



## Farklı Kedi Irklarının Testislerinde Sitokeratin 8'in İmmunohistokimyasal Lokalizasyonu

Uğur TOPALOĞLU<sup>1,a,✉</sup>, Zela KARAKOÇ<sup>2,b</sup>, Mehmet Erdem AKBALIK<sup>1,c</sup>, Berna GÜNEY SARUHAN<sup>1,d</sup>, Nurşin AYDIN<sup>1,e</sup>

<sup>1</sup>Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKİYE

<sup>2</sup>Dicle Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKİYE

<sup>a</sup>ORCID: 0000-0002-8306-491X; <sup>b</sup>ORCID: 0000-0002-0723-4059; <sup>c</sup>ORCID: 0000-0001-9898-0593;

<sup>d</sup>ORCID: 0000-0002-5111-5424; <sup>e</sup>ORCID: 0000-0003-0265-3163

Geliş Tarihi/Received  
22.04.2022

Kabul Tarihi/Accepted  
18.05.2022

Yayın Tarihi/Published  
30.06.2022

### Öz

İntermediyer filamanlar kökeni ve hücre tipi farklı proteinler tarafından oluşturulan hücre iskeleti bileşenlerine ait proteinlerdir. Bu proteinlerin testiste; Sertoli, peritübüler miyoid ve Leydig hücrelerinde bulunduğu bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı, testis fizyolojisi için önemli olan ve testisteki hücre iskeleti yapısına katılan sitokeratin 8 proteininin; İran, Ankara ve Van ırkı kedilerin testis dokusundaki lokalizasyonlarını immunohistokimya tekniğine göre ortaya koymaktır. Araştırmada sağlıklı yavru (dokuz çift) ve yetişkin (dokuz çift) kedilerden alınan doku örnekleri kullanıldı. Alınan doku örnekleri rutin histolojik işlemlerin ardından immunohistokimyasal streptavidin-biotin-peroksidaz kompleks boyama metoduna tabi tutuldu. Elde edilen boyama sonuçlarında, yavru ve yetişkin kedilerde incelenen alanlarda sitokeratin 8 immunoreaktivitesinin ırklara göre farklılık göstermediği saptandı. Bununla birlikte intersitisyel dokuda ve Leydig hücrelerinde immunoreaktivitenin negatif olduğu fakat Sertoli ve germ hücrelerinde ise çekirdek etrafında şekillendiği görüldü. Ayrıca epididimis ve deferens kanallarının epitellerinde de sitoplazma ve çekirdekte pozitif immunreaksiyonun olduğu belirlendi. Elde edilen bulgular sonucunda sitokeratin 8'in olgun kedilerde bir kısım farklılıkları türe özgü oluşturabildiği ve kedi testislerindeki bazı hücrelerin iskelet yapısına katılarak spermatogenezisin olgunlaşması, korunması ve spermilerin taşınması gibi önemli roller üstlenebileceği düşünülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Ductus deferens, epididimis, kedi, sitokeratin, testis.

### Immunohistochemical Localization of Cytokeratin 8 in Testes of Different Cat Breeds

#### Abstract

Intermediate filaments are proteins belonging to cytoskeletal components formed by proteins of different origin and cell types. These proteins are known to exist in the testis; Sertoli, peritubular myoid and Leydig cells. The aim of this study is to determine cytokeratin 8 protein, which is important for testicular physiology and participates in the cytoskeletal structure of the testis; To reveal the localization of Iranian, Ankara and Van breed cats in testicular tissue using immunohistochemistry technique. Tissue samples from healthy kittens (nine pairs) and adult (nine pairs) cats were used in this study. Tissue samples were subjected to immunohistochemical streptavidin-biotin-peroxidase complex staining method after routine histological procedures. In the staining results obtained, it was seen that cytokeratin 8 immunoreactivity in the examined areas in kittens and adult cats did not differ according to breeds. However, it was observed that immunoreactivity was negative in interstitial tissue and Leydig cells, but formed around the nucleus in Sertoli and germ cells. In addition, it was determined that there was a positive immunoreaction in the cytoplasm and nucleus in the epithelium of the epididymis and deferens ducts. As a result of the findings obtained, it was thought that cytokeratin 8 may cause some differences in mature cats and may play important roles such as the maturation of spermatogenesis, protection and transport of sperm by participating in the skeletal structure of some cells in the cat testicles.

**Key Words:** Cat, cytokeratin, ductus deferens, epididymis, testes.

### GİRİŞ

Hücre iskelet sistemi (sitoskeleton); mikofilamanlar, mikrotübüller ve intermediyer filamanlar olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır. İntermediyer filamanlar da kendi içerisinde desmin, vimentin, sitokeratin, glial ve nörofilamentler olarak sınıflandırılır. Sitokeratinler intermediyer filamanların en büyük ve en çok alt guruba sahip olan proteinler olarak bilinirler

(1). Sitokeratinlerdeki bu gruplandırma; küçük molekül yapısına sahip ve asidik olan Tip1 ile büyük molekül yapısına sahip ve bazik olan Tip2 olarak kendi içerisinde sınıflandırılır. Tek sıralı epitel dokusunda, Tip1 ve Tip2 proteinlerinin heteropolimerizasyon yoluyla sitokeratin filamanları oluşur. Sitokeratin 8 (St8) de bu yolla oluşan intermediyer filamanlardır. İntermediyer filamanlar, hücrenin kökenine bağlı olarak farklı hücrelerde yerleşim gösteren yapılar olup sitokeratinler genel olarak epitel farklılaşmasında görev alırlar (2,3).

Testislerin esas yapısını seminifer tubüller, Leydig hücrelerinde bulunduğu gevşek intersitisyel bağ dokusu oluşturur. Her seminifer tubül bir bazal membran, elastik lifler ve peritübüler miyoid hücrelerden oluşmaktadır. Seminifer tubül bazal membranı, içerisinde somatik Sertoli hücreleri ve germ hücrelerinden oluşan sütunlu bir epitel ile kaplanmıştır (4). Sütunlu epitelin bazal bölümü de Sertoli hücreleri ile birlikte spermatogonia ve preleptoten/leptoten spermatositleri içerir. Adluminal bölümünde ise farklılaşan primer spermatositler ve germ hücreleri yer alır (5). Spermlerin farklılaşması ve gelişmesinin ardından olgunlaşması, depolanması ve taşınması oldukça kıvrımlı bir tubüler yapı olan epididimis ve deferens kanallarında gerçekleşir (6).

İntermediyer filamanlar kökeni ve hücre tipi farklı proteinler tarafından oluşturulan ve testiste; Sertoli hücreleri, peritübüler-miyoid hücreler ve Leydig hücreleri dahil birçok hücre tipinde bulunan hücre iskeleti bileşenlerine ait proteinlerdir (7). Testiste seminifer tubülün yapısına katılan Sertoli hücreleri, bu fonksiyonunu gerçekleştirebilmek için iyi bir hücre iskeletine sahiptirler (8). Sertoli hücre sitoskeletonu seminifer epitelin karakteristik özelliklerinin birçoğunun üretiminden sorumludur. Hücre şeklinin belirlenmesi ve korunmasında, sitoplazma organellerinin taşınması ve konumlandırılmasında, plazma zarının oluşumunun belirlenmesinde, hücre-hücre içi, hücre-hücre dışı matris etkileşiminde yer alınmasında ve ayrıca seminifer epitelden spermlerin salınması ve germ hücrelerinin sabitlenme, taşınma ve konumlandırılmasında yer alır (9). Olgun hücrelerinde intermediyer filaman olarak yalnızca vimentin bulunurken, testislerin gelişimi ve Sertoli hücrelerinin olgunlaşması sırasında vimentin ile birlikte sitokeratinler ekspres edilir (1). Ancak Sertoli hücrelerinde sitokeratinlerin puberta ile birlikte ortadan kalktığı bildirilmiştir (8,10).

İntermediyer filamanlar ile ilgili insan, sıçan, köpek, tavşan, domuz, boğa ve koç testis ve epididimisinde pek çok çalışma yapılmıştır (7-9, 11-13). Ancak yapılan literatür taramalarında farklı irklarda yavru ve olgun kedilerin testis, epididimis ve deferens kanallarında St8'in karşılaştırmalı olarak varlığı ve lokalizasyonu ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu doğrultuda sunulan çalışma; İran, Ankara ve Van ırkı yavru ve olgun kedilerin normal testis dokusunda St8 proteininin olası varlığı ve dağılımının immunohistokimyasal yöntemle belirlenmesi amacıyla yapıldı.

## MATERYAL VE METOT

### Hayvan Materyali

Çalışma materyali Ankara, İran ve Van kedilerinden alınan 18 çift testis dokusu örneklerinden oluşmaktadır. Doku örnekleri, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Polikliniği ve çeşitli özel veteriner kliniklerine kısırlaştırma amacıyla başvuru kedilerden elde edildi. Ardından testisler, beyan edilen kedi yaşlarına göre iki gruba ayrıldı. Bir grupta 6 aylıktan küçük yavru kedilerden alınan dokuz çift olgunlaşmamış testis, diğer grupta 1 yaşından büyük yetişkin kedilerden alınan dokuz çift olgun testis yer aldı. Her iki gruptaki testis doku örneklerinin %10 nötr formalin içinde 24 saat süreyle tespiti yapıldı. Tespit işleminin sonrasında bir gece boyunca akan su altında durulandıktan sonra numuneler rutin doku

işlemine tabi tutuldu ve parafine gömülerek bloklar haline getirildi. Hazırlanan parafin bloklardan rotary mikrotom (Leica RM- 2125, Almanya) ile 5 µm kalınlığında seri kesitler alınarak adezivli lamlara yerleştirildi.

### İmmunohistokimyasal Prosedür

İmmunohistokimyasal boyama, streptavidin-biyotin-peroksidaz kompleks yöntemi kullanılarak yapıldı. Adezivli lamlara alınan seri kesitler, deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden sonra distile suda çalkalandı. Arkasında kesitler endojen peroksidaz aktivitesini gidermek için distile suda hazırlanmış %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile 20 dakika muamele edildi. Bunu takiben kesitler yıkamaya alındı. Her bir uygulamadan sonrasındaki yıkama işlemleri 0.01 M fosfat tamponlu tuz çözeltisinde [Phosphate buffer saline (PBS)] 3x5 dk. olacak şekilde yapıldı. Yıkamayı takiben, örnekler antijen retrieval işlemi için hazırlanan sitrat tamponunda (0.01 M, pH 6) 95 0C'de 15 dakika süresince kaynatıldıktan sonra soğumaya alındı. Ardından yıkama işlemi yapıldı ve kesitler, dokularda spesifik olmayan bağlanmaları bloke etmek için protein blocking çözeltisinde (Ultra V Blok, Thermo Fisher Scientific, Lab Vision Corporation) oda ısısında 15 dakika süreyle inkübasyona bırakıldı. Daha sonra kesitler, 1/100 oranında antikor (Mouse Monoclonal Antibody, sitokeratin 8, catalogue no: ab2530 Abcam) ile +4°C'de 1 gece süresince inkübe edildi. İmmunohistokimyasal prosedürün spesifitesi için bazı kesitler antikor yerine PBS ile inkübasyona bırakılarak negatif kontrol olarak değerlendirildi. Bu sürenin sonunda kesitler 3x5 0.01M PBS ile yıkandı. Sonrasında kesitler sırası ile 24 0C'de 20 dakika süresince biotinlenmiş sekonder antikorda (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) ve streptavidin-peroxidase (HRP) ile inkübe edildi. Bu işlemlerin de arasında ve sonrasında yine aynı şekilde kesitler 0.01M PBS 3x5 dk yıkandı. Bu işlemlerin takibinde kesitlerde ortaya çıkacak antijen-antikor reaksiyonlarını göstermek için diaminobenzidine (DAP) kromojende reaksiyon oluşturma süresine göre 5-10 dk bekletildi ve kesitler yıkamaya alındı. Ardından Mayer's hematoksileninde 2-3 dk süreyle zıt boyamaya tabi tutulan kesitler akar su altında mavileşinceye kadar yıkandı. Bu yıkama işleminin ardından kesitler alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek entellan (Merck, Darmstadt, Germany, Cat. No:107960) ile kapatıldı. Boyamalar sonrası preparatlar Nikon-Eclipse 400 DSRi Nikon dijital fotoğraf makinesi (NIS Elements Imaging Software (version 3.10) ataçmanlı araştırma mikroskobunda incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı.

### İmmunohistokimyasal Değerlendirme

İmmunohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesi, yoğunluk skoru (intensity score) ile semikantitatif olarak yapıldı. Boyanan hücrelerin boyanma şiddeti; (-) boyanma yok, (+) zayıf, (++) orta derecede, (+++) kuvvetli boyanma şeklinde belirlendi (14). Hücrelerdeki immunboyanma reaksiyonlarının boyanma yoğunluğu iki bağımsız araştırmacı (UT ve ZK) tarafından değerlendirildi ve iki gözlemcinin ortalama puanı hesaplandı. Testis, epididimis ve ductus deferente St8 lokalizasyonu X20, X40, X100 büyütmelemlerde ışık mikroskobu altında değerlendirildi.

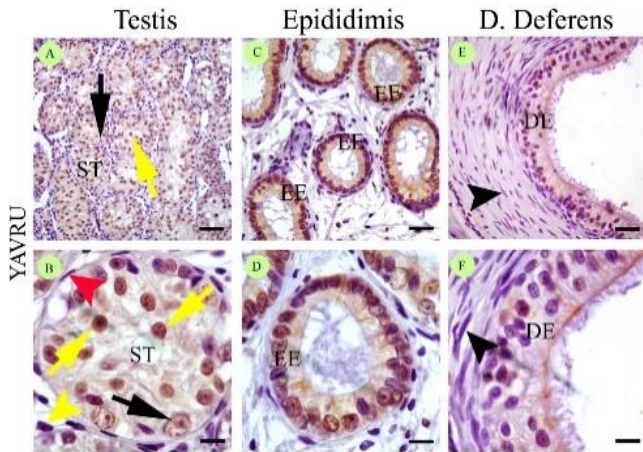
**BULGULAR**

Yavru ve olgun kedilerde testiste St8'in semikantitatif olarak değerlendirilen immunohistokimyasal bulguları Tablo 1'de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Yavru ve yetişkin kedi testislerinde sitokeratin 8'in immunohistokimyasal ekspresyon yoğunlukları

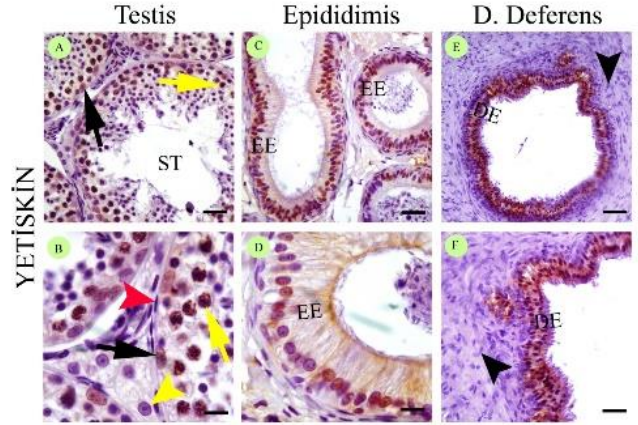
Gruplar	Organ/Bölmeler	Hücreler	Sitokeratin Lokalizasyonu
Yavru (6 aylıktan küçük)	Testis	Germ hücreleri	+++
		Sertoli hücreleri	++
		Leydig	-
		Miyoid hücreleri	-
	Epididimis	Epitel	++/+++
	D. deferens	Epitel	+
Yetişkin (1 yaşından büyük)	Testis	Germ hücreleri	+++
		Sertoli hücreleri	+++
		Leydig	-
		Miyoid hücreleri	-
	Epididimis	Epitel	++
	D. deferens	Epitel	++
		Düz kas hücreleri	-

Elde edilen bulgularda St8'in İran, Ankara ve Van ırkı kedi testislerinde benzer sonuçlar gösterdiği tespit edildi. St8 immunreaktivitesinin yavru kedilerde intersitisyel dokuda ve Leydig hücrelerinde şekillenmediği ancak Sertoli ve germ hücrelerinde ise çekirdek etrafında meydana geldiği belirlendi. Belirlenen bu immunreaksiyonun Sertoli hücrelerinde orta, germ hücrelerinde güçlü yoğunlukta olduğu görüldü. Ductus epididimis epitelinde görülen orta ve güçlü düzeye yakın şekilde görülen immunreaktivitenin apikal ve bazal sitoplazmanın yanında çekirdekte de olduğu tespit edildi. St8 immunreaksiyonunun ductus deferens epitelinin apikal sitoplazmasında ve çekirdek etrafında zayıf yoğunlukta meydana geldiği, kaslarda ve bağ dokuda ise negatif olduğu görüldü (Şekil 1).



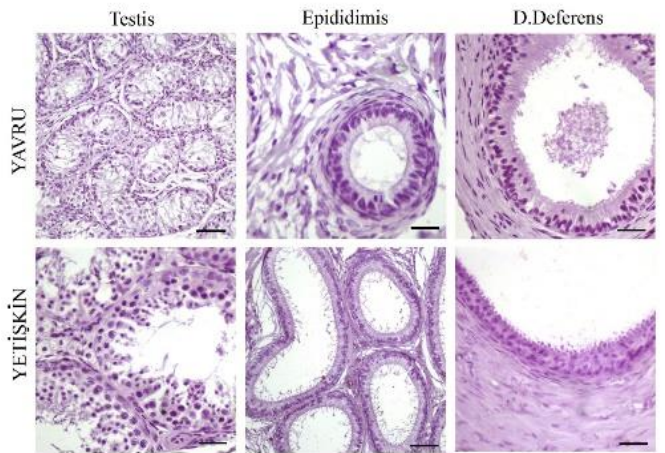
**Şekil 1.** Sitokeratin 8'in; Yavru kedilerin testis, ductus epididimis ve ductus deferensindeki immunoreaksiyonu. ST: Seminifer tubül, Siyah Ok: Sertoli hücresi, Sarı Ok: Germ hücresi, Sarı ok başı: Leydig hücresi, Kırmızı ok başı: Miyoid hücresi, EE: Epididimis Epiteli, DE: Deferens Epiteli, Siyah ok başı: Düz kas hücresi. Bar: 50 µm (A, C), 25 µm (E), 10 µm (B, D, F).

Olgun kedi testislerindeki St8 immunreaktivitesinin yavru kedilerde olduğu gibi intersitisyel dokuda, Leydig ve miyoid hücrelerinde şekillenmediği belirlendi. Fakat Sertoli ve germ hücrelerinde çekirdekte lokalize kuvvetli seviyede bir immunoreaktivite gözlemlendi. St8'in ductus epididimis epitelinin sitoplazma ve çekirdeğinde immunreaksiyon şekillendiği saptandı. Bu immunreaksiyonun apikal sitoplazmada yoğun, bazal sitoplazma ile çekirdekte ise orta düzeyde olduğu belirlendi. Ayrıca reaksiyonun sitoplazmaya kıyasla çekirdek etrafında daha yoğun olduğu görüldü. Bunlarla birlikte St8'in ductus deferens epitelinde yavru kediler ile benzer immunoreaksiyon oluşturduğu fakat reaksiyon şiddetinin ise daha yoğun olduğu belirlendi (Şekil 2).



**Şekil 2.** Sitokeratin 8'in; Yetişkin kedilerin testis, ductus epididimis ve ductus deferensindeki immunoreaksiyonu. ST: Seminifer tubül, Siyah Ok: Sertoli hücresi, Sarı Ok: Germ hücresi, Sarı ok başı: Leydig hücresi, Kırmızı ok başı: Miyoid hücresi, EE: Epididimis Epiteli, DE: Deferens Epiteli, Siyah ok başı: Düz kas hücresi. Bar: 50 µm (A, C, E), 10 µm (B, D), 25 µm (F).

Boyanmanın doğruluğunu kanıtlama bakımından primer antikor yerine PBS ile inkübasyona bırakılan negatif kontrollerde immunreaksiyon şekillenmediği görüldü (Şekil 3).



**Şekil 3.** Sitokeratin 8'in; yavru ve yetişkin kedilerin testis, ductus epididimis ve ductus deferenslerindeki negatif kontrol immunoreaksiyonu.

**TARTIŞMA VE SONUÇ**

Yetişkin Sertoli hücrelerinde intermediyer filamanlar, bazale yerleşmiş çekirdek etrafında ve plazma membranının belirli bölgelerine doğru yayılan yaygın sitoplazmik bir ağ oluşturur

(15). Epitel hücrelerinde baskın olan sitokeratinlerin aksine Sertoli hücrelerinde baskın olan intermediyer filaman vimentindir. Amlani and Vogl (11), fareler ile yaptıkları çalışmada Sertoli hücrelerindeki intermediyer filamanların spermatogenez sırasında değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir. Burada intermediyer filamanların, spermatogenezin erken evresindeki spermatitlerin apikal bölgelerinde iken spermatogenezin sonraki aşamalarında perinükleere yerleştiği ve zamanla her iki bölgede de varlıkları azalarak ortadan kaybolduklarını ifade etmişlerdir. Yapılan başka çalışmada sitokeratinlerin, Sertoli hücrelerinde fetal ve puberta öncesi dönemlerde vimentinle birlikte bulunduğu fakat puberta dönemi ile birlikte ortadan kalktığı belirtilmiştir (8). Stosiek ve ark (1990), fetal testislerdeki Sertoli hücre öncülerinin hem sitokeratin hem de vimentin içerdiğini ve fetal dönemin sonuna doğru sitokeratin pozitifliğinde bir azalmanın olduğunu ve doğum sonrası Sertoli hücrelerinde sitokeratin pozitifliği azalmaya devam ederek 14 günlük yaşa gelindiğinde ortadan kaybolduğunu bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada da bildirilen çalışmalara paralel şekilde yavru kedilerin Sertoli ve germ hücrelerinde St8'in pozitif bir immunreaksiyon oluşturduğu gözlemlendi. Ancak bazı araştırma bulgularının aksine, pubertaya girmiş olgun kedilerde de Sertoli ve germ hücre çekirdeklerinde St8 immunoreaktivitesi belirlenmiştir. Bu durumun çalışmada kullanılan St8 proteinin spesifik özelliklerine bağlı olabileceğinin yanı sıra türe özgü farklılıklardan kaynaklanabileceğini düşündürmüştür. Ayrıca kedilerdeki Sertoli hücrelerinin St8 intermediyer filamanlarını içermesi bu hücrelerin epitelyal kökenli olabileceği kanısına varırmıştır.

İnsan ve bazı hayvanların rete testis, duktuli eferentis ve duktus epididimis epitel hücrelerinin sitokeratin intermediyer filamanlarını içerdikleri bildirilmiştir (11, 17-20). İnsanlarda embriyonal dönemden erişkin döneme kadar yapılan çalışmada intermediyer filamanların erişkin testis ve epididimis dokularında pozitif reaksiyon verdiği, yetişkinlerde reaksiyonun apikal bölgede yoğunlaştığı bildirilmiştir (21). Kasper and Stosiek (22), yetişkin insanlarda epididimiste sitokeratinlerin epitel boyunca pozitif reaksiyon verdiğini bildirmişlerdir. Tavşan testis ve epididimisinde yapılan çalışmada rete testis epitelinde sitokeratin (sit. 8/18 ve sit. 5/6/18) immunoreaktivitesine rastlanılmadığı, duktuli eferentis ve duktus epididimis epitelinde ise pozitif immunreaksiyon belirlendiği bildirilmiştir (8). Wakui ve ark (13), köpeklerde rete testis ve epididimiste yaptıkları çalışmada epididimiste zayıf sitokeratinler ile vimentinin birlikte eksprese olduğunu, sitokeratinlerin hücrenin luminal kısmına yakın yoğunlaştığını bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada yavru ve olgun kedilerde ductus epididimis epitelinde bazal ve apikal sitoplazmada St8 immunoreaktivitesi belirlenmiştir. Böylece diğer çalışmalara paralel şekilde kedilerin epididimisinde St8 proteinin gözlenmesi, bu proteinin epididimiste hücre iskeleti yapısına katılarak spermlerin olgunlaşması, depolanması ve taşınması gibi fizyolojik süreçlerde önemli görevler üstlenebileceğini göstermektedir.

Sitokeratinlerin duktus deferentisteki varlığı ile ilgili literatür taramasında çalışmaların çok kısıtlı olduğu görülmüştür. Regadera ve ark (23), insanlarda fetal, çocukluk ve yetişkin dönemlerdeki ductus deferensin gelişiminde sitokeratinlerin immunboyama yoğunluğunun fetal dönemden yenidoğan

dönemine kadar arttığı, prepubertal dönemde dağılımda herhangi bir değişiklik olmadığı ancak pubertede önemli ölçüde arttığı ve yetişkin yaşamı boyunca da yüksek kaldığını bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada da görülen St8 immunreaktivitesinin yavru kedilere oranla olgun kedilerde daha yoğun gözlenmesi Regadera ve ark (23)'nin pubertede sitokeratinlerin önemli ölçüde arttığı bulgusunu desteklemektedir. Böylece St8'in kedi duktus deferens epitel hücrelerinin farklılaşmasına etki edebileceği ve buradaki fizyolojik sürece de katkı sağlayabileceği düşünüldü.

Sonuç olarak; intermediyer filamanlar arasında en çok çeşidi olan sitokeratinlerin, yapılan çalışmalarda fetal ve puberta öncesi dönemlerde testiste bulunduğu, pubertadan sonra ise özellikle Sertoli hücrelerinde ortadan kaybolduğu bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada ise yetişkin kedi testislerinde St8 immunoreaktivitesinin bulunması, bu sitokeratinin kedilere özgü olduğunu düşündürmüştür. Ayrıca kedilerin testis, epididimis ve ductus deferensinde St8'in bulunması diğer intermediyer filamanlar ile birlikte hücre iskeletinin yapısına katıldığını, spermlerin olgunlaşması, taşınması ve depolanmasında önemli görevler üstlendiğini akla getirmiştir.

#### ÇIKAR ÇATIŞMASI

Araştırmamızın herhangi bir kurum, kuruluş, kişi ile mali çıkar çatışması yoktur ve yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

#### KAYNAKLAR

- Cheville JC, Rao S, Iczkowski KA, Lohse CM, V. Pankratz VS. (2000). Cytokeratin Expression in Seminoma of The Human Testis. *Am J Clin Pathol.* 113:583-588.
- Tamai Y, Ishikawa T, Bösl MR et al. (2000). Cytokeratins 8 and 19 In The Mouse Placental Development. *The Journal of Cell Biology.* 151(3): 563-572
- Yılmaz S. (2021). A Novel Epithelial and Fibroblastic Cell Isolation and Purification Method Using Primary Culture of Bovine Tongue Tissue. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 27(6): 675-680.
- Wagner MS, Wajner SM, Maia AL. (2008). The Role of Thyroid Hormone In Testicular Development and Function. *J Endocrinol.* 199(3): 351-365.
- Mruk DD, Cheng CY. (2002). Sertoli-Sertoli and Sertoli-Germ Cell Interactions and Their Significance in Germ Cell Movement in the Seminiferous Epithelium during Spermatogenesis. *Endocrine Reviews.* 25(5):747-806.
- Topaloğlu U, Akbalık ME, Sağsöz H. (2021). Immunolocalization of Some HOX Proteins In Immature and Mature Feline Testes. *Anatomia, Histologia, Embryologia.* 50: 726-735.
- Çelenk F, Saruhan BG, Akbalık ME, Topaloğlu, Aydın N, Bayram B. (2021). Yetişkin Boğa ve Koçların Testis ve Epididimal Kanal Ünitesindeki Vimentinin İmmunohistokimyasal Dağılımı. *Dicle Üniv Vet Fak Derg.* 14(2):83-88.
- Beyaz F, Bayram GK, Alan E. (2009). Vimentin, Sitokeratin,  $\alpha$ -SMA ve Desmin'in Yeni Zellanda Tavşanı Testis ve Epididimisindeki İmmunohistokimyasal Ekspresyonu. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg.* 6(2): 111-119.
- Miguel MP, Bethencourt FR, Arenas MI, Fraile B, Paniagua R. (1997). Intermediate Filaments In The Sertoli Cells of The Ageing Human Testis. *Virchows Arch.* 431:131-138.
- Santiago J, Silva JV, Alves MG, Oliveira PF, Fardilha M. (2019). Testicular Aging: An Overview of Ultrastructural, Cellular, and

- Molecular Alterations. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 74 (6): 860-871.
11. Amlani S, Vogl AW. (1988). Changes in the Distribution of Microtubules and Intermediate Filaments in Mammalian Sertoli Cells During Spermatogenesis. *The Anatomical Record.* 220:143-160.
  12. Steger K, Schimmel M, Wrobel KH. (1994). Immunohistochemical Demonstration of Cytoskeletal Proteins In Seminiferous Tubules of Adult Rams and Bulls. *Arch Histol Cytol.* 57(1): 17-28.
  13. Wakui S, Furusato M, Shinichiro U, Kano Y. (1994). Coexpression of Different Cytokeratins, Vimentin and Desmin In The Rete Testis and Epididymis nn the Dog. *J Anat.* 184: 147-151.
  14. Akbalik ME, Sagsoz H, Erdogan S. (2015). Osteopontin Epression in the Intestine of Chukar Partridge (*Alectoris chukar*, Gray, 1830). *Animal Biology.* 65(3-4): 287-298.
  15. Dunleavy JEM, O'Bryan MK, Stanton PG, O'Donnell L. (2019). The Cytoskeleton in Spermatogenesis. *Reproduction.* 157 (2): R53-R72.
  16. Stosiek P, Kasper M, Karsten U. (1990). Expression of Cytokeratins 8 and 18 in Human Sertoli Cells of Immature and Atrophic Seminiferous Tubules. *Differentiation.* 43(1): 66-70.
  17. Lehtonen E. (1985). A Monoclonal Antibody Against Mouse Oocyte Cytoskeleton Recognizing Cytokeratin-Type Filaments. *J Embryo1 Exp Morpho.* 190:197-209.
  18. Park YJ, Kim JH, Kim HY et al. (2020). The Expression and Localization of V-ATPase and Cytokeratin 5 during Postnatal Development of The Pig Epididymis. *Asian-Australas J Anim Sci Vol.* 33(7) :1077-1086.
  19. Pecile A, Groppetti D, Pizzi G et al. (2021). Immunohistochemical Insights into a Hidden Pathology: Canine cryptorchidism. *Theriogenology.* 176: 43-53.
  20. Rogatsch H, Jezek D, Mikuz AHG, Feichtinger H. (1996). Expression of Vimentin, Cytokeratin, and Desmin in Sertoli Cells of Human Fetal, Cryptorchid, and Tumour-Adjacent Testicular Tissue. *Virchows Arch.* 427:497-502.
  21. Dinges HP, Zatloukal K, Schmid C, Mair S, Wirnsberger G. (1991). Co-Expression of Cytokeratin and Vimentin Filaments In Rete Testis and Epididymis. *Virchows Archiv A Pathol Anat.* 418:119-127.
  22. 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.* 257:661-664.
  23. Regadera J, España G, Roias MA, Recio JA, Nistal M, Suárez-Quian CA. (1997). Morphometric and Immunocytochemical Study of the Fetal, Infant, and Adult Human Vas Deferens. *Journal of Andrology.* 18(6): 623-636.

✉ **Sorumlu Yazar:**

Uğur TOPALOĞLU

Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKİYE

E-posta: ugur.topaloglu@dicle.edu.tr