

## Erkek Gonadda Primordiyal Kök Hücrelerin Spermatozoaya Dönüşümü

Gülnaz KERVANCIOĞLU<sup>1</sup>, Elif K. DEMİRCİ<sup>2</sup>

### Öz

Erkek üreme hücreleri embriyonal, fetal, post natal ve pubertal dönemlerden geçerek olgun spermatozoaya dönüşene kadar çok karmaşık bir süreçten geçmektedir. Üreme kök hücrelerinin erken embriyonal dönemde gonadlara göçü, seminifer tubulusların oluşması, kök hücrelerin tubuluslar içindeki yolculuğu olarak ve fetal dönem, doğum sonrası, prepubertal dönem ve puberte dönemlerinde farklılıklar göstermektedir. Üreme hücreleri farklı dönemlerde değişen morfoloji ve hücre aktiviteleri nedeniyle farklı isimlerle anılmaktadır. Hücrelerdeki değişikliklerle birlikte seminifer tübülüsler içindeki yerleşimleri de farklılıklar göstermektedir.

Erken embriyonal dönemde primordiyal germ hücreleri; sırasıyla gonositlere, gonositlerde seminifer tübülüs bazal membranına yerleştikten sonra spermatogonyuma dönüşür. Spermatogonyum, spermatogonyal kök hücrelerin prekürsörü ve spermatogenik serinin ana hücresidir. Üreme kök hücrelerinin morfoloji ve aktivite farklılıklarının fertilitate restorasyonunda da etkili olabileceği araştırılacak bir konu olarak karşımızda durmaktadır. Bu derlemede, kök hücreler farklı dönemlerdeki isimlendirilmeleri, yerleşimleri, gösterdikleri morfolojik özellikleriyle ilgili makaleler taranarak değerlendirilmiştir. Prepubertal dönemde onkoloji tedavisi görece erkek çocuklarda bu hücrelerin saklanması gerektiği için hücreler burada detaylı olarak irdelenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Gonosit, Spermatogonyal kök hücre, Prepubertal testis, Seminifer tübülüs

### Transformation of Primordial Stem Cells to Spermatosis in Male Gonad

#### Abstract

Male reproductive cells pass through several complex processes from embryonal, foetal, postnatal and pubertal periods to mature spermatozoa. The migration of reproductive stem cells to gonads differ in the early embryonic period as the formation of seminiferous tubules and as the migration of stem cells to the tubules, and the fetal, postnatal, prepubertal and puberty periods. Reproductive cells are referred to by different names due to their varying morphology and cell activities at different time intervals. Alterations in the cells also indicate differences in the locations of them within the seminiferous tubules. In the early embryonic period, the primordial germ cells derive into gonocytes, and thereafter gonocytes are placed in the basal membrane of the seminiferous tubules as spermatogonium. Spermatogonium is the precursor of spermatogonial stem cells and the maternal cell of the spermatogenic series. It remains to be investigated that the morphology and the activity differences of the reproductive stem cells may also be effective in the restoration of fertility. In this review, stem cells were evaluated by examining the articles related to their naming, localization, morfological properties at different terms. These cells are discussed in detail here since they must be preserved in prepubertal boys who will receive oncological therapy.

**Keywords:** Gonocytes, Spermatogonial stemcells, Prepubertal testis, Seminifer tubules

<sup>1</sup>İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD.

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD.

Yazışma Adresi: Dr. Gülnaz KERVANCIOĞLU, İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD. Beşyol Mah. İnönü Cad. No: 38, 34295 Küçükçekmece/İstanbul. gulnazkervancioglu@aydin.edu.tr  
Geliş Tarihi: 18 Haziran 2018; Kabul Tarihi: 10 Ağustos 2018

## Giriş

Erken embriyonal dönemde oluşan primordiyal germ hücreleri, erişkin insandaki olgun spermatozoayı oluşturana kadar son derece karmaşık ve uzun bir değişim sürecinden geçmektedir. Çocukluk çağında onkoloji tedavisi görece çocukların üreme kök hücrelerinin kriyoprezervasyonu söz konusu olmaktadır. Gonadotoksik tedavilerden sonra erişkin yaşa gelen erkek çocukların fertilitelerinin korunması için bu kök hücrelerin saklanması tek çözüm olarak görülmektedir. Aynı zamanda bu hücrelerin gelişimlerinin irdelenmesi, erişkin erkeğe bağlı infertilite nedenlerinin de anlaşılmasını kolaylaştıracaktır. Bu nedenle üreme kök hücrelerinin, erken embriyonal dönemde, fetal dönemde ve doğumdan sonraki dönemde testisteki yolculuğu ile geçirdikleri değişimin incelenmesi önem kazanmaktadır. Derlememizde, erkek üreme kök hücrelerinin ve testisin erken embriyonal dönemden başlayarak fetal, post natal, pubertal dönem ve erişkinde olgun spermatozoa oluşana kadar olan yolculuğu gözden geçirilmiştir.

## Embriyonal ve fetal dönemde testis gelişimi ve primordiyal germ hücreleri

Testisler embriyolojik olarak posterior abdominal duvarı döşeyen mezodermal epitel, bunun altındaki embriyonik bağ dokusu ve primordiyal germ hücreleri olmak üzere üç kaynaktan köken almaktadır. Erkek gonadı somatik hücre prekürsörleri, Sertoli hücreleri, Leydig hücreleri ve peritübüler miyoid hücreleri oluşturur. Sertoli hücreleri, testis yüzey mezodermal epitelinden gelişir (1). Kemirgenlerde Sertoli hücreleri, fetal dönemdeki proliferatif aktivitelerini yeni doğanda da sürdürür ve birkaç gün içinde bu aktivite giderek azalır. Bu dönem gonositlerde, yeni doğanda  $G_0$  fazından çıkıp proliferasyon göstermeye başladığı sürece karşılık gelmektedir (2).

İnsan embriyosunda, gonadların gelişimi beşinci haftada mezonefrozun medialinde mezotelin kalınlaşarak gonadal kabartıları oluşturmasıyla başlar. Epitelyal gonadal kordonlar parmak şeklinde alttaki mezenkim içine doğru ilerler. Farklaşmamış gonad taslağında dışta korteks, içte medulla oluşur. Medullanın gelişmesiyle testis oluşur. Gonadal kordonlar, seminifer tübül primordiyumlarına farklılaşırlar. Seminiferöz

kordonlar da seminifer tübüllere, tubuli rekti ve rete testise farklılaşır. Seminifer tübüller, interstisyel doku ile birbirlerinden ayrılır (1).

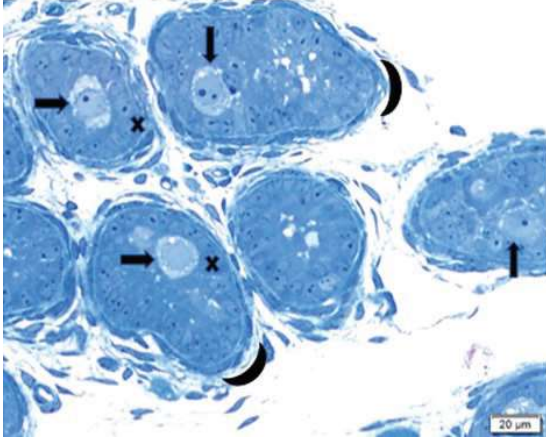
Primordiyal germ hücreleri, embriyonal dönemde kemirgenlerde ilk haftada, insanda dördüncü hafta başında allantoisin başlangıç yerine yakın epiblasttan göç eden hücrelerle oluşur (1,3). Primordiyal germ hücreleri, arka bağırsağın dorsal mezenteri boyunca gonadal kabartılara göç eder. Parmak şeklinde yüzeyel mezodermal epitelin alttaki mezenkim dokusu içine girerek oluşturduğu gonadal kordonlara dahil olur.

Embriyonal dönemde gonad taslaklarına göç eden primordiyal germ hücreleri, testiküler kordonları oluşturan Sertoli hücre öncülleri ve peritübüler myoid hücrelerin etkisiyle gonositlere dönüşür. Seminifer tübülsler morfolojik olarak fetal dönemde ve doğumda solid görünümündedir. Tübülüs lümeni, puberteden itibaren gelişir. İnsanda interstisyel alanda bulunan leydig hücreleri 8. haftadan itibaren androjenik hormonları salgılamaya başlar. Androjen mezonefrik kanalların ve dış genital organların erkek yönde farklılaşmasını uyarır.

## Yeni doğanda germ hücreleri; gonositler-spermatogonyumlar

Gonositler, germ hücreleri serisinin fetal ve yenidoğan dönemindeki formunu ifade etmektedir. Bu dönemde testiküler kordonların merkezinde bazal membrandan uzağa yerleşmiştir. Kemirgenlerde gonositler kısa bir proliferasyon sürecinden geçer, sonra  $G_0$  fazına girerek doğuma kadar sessiz kalır (3,4,5). Doğumdan sonraki beşinci güne kadar gonosit şeklinde olan kök hücreler, bu günden itibaren spermatogonyumlara (SG) dönüşmektedir. İnsanda da embriyonal dönemin yedinci haftasına kadar primordiyal germ hücreleri mevcuttur. Yedinci haftadan sonra primordiyal germ hücreleri seminifer tübülüs içine dahil olarak gonositlere dönüşmektedir. Gonosit dönemi fetal dönemin 20. haftasına kadar sürmektedir (6).

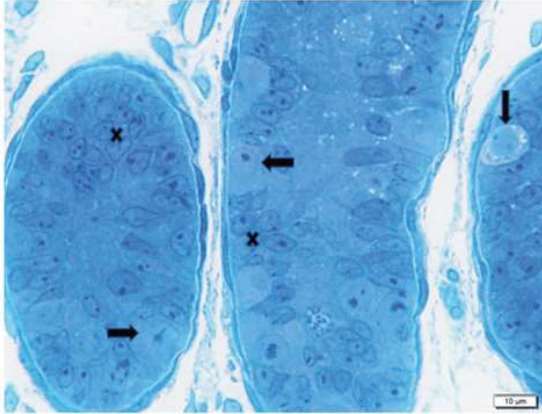
Yenidoğanda ve immatür testis dokusunda gonositler, seminifer tübülüslerin merkez bölgesinde yerleşimlidir. Tübülüs lümeninde bulunan yuvarlak şekilli iri hücrelerdir (Şekil 1). Daha sonra bazal membrana doğru göç etmeye ve aynı zamanda da proliferasyon başlar (7,8,9).



**Şekil 1:** Yeni doğan (0. gün) sıçanda testis yarı ince kesit.

Seminifer Tubülüsün (J) orta bölgesinde bulunan Gonositler (→), Sertoli hücreleri (x)

Kemirgenlerde, doğum sonrası 4-5. günde bazal membrana göç etmeye başlar. Bazal membrana doğru göç ederken sitoplazma, ilerleyeceği yöne doğru uzayıp psödopod oluşturarak hareket eder. 7-8. günde bazal membrana yerleşmeye başlar (Şekil 2).



**Şekil 2:** 7-8 günlük prepubertal sıçanda testis yarı ince kesit.

Bazal membrana yerleşmiş Spermatogonyum (→), Sertoli hücreleri (x)

Bazal membrana yerleşen hücreler artık SG'leri oluşturur. SG'ler mitoz bölünmelerle, kendini yenileme ve farklılaşma yeteneğine

sahip spermatogonyal kök hücreleri (SKH) oluşturmaktadır (2,9,10,11,12,13). İnsanda ise 2 yaş civarında, spermatogonyal süreç başlamakta ve puberteye kadar sürmektedir (6).

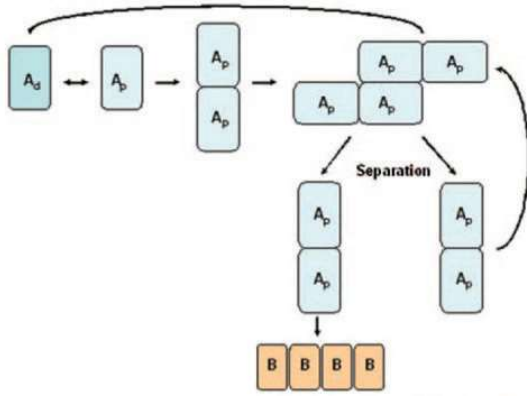
Gonositler göç esnasında A tek (As) veya izole (Ais) da denilen SG'ye dönüşür (9). Sıçanda gonositler bir hafta içinde yaklaşık 9 mitoz bölünme geçirir. Ancak henüz As SG'nin, proliferasyon gösteren SG'ye farklılaşmasının ya da kök hücre olarak kalıp kendisini yenilemesinin hangi mekanizma ile gerçekleştiği bilinmemektedir (14). As SG mitoz geçirerek birbirlerine hücreler arası köprü ile bağlı iki yavru A çift (Apr) SG'ye dönüşür. Bu hücreler de tekrar iki veya üç kere bölünerek A sıralı (Aal) SG'lere dönüşür ve bir hücre zinciri oluşturur. As, Apr, Aal SG'ler A farklılaşmamış (Aund) SG'yi oluşturur. Aund SG'ler proliferatif SG'lerdir. Doğumdan sonra 8. günde farede Aund SG hücrelerinin sayısı erişkindeki hücre sayısına ulaşır. Aal SG mitoz geçirmeden A1 tip SG'ye dönüşür. A1 tip SG altı kere mitoz bölünme geçirecek, A2, A3, A4 ve ara tip (In) SG'ler ve daha sonra B tip SG'leri oluşturur, bu hücreler farklılaşmış SG'lerdir. 10-12 günlük farede SKH kolonisi en yüksek seviyeye ulaşır. B tip SG bölünerek spermatositleri oluşturur ve mayoz süreci başlar (9), B tip SG, spermatogonyal fazın son hücresidir.

Rutin ışık mikroskopi incelemelerinde, nükleoplazmaları koyu ya da açık renk görünen A SG'ler mevcuttur. Koyu renkli SG'ler insan ve maymunda Ad koyu renkli SG olarak isimlendirilir. A SG'ler kendi içinde bu özellikleriyle birbirlerinden ayırt edilebilir. B tip SG'lerde de nükleus zarının iç yüzeyi boyunca yayılmış, değişen büyüklüklerde kromatin granülleri görülür. Merkezi yerleşimli nükleolusun etrafında da kromatin granülleri bulunur. A ve B tip SG'lerin sitoplazmaları farklılık göstermez, ancak nükleus özellikleriyle birbirinden ayırt edilir (15). SG nükleuslarının histolojik özelliklerine göre insan SG'leri üç grupta değerlendirilmektedir:

**1- Ad (koyu renkli) tip SG:** Seminifer tübülüslerin kök hücreleri olarak değerlendirilmektedir. Koyu renkli, yoğun bazofilik, ince granüler kromatinli ovoid nükleuslu SG'lerdir. Belirli aralıklarla bölünerek ya kök hücre olarak kalmaya devam eden Ad SG çiftini oluşturur ya da Ap SG çiftini oluşturur.

**2- Ap (açık renkli) tip SG:** Açık renkli hafif boyanan, ince granüler kromatinli ovoid nükleuslu SG'lerdir. Ap SG farklılaşarak spermatozoayı üretir. Ayrıca mitoz bölünmeler geçirerek kendini yenileyip sayısını artırabilir (12).

Gerektiği durumlarda Ad ve Ap SG'lerin karşılıklı olarak birbirine dönüşebilme özelliği vardır (16,17) (Şekil 3).



**Şekil 3:** Spermatojenetik kök hücrelerinin farklılaşması (17).

**3- B tip SG:** Nükleus yuvarlak olup, kaba kromatin yapısı vardır. Kromatin nükleus membranı boyunca ve merkezi nükleolus etrafında yoğunlaşmış olarak görülür (12).

Rezolüsyon gücü yüksek ışık mikroskobu kullanılmasıyla SG alt tiplerinin ayırt edilmesi ve böylece hücrelerin biyolojisini anlamak mümkün olmuştur (18,19).

### Prepubertal ve pubertal dönem; kan testis bariyeri

Prepubertal testiste, Sertoli hücreleri seminifer tübülüslerde SG'lerin bazala yerleşmesini sağlar. Sertoli-Sertoli arasında bazolateral yüzeyde, SG'lerin tamamen bazal membrana yerleşmesinden sonra sıkı bağlantılar gelişir. Bu sıkı bağlantılar bazal ve adluminal kompartman arasında kan-testis bariyerini oluşturur. Spermatojeniz başladığında preleptoten spermatositlerin, bazal kompartmandan adluminal kompartmana geçişi esnasında sıkı bağlantılar (20) geçişe izin vererek üçüncü bir kompartman olan geçici ara (intermediate) kompartmanın oluşmasını sağlar. Intermediate kompartman hücre geçişi esnasında oluşur. Sıkı

bağlantıların geçişe izin verme mekanizması henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Kan-testis bariyeri, kan ve lenf sıvısında bulunan toksik maddelerin tübülüs lümenine geçişini engeller. Aynı zamanda immunolojik bir bariyer fonksiyonuyla da oto-antikorların geçişini engeller. Sertoli hücrelerinin, sıkı bağlantı noktalarının üst kısmında kalan yüzeylerinden salgılanan sıvı adluminal kompartmanda toplanır. Doğumda mevcut olmayan tübülüs lümenini o dönemde Sertoli hücrelerinin sitoplazması doldurur. Sertoli hücrelerinden salgılanan sıvının geriye doğru akarak bazala geçişini kan-testis bariyeri engeller. Adluminal kompartmanda kalan sıvının basıncı seminifer tübülüs lümeninin oluşmasını sağlar. Seminifer tübülüs lümeninin gelişmesi, sıkı bağlantıların oluşması ile doğrudan ilişkilidir. Salgılanan bu sıvı spermatozoanın genital kanallardan geçişini kolaylaştırır (14).

### Erişkin testis; spermatogenetik seri ve sertoli hücreleri

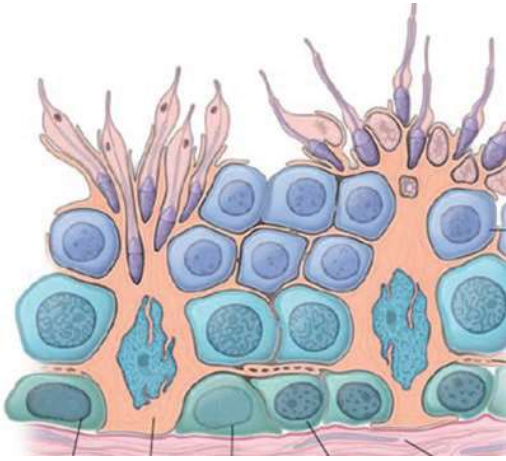
Testis en dışta kalın sıkı bağ dokusundan oluşan tunika albuginea çevrilidir. Kapsülün iç kısmı tunika vaskülosa gevşek bağ dokusundan oluşur. Buradan bezin içine doğru fibroz uzantılar yaparak testiste yaklaşık 250 adet testiküler piramidal bölmeleri oluşturur. Her bölmede 1-4 adet olmak üzere her testiste yaklaşık 250-1000 adet seminifer tübülüs yer alır. Seminifer tübülüsler arasında interstisyel alan bulunur. İnterstisyel alanda bulunan Leydig hücreleri polihedral hücrelerdir. Genellikle tek, bazen çift nükleusu bulunur (21,22).

Erişkin testis dokusunda seminifer tübülüsler, bazal membran, myoid hücreler ve lenfatik epitelin oluşturduğu sınırlayıcı doku ile interstisyumdan ve lenfatik alandan ayrılır. Düz kas özelliğindeki yassı myoid hücreler bazal membran boyunca kasılarak seminifer tübülüslerde spermatozoa ve sıvının hareket etmesini sağlar.

Seminifer tübülüslerde, Sertoli hücreleri ve spermatogenetik seri hücreler olmak üzere iki tip hücre bulunur. Sertoli hücreleri tübülüsta bazal membran (yüksekliği yaklaşık 90µm) üzerine dizilmiş destek hücrelerdir. Seminifer tübülüslerin yapısal organizasyonunu sağlar. Tübülüslerin kalınlığını oluşturur. Sertoli hücreleri vasküler alan ile germ hücreleri arasında köprü vazifesi gördüğü için "köprü hücreleri" olarak da isimlendirilir.



Rutin hematoksilen eozin boyası ile Sertoli hücre sınırları görülmez. Sertoli hücrelerinin nükleusları, 9-12µm çapında, açık renk, genellikle ovoid şekilli, nukleolusu merkezi yerleşimli ve hücrenin bazale yakın bölgesinde yerleşimlidir. Sertoli hücrelerinin yan yüzlerinde boylu boyunca spermatogenik seri hücreleri bulunur. Germ hücrelerini destekleyerek beslenmelerini sağlar ve aktif olarak spermatogenezde önemli rol oynar, spermatogenez yönetir (Şekil 4). Sertoli hücrelerinin fonksiyonları, fertilitenin korunması ve infertil testisin hücre transplantasyonu ile tekrar restorasyonunda oldukça önemli bir role sahiptir (12,14,15).



**Şekil 4:** Testis intratübüler hücrelerin yapısı (12).

Spermatogenetik seri hücreleri seminifer tübülüste 4-8 tabaka halinde sıralanır. Pubertede ya da cinsel olgunlaşma başladığında SG'ler mitoz ve mayoz bölünmeler geçirerek spermatogenez başlatır, olgun spermatozoayı oluşturur (14). SG, spermatositogenez ve spermiyogenez fazlarından geçerek olgun spermatozoayı oluşturur (12,14). Bu fazların toplamı spermatogenezdir. Spermatogenez süreleri türlere göre farklılıklar gösterir. Spermatogenez süresi, farklı sıçan cinslerinde 10-13 gün, Wistar cinsi sıçanlarda 13 gün, farede 12 gün (14), insanda net olmamakla birlikte 72 gün olarak kabul edilmektedir.

SG'ler diploid (2n) hücrelerdir. Mitoz bölünmeler geçirerek primer spermatozitleri oluşturur. Primer spermatozitler, mayoz bölünme geçirerek sekonder

spermatozitleri oluşturur. Sekonder spermatozitler kısa ömürlüdür, seminifer epitelde görmek zordur. Ancak kromozomlar replikasyon göstermeden süratle ikinci mayoz bölünmeyi geçirerek haploid (n) spermatidleri oluşturur. Spermatogenezde mitoz ve mayoz esnasında nükleus bölünür, ancak sitoplazmada modifiye bir bölünme gerçekleşir. Yeni oluşan iki hücre arasında sitoplazmik bir bağlantı kalır. Hücreler birbiriyle bu köprüler aracılığıyla ilişkidir. Bu bağlantı, hücrelerin senkron aktivite göstermesini sağlar.

Mayoz bölünme sonucu oluşan spermatidler, küçük, yuvarlak hücrelerdir. Tek bir A SG'den gelişen spermatidler, birbirleriyle sitoplazmik köprülerle bağlı küçük hücre grubu halinde, tübülüs lümenine yakın kısımda bulunur. Spermatidler spermiyogenezde golgi, akrozomal ve matürasyon fazlarını geçirerek olgun spermatozoayı oluşturur. Spermatozoa Sertoli hücreleri tarafından tübülüs lümenine salınır (spermiyasyon) (22).

#### **Sonuç**

Erken embriyonal dönemde primordiyal germ hücreleri, sırasıyla gonositlere, gonositler de seminifer tübülüs bazal membranına yerleştikten sonra spermatogonyuma dönüşür. Spermatogonyum, spermatogonyal kök hücrelerin prekürsörü ve spermatogenik serinin ana hücresidir. Başlangıçta iri yuvarlak olan kök hücreler pubertede spermatogenezin başlamasıyla küçük kuyruklu olgun spermatozoaya dönüşmektedir.

#### **KAYNAKLAR**

1. Moore K L, Persaud TVN. Klinik yönleriyle insan embriyolojisi (Çev: Dalçık H, Yıldırım M). s.244-283, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2009.
2. Nagano R, Tabata S, Nakanishi Y et.al. Reproliferation and relocation of mouse male germ cells (gonocytes) during prespermatogenesis. Anat Rec 2000; 258: 210-220.
3. 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

4. McLaren A. Primordial germ cells in the mouse. *Dev Biol* 2003; 262(1): 1-15.
5. Töhönen V, Ritzén EM, Nordqvist K et al. Male sex determination and prenatal differentiation of the testis. *Endocr Dev* 2003; 5: 1-23.
6. Martine Culty. Gonocytes, The Forgotten Cells of the Germ Cell Lineage. *Birth Defects Research (Part C)* 2009; 87: 1-26
7. de Rooij DG and Anton G J. Spermatogonial stem cells. *Current Opinion in Cell Biology* 1998; 10 (6): 694-701.
8. de Rooij DG, Russell LD. All you wanted to know about spermatogonia but were afraid to ask. *J Androl* 2000; 21(6): 776-98.
9. Drumond AL, Meistrich ML, Chiarini-Garcia H. Spermatogonial morphology and kinetics during testis development in mice: a high-resolution light microscopy approach. *Reproduction* 2011; 142: 145-155.
10. McGuinness MP, Orth JM. Reinitiation of gonocyte mitosis and movement of gonocytes to the basement membrane in testes of newborn rats in vivo and in vitro. *Anat Rec* 1992; 233: 527-537.
11. Oakberg EF. A new concept of spermatogonial stem-cell renewal in the mouse and its relationship to genetic effects. *Mutat Res* 1971; 11(1): 1-7.
12. Ross MH, Pawlina W. Male reproductive system. *Histology: A Text and Atlas*. 6th Edition, pp.784-828, China 2011.
13. 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.
14. Russell LD, Ettlín RA, Hikim APS, et al. *Histopathological Evaluation of The testis*. 1st Edition, pp.1-58, Cache River Press. 1990.
15. Bloom W, Fawcett DW. *A Textbook of Histology*. 11th Edition, pp.796-848, Saunders Company, Japan 1986.
16. van Alphen MMA, van de Kant HJG, de Rooij DG. Depletion of the spermatogonia from the seminiferous epithelium of the rhesus monkey after X irradiation. *Radiat Res* 1988; 113(3): 473-486.
17. Goossens E, Tournaye H. Adult Stem Cells in the Human Testis. *Semin Reprod Med* 2013; 31: 39-48.
18. Chiarini-Garcia H, Russell LD. High-resolution light microscopic characterization of mouse spermatogonia. *Biol Reprod* 2001; 65(4): 1170-8.
19. Chiarini-Garcia H, Raymer A M, Russell L D. Non-random distribution of spermatogonia in rats: evidence of niches in the seminiferous tubules. *Reproduction* 2003; 126: 669-680
20. Cheng CY, Mruk DD. Cell junction dynamics in the testis: Sertoli germ cell interactions and male contraceptive development. *Physiol Rev* 2002; 82(4): 825-874.
21. Junqueira LC, Carneiro J. *Temel histoloji* (Çev: Aytakin Y, Solakoğlu S) s.431-447, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2006.
22. Gartner LP, Hiatt JL. *Color Textbook of Histology*. 3th Edition, pp.489-510, Saunders Company, China, 2007.