که سلول‌های بنیادی برای ترمیم اپی تلوم 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 و سیتوپلاسم بازال گردن باریک یا ساقه‌ای دارد که معمولاً در قاعده قیفی

اپی تلوم اپی دیدیم در پستانداران از نوع مطبق کاذب استوانه‌ای است (۱) و از نظر مورفولوژی چند نوع سلول مختلف اپی دیدیم دارد (۲). سلول‌های اصلی (Principal cells) بیشترین جمعیت سلولی را تشکیل می‌دهند که ساختمان‌های استوانه‌ای بلند با هسته بیضی و کشیده هستند که در ۱/۳ قاعده‌ای سلول قرار می‌گیرند و در راس آنها استرئوسیلیاهای منظم و بلندی وجود دارد (۱). ارتفاع استرئوسیلیاها ۸۰ میکرومتر - در ناحیه سر - تا ۴۰ میکرومتر - در ناحیه دم - است. از ارتفاع سلول‌ها در طول

شکل و پهن می‌شود و نسبت به سلول‌های اصلی میکروویلی‌های کمتری دارند. محل استقرار آنها در سر و جسم اپی‌دیدیم است (۴). 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 و دم اپی‌دیدیم قرار دارد (۲ و ۴). در جوندگان و میمون‌ها، در حدود ۲٪ از کل جمعیت سلولی اپی‌تلیوم را لنفوسیت‌ها تشکیل می‌دهند (۳). نقش سلول‌های اصلی، جذب آب از برون ده بیضه‌ای باشد (۱ و ۵) حدود ۹۰٪ کل برون ده بیضه در اپی‌دیدیم جذب می‌شود (۱). همچنین این سلول‌ها، گلیکوپروتئین‌های ضروری را برای بلوغ اسپرم‌ها ترشح می‌کنند (۱، ۴ و ۵). وجود دستگاه گلژی بزرگ و تکامل یافته و نیز شبکه آندوپلاسمی صاف و خشن فراوان در سلول‌های اصلی، نشان‌دهنده سنتز فعالانه پروتئین توسط این سلول‌هاست (۶). 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 بیوشیمیایی و مورفولوژیک رخ می‌دهد. از جمله می‌توان به بروز تغییراتی در شکل آکروزوم، متابولیسم و کسب توانایی اسپرم در حرکت به جلو اشاره کرد. با انتقال در اپی‌دیدیم، سطح اسپرم نیز دچار تغییراتی می‌شود که شامل تغییرات ریز ساختمانی در غشاء پلاسمایی، تغییر در بار سطحی، آنتی ژنیسته 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 و بخصوص در غشای پلاسمایی آن می‌شود (۴).

یکی از روش‌های بسیار سودمند که در ارزیابی و نیز ردیابی

گلیکوکانژوگه‌هایی با قندهای انتهایی خاص استفاده می‌شود، روش لکتین هیستوشیمی است در سال ۱۹۸۰، لکتین‌ها به عنوان پروتئین‌هایی وصل شونده به کربوهیدرات‌ها شناخته شدند. این ترکیب‌ها، آنزیم یا پادتن نیستند ولی سلول‌ها را آگلوتینه می‌کنند و باعث جداسازی و رسوب پلی‌ساکاریدها یا گلیکوکانژوگه‌ها 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 انتهایی خاص در سلول‌های اپی‌تلیوم اپی‌دیدیم و نیز محتوای مجرای آن، این بررسی با استفاده از روش لکتین هیستوشیمی انجام شد.

مواد و روش‌ها

۱- روش تهیه بافت و آماده سازی مقاطع:

این بررسی بر ۳۰ موش مذکر بالغ و بارور ۲ تا ۴ ماهه از نژاد BALB/c، انجام شد که از مرکز سرم سازی رازی مشهد، تهیه شده بودند و به این ترتیب در شرایط استاندارد از نظر درجه حرارت، نور، غذا و آب قرار داشتند. پس از بی‌هوشی با کلروفورم، اپی‌دیدیم آنها خارج شد و به مدت ۴۸ ساعت در فیکساتیو B4G قرار داده شد. B4G شامل شش در صد کلرید جیوه، یک درصد گلو تار آلدئید و یک درصد استات سدیم است. pH این محلول باید ۶ باشد (۱۰، ۱۱ و ۱۲). پس از ثابت کردن مراحل آماده‌سازی معمولی، یعنی آب‌گیری در الک‌های صعودی، شفاف سازی در گزلیل، آغشته کردن و قالب‌گیری با پارافین، از بلوک‌های پارافینی به دست آمده، برش‌های ۵ میکرونی تهیه 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

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 در جدول 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) و از شرکت سیگما خریداری شده بود. پس از گذشت ۲ ساعت، 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 با pH=۲/۵ 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 (۴ و ۵) و Desantis (۱۴) برای هر یک نمره‌های صفر تا ۴+ منظور شد.

جدول ۱: انواع مختلف لکتین بکاربرده شده در مطالعه هیستوشیمیایی بیضه (۴، ۹، ۱۵).

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

Fuc=Fucose Gal= Galactose GalNAc=N-Acetylgalactosamine

نتایج

نتایج به دست آمده از واکنش در برابر لکتین‌های متفاوت در سلول‌های قسمت‌های مختلف اپی دیدیم در جدول شماره (۲) خلاصه شده است (تصاویر ۱ تا ۴). غشای پایه اپی دیدیم و ماتریکس بین لوله‌ای، به جز

لکتین MPA، به هیچ یک از لکتین‌ها واکنشی نشان نداد. لکتین MPA نیز از شدت واکنش‌ها از ناحیه جسم به سمت دم به مقدار قابل ملاحظه‌ای کاسته می‌شد.

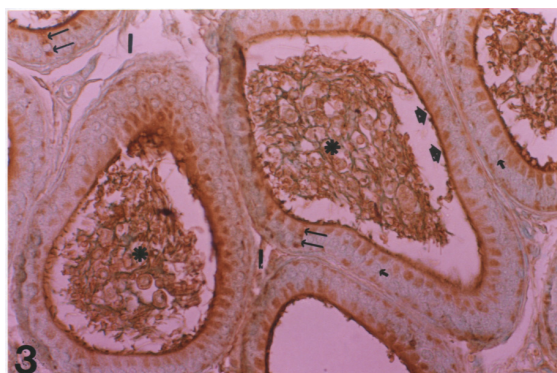
جدول ۲: واکنش بخش‌ها و سلول‌های مختلف در نواحی سر، جسم و دم اپی دیدیم به لکتین‌های مختلف

لکتین	بخش‌های مختلف	سلول‌های اصلی	سلول روشن	سلول فلاسک	سلول فاعده ای	اسپرهما	سطح راسی
		A.C	G.Z	B.C			
PNA	سر	-	-	-	-	++++	-
	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	-	-/+

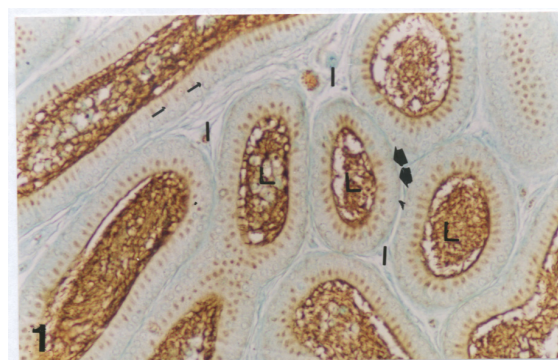
LTA	سر	-	-	-	وجود ندارند	+++	-	-	-
	جسم	-	+++	+	++/+++	+++	-	+++	++++
	دم	-	+/-	-	++++	وجود ندارند	-	+++	++++
UEA-I	سر	-/+	+ /++	+/-	وجود ندارند	-	-	-	-
	جسم	++	+++	++	++++/+++	-	+	++++	++++
	دم	-	-	-	++/+++	وجود ندارند	-	++++	++++

B.C = سیتوپلاسم قاعده‌ای G.Z = منطقه گلزی A.C = سیتوپلاسم راسی

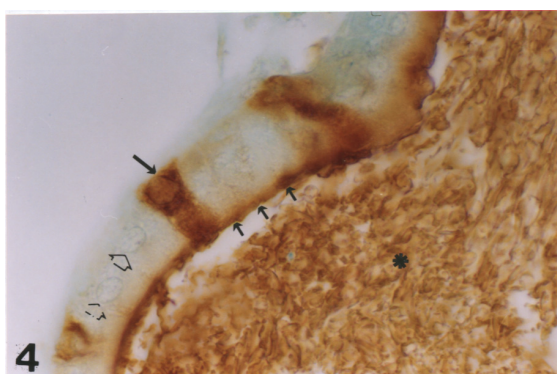
- : عدم واکنش + : واکنش ضعیف ++ : واکنش متوسط +++ : واکنش قوی ++++ : واکنش شدید



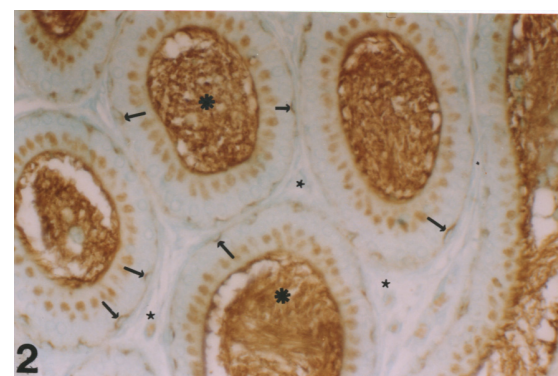
تصویر ۳: مقاطع ناحیه دم اپی‌دیدیم، رنگ‌آمیزی شده با لکتین MPA و آلسین بلو، بزرگنمایی ۱۰۰۰×، واکنش‌های متوسط تا قوی در سلول‌های روشن (پیکان‌های بلند) دیده می‌شود. ستاره بزرگ: مجرای لوله با اسپرم‌های لومینال پیکان کوچک: سلول اصلی پیکان پهن: استروسیلیاها و سطح لومینال.



تصویر ۱: مقاطع اپی‌دیدیم موش در ناحیه دم رنگ‌آمیزی شده با آلسین بلو و لکتین PNA، بزرگنمایی ۶۶۰×، واکنش اسپرم‌های لومینال و سطح لومینال اپی‌تلیوم و استروسیلیاها شدید است و در منطقه گلزی در سلول‌های اصلی واکنش‌های متوسطی ظاهر شده است. ستاره بزرگ: مجرای لوله با اسپرم‌های لومینال ستاره کوچک: بافت بینابینی پیکان کوتاه و پهن: غشای پایه لوله‌ها پیکان‌های باریک: منطقه گلزی در سلول‌های اصلی.



تصویر ۴: بخشی از مقطع عرضی اپی‌دیدیم در ناحیه دم، رنگ‌آمیزی شده با لکتین LTA و آلسین بلو، بزرگنمایی ۳۳۰×، واکنش شدید سلول‌های روشن (پیکان‌های بلند) و نبود واکنش سلول‌های اصلی مجاور (پیکان‌های توخالی) به خوبی دیده می‌شود. اسپرم‌های مجرا (ستاره) واکنش شدید و سطح لومینال اپی‌تلیوم و استروسیلیاها بسیار کوتاه در ناحیه دم نیز واکنش شدیدی نشان می‌دهد.



تصویر ۲: مقاطع جسم اپی‌دیدیم موش. رنگ‌آمیزی شده با لکتین SBA و آلسین بلو. بزرگنمایی ۱۳۲۰×، به واکنش قابل توجه سلول‌های قاعده‌ای (پیکان‌ها) توجه شود. ستاره بزرگ: مجرای لوله ستاره کوچک: بافت بینابینی.

بحث و نتیجه گیری

در حین عبور اسپرم‌ها از اپی دیدیم، گیرنده‌های لکتینی از نظر فراوانی و در دسترس بودن تغییر می‌کنند (۱۶) و به عبارت دیگر گلیکوکانژوگه‌های سطح اسپرم حین بلوغ در اپی دیدیم تغییر پیدا می‌کنند. این تغییرها با تکامل و عمل اسپرم‌ها رابطه نزدیک دارد (۶). از سوی دیگر نقش اپی تلیوم اپی دیدیم در ساختن و ترشح گلیکوپروتئین‌ها به داخل مایع لومینال غیر قابل انکار است (۴). در کنار 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 پلاسمائی اسپرم متصل می‌شوند (۴). تفاوت واکنش در برابر لکتین‌های مختلف نشان‌دهنده آن است که سلول‌های مختلف محصولات ترشحي متفاوتی دارند. به نظر نمی‌رسد که ساخت گلیکوپروتئین‌ها، توسط سلول‌های قاعده‌ای برای فعالیت ترشحي باشد، با توجه به این که این سلول‌ها به مجرای اپی دیدیم دسترسی ندارند و واکنش‌های ایجاد شده برابر لکتین‌ها نیز به غشای سیتوپلاسمی آنها محدود می‌شود. احتمالاً 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 لکتین SBA، در ناحیه جسم اپی دیدیم (تصویر ۲) به صورت یک لایه مداوم سلولی در زیر لایه سطحی به خوبی دیده می‌شوند.

بر اساس نتایج، گلیکوکانژوگه‌های دارای دی‌ساکارید انتهائی گالاتوز-ان استیل گالاتوزآمین به مقدار فراوان و پس از آن ترکیب‌های حاوی قند انتهائی ان استیل گالاتوزآمین در غشای این سلول‌ها وجود دارند قرار دارد (تصویر ۳).

واکنش سلول‌های اصلی به یک لکتین خاص در نواحی مختلف اپی دیدیم 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 سرایی دیدیم جذب می‌شود (۲)، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً، نقش این سلول‌ها در ناحیه سر بیشتر جذب مایع از مجراست در حالی‌که در ناحیه جسم با در نظر گرفتن بروز واکنش‌های گسترده، در زمینه ترشح گلیکوکانژوگیتها 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 (تصاویر ۱ و ۲). گلیکوزیلاسیون مواد ساخته 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 گالاتوز، فوکوز، ان استیل گالاتوزآمین و دی‌ساکارید گالاتوز-ان استیل گالاتوزآمین در این سلول‌ها ردیابی شدند.

سلول‌های فلاسک عمدتاً در ساختن گلیکوکانژوگه‌های دارای قند انتهائی فوکوزودی ساکارید گالاتوز-ان استیل گالاتوزآمین نقش دارند. واکنش‌های شدید و نیز مورفولوژی متفاوت آنها از سلول‌های اصلی که به ویژه در ناحیه سرایی دیدیم به وضوح مشاهده می‌شود، نشان می‌دهد که این سلول‌ها، گروهی متفاوت و مجزا هستند. واکنش سلول‌های روشن مستقر در نواحی جسم و دم اپی دیدیم نیز به نحو قابل توجهی با سلول‌های اصلی مجاورشان تفاوت دارد. این تفاوت بخصوص در لکتین‌های اختصاصی برای فوکوز برجسته‌تر است (تصویر ۴). 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 در انتقال اپی دیدیمی اسپرم‌ها،

واکنش‌ها برای هرگونه خاص حیوانی است. این نتیجه‌گیری از مطالعات Retamal (۱۶) نیز بدست آمده است. احتمالاً بخشی از این اختلاف‌ها مربوط به فیکساتیوی باشد که بکار برده شده است. مطالعات Soderstrom (۹) بروز واکنش‌های متفاوت در موارد کاملاً مشابه ولی با فیکساتیوهای مختلف را نشان داده است. **تقدیر و تشکر:** نویسندگان مقاله کمال تشکر و قدردانی خود را از حمایت مالی و همکاری صمیمانه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد ابراز می‌دارند و خدمات فنی خانم متجدد در کارهای آزمایشگاهی نیز قابل تقدیر است.

تغییراتی در محتوای قندهای دیگر نظیر ان استیل گالاکتوز آمین و دی ساکارید گالاکتوز- ان استیل گالاکتوز آمین بوجود می‌آید. مطالعه‌های گسترده‌ای با لکتین‌های کونژوگه بافلوروکرم و پراکسیداز بر اپی‌دیدیم انسان و انواع مختلف حیوانات نظیر اسب (۱۶)، قوچ (۱۸) و گراز (۱۹) 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

منابع

- Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE, Ferguson MWJ. Gray's Anatomy. 38th ed. New York; Churchill Livingstone, 1995: 1849-1853.
- Brown D, Montesano R. Membrane Specialization in the Rat Epididymis. II. The Clear Cells. Anat Rec 1981; 201:477-483.
- Weiss L. Histology: cell and tissue biology. 5th ed. New York; Elsevier Science. 1983:1004-104.
- Arya M, Vanha-Perttula T. Distribution of Lectin Binding in Rat Testis and Epididymis. Andrologia 1984; 16(6): 495-508.
- Arya M, Vanha-Perttula T. Lectin- Binding Pattern of Bull Testis and Epididymis. J Androl 1985; 6(4): 230-42.
- 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.
- Sinowatz F, Friess A. Localization of Receptors on Epididymal Spermatozoa Using a Colloidal Gold 7 Technique. Histochemistry 1983;79:335-344.
- Montreuil J, Vliegenthart JFG, Schachter H. Glycoproteins II. Amsterdam; Elsevier Science, 1997: 357,403.
- 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.
- 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.
- Fazel A R, Thompson R P, Sumida H, Schulte B A. Histochemistry of the Embryonic Heart: Expression of Terminal and Penultimate Galactose Residues in Developing Rats and Chicks. Am J Anat 1989; 184(1):85-94.
- Ganji FC, Fazel AR. Lectin-binding Pattern in the Microenvironment of the Mouse Developing T-Cell. Iranian Biomedical Journal 2003; 7 (1) : 19-22.
- Bancroft JD, Gamble M. Theory and Practice of Histological- Techniques. 5th ed. New York; Churchill Livingstone, 1991: 86-88.
- 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.
- Saez FJ, Aparicio R, Alonso E, Hernandez F. Glycan Residues of N- and O-linked Oligosaccharides in the Premeiotic Spermatogenic Cells and of the Urodele Amphibian Pleurodeles Waltl. Characterized by Means of Lectin Histochemistry. Tissue and Cell 2000; 32(4):302-311.
- Retamal C, Urzua J, Lorca C, Lopez ML, Alves EW. Changes in Plasma Membrane Protein of

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.

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.

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 glycoconjugates with specific terminal sugars.

Objective: This study surveys the distribution of glycoconjugates containing terminal sugars 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 μ m 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 secretes many sperm-maturation related glycoconjugates. Different reactions in different Probably synthesised 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 focus content increasing and alternation in other terminal sugars.

Keywords: Epididymis / Lectins/Mice

