

## Tav an Testis ve Epididimisinde Makrofajların mmunohistokimyasal Lokalizasyonu\*

Feyzullah BEYAZ, Güner KÜÇÜK BAYRAM, Emel ALAN  
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji Embriyoloji ABD, Kayseri-TÜRK YE

**Özet:** Çalı ma, tav an testis ve epididimisinde makrofajların varlı nı ve lokalizasyonunu immunohistokimyasal olarak belirlemek amacıyla planlanmı tır. Çalı manın materyalini 15 adet sağlıklı, eri kin, erkek Yeni Zellanda tav anından alınan testis ve epididimiler olu turdu. Makrofajların lokalizasyonunun belirlenmesi amacıyla strept-ABC immunohistokimyasal boyama tekni i uygulandı. Testisin intersitisyel dokusunda çok sayıda RAM11 pozitif makrofaj belirlendi. Bazı RAM11 pozitif makrofajların özellikle Leydig hücrelerine yakın olarak lokalize oldu u dikkati çekti. Seminifer tubül epitellerinde ise bazal yerle imli az sayıda RAM11 pozitif makrofaj tespit edildi. Epididimin intersitisyel dokusunda da çok sayıda RAM11 pozitif makrofaj belirlendi. Kaput, korpus ve kauda epididimiste tüm duktus epididimis boyunca, intraepitelial yerle imli RAM11 pozitif makrofajlar tespit edildi. Bu bulgulara ilaveten, duktuli eferentislerin epitelinde RAM-11 pozitif immunreaksiyon görüldü. Testiste ve epididimide CD68 için yapılan boyamalarda ise negatif immunreaksiyon belirlendi. Makrofajlar, tav an testis ve epididimisinin intersitisyumunda yaygın bir biçimde yerle im göstermektedir. Tav an testis ve epididimisinde belirlenen RAM11 pozitif makrofajlar muhtemelen insan ve kemirgenlerin testis ve epididimisindeki makrofajlarla benzer hücresel fonksiyonlara sahiptirler.

**Anahtar kelimeler:** Epididimis, makrofaj, RAM11, tav an, testis.

### The Immunohistochemical Localization of Macrophages in Rabbit Testis and Epididymis

**Summary:** This study was planned to determine the existence and localization of macrophages in rabbit testis and epididymis by using immunohistochemistry. The testis and epididymis patterns taken from fifteen healthy, adult, male New Zeland rabbits formed the material of our study. For the determination of the localization of macrophages, a strept-ABC immunohistochemical staining procedure was applied. Numerous RAM11 positive macrophages were determined in the intersitium of testis. Certain RAM11 positive macrophages were observed to be close to Leydig cells. In the epithelium of seminiferous tubules, few RAM11 positive macrophages that basally located were defined. A great number of RAM11 positive macrophages were also identified in the intersitium of epididymis. Intraepithelial RAM11 positive macrophages were found in overall ductus epididymis of caput, corpus and cauda epididymis. In addition these findings, a RAM11 positively immunoreaction was especially seen in epithelium of ductuli efferentis. However, the negative immunoreaction was determined in testis and epididymis in staining for CD68. The macrophages are widely localization in testis and epididymis of rabbit. Probably, RAM11 positive macrophages determined in the rabbit testis and epididymis possess the cellular functions similar to those testis and epididymis of human and rodents.

**Key Words:** Epididymis, macrophage, rabbit, RAM11, testis.

### Giri

Testisin, germ hücrelerinin üretilmesi ve cinsiyet hormonlarının yapılması olmak üzere iki ana fonksiyonu vardır. Pubertaya eri mi erkek bireyde, germ hücreleri mayoz bölünme geçirerek çe itli gelişim a amaları sonucunda ileri derecede özelle mi spermatozoanları ekillendirirler (1). Germ hücrelerinin gelişimi ve farklılaşması sırasında, çok sayıda hücre içi ve yüzeyine ait proteinler ortaya çıkarken, olu an bu otoantijenlere kar ı bir immunolojik yanıt olu maksızın tolerans ekillenir (5, 6, 29). Germ hücrelerine kar ı tolerans olu turulmasında Sertoli hücreleri ve peritübüler hücreler tarafından olu turulan kan-testis bariyerinin yanı

sıra makrofajların da önemli fonksiyonları bulunmaktadır (4, 8, 12, 16, 33)

Eri kin testislerinde, makrofajlar Leydig hücreleri gibi intersitisyel dokunun önemli hücrelerindedir (16, 25, 33). Testiküler makrofajlar, di er organların ba dokularında yerle im gösteren makrofajların genel özelliklerini içermekle birlikte, testise spesifik fonksiyonlara da sahiptirler (2, 4, 29). Makrofajlar, özellikle Leydig hücreleri ile morfolojik ve fonksiyonel açıdan yakın ili ki içerisindedirler (15, 17). Bu hücreler, Leydig hücre gelişimi ve eri kinlerde steroidogenesizin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadırlar (11, 34). Testiküler makrofajların sayısı, seminifer tübüllerin etkisinden ziyade direkt olarak Leydig hücre aracılı mekanizmalarla düzenlenmektedir (8, 9, 14). Bununla birlikte, testiküler makrofajlar salgıladıkları bazı mediyatörler yardımıyla Sertoli hücre fonksiyonu ve spermatogenezis üzerinde de etkili olmaktadır (13, 19, 29).

Geli Tarihi/Submission Date : 27.10.2009  
Kabul Tarihi/Accepted Date : 25.11.2009

\* Bu ara tırma EÜBAP- VA-07-07 nolu proje ile Erciyes Üniversitesi Bilimsel Ara tırma Birimi tarafından desteklenmi tir.

Testise ilaveten epididimislerin interstisyel dokusunda ve duktus epididimis epitellerinde de intraepitelyal makrofajların varlığı bildirilmiştir. Özellikle tubül epitelinde yerle en intraepitelyal makrofajların prensipal hücreler tarafından oluşturulan kan-epididimis bariyerine katkı yaptığı düşünülmektedir (6, 7, 18, 22, 24).

RAM11, tav an alveolar makrofajlara karşı farelerin immunizasyonu ile elde edilen bir monoklonal IgG1 antikor olup, tav an dokularının bağ dokularında yerle im gösteren makrofajların immunohistokimyasal lokalizasyonunun belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır (20). CD68 monosit ve makrofajların sitoplazmasında bulunan bir glikoprotein olup dokularda yerle im gösteren makrofajların belirlenmesinde kullanılmaktadır (27). Özellikle insan, fare ve sıçan testislerinde lokalize olan makrofajların yapısı ve fonksiyonlarıyla ilgili çok sayıda ara tırma bulunmaktadır (2, 3, 10, 23, 26). Buna karşın, yapılan literatür taramalarında tav an testis ve epididimisinde makrofajların varlığı ve lokalizasyonu ile ilgili herhangi bir ara tırmaya rastlanılmamıştır. Çalışmada, tav an testis ve epididimislerinde makrofajların varlığını ve lokalizasyonunu immunohistokimyasal olarak belirlemek amacıyla planlanmıştır.

### Gereç ve Yöntem

Çalışma materyal olarak, 15 adet sağlıklı, erkek, beyaz Yeni Zelanda tav anından temin edilen 30 adet testis kullanıldı (ERÜ Veteriner Fakültesi Etik Kurulu 10.04.2007 tarihli 13 toplantı sayılı, 2 karar nolu karar). Tav anlar, kas içi sodyum pentobarbital uygulaması ile ötanazi edildikten hemen sonra testisleri çıkarıldı. Testisler, epididimisin tam ortasından geçecek şekilde uzunlamasına bir ensizyonla ikiye ikiye parçaya ayrıldı. Bouine tespit solüsyonunda 12 saat süreyle tespit edilen dokular sırasıyla dereceli alkoller, metil benzoat ve benzol serilerinden geçirilerek parafinde blokladı. Parafin bloklardan adhesivli lamlara 5 µm kalınlığında alınan kesitlere, makrofajların testis ve epididimisteki lokalizasyonunun belirlenmesi amacıyla strept-ABC immunohistokimyasal boyama yöntemi uygulandı. Kesitler, endojen peroksidazın inaktivasyonu amacıyla metanolde hazırlanan %3'lük hidrojen peroksitte 20 dakika süreyle tutuldu. Ardından anti-CD68 primer antikorları için proteaz enzimi ile antijen retrieval işlemi uygulanırken, anti-RAM11 primer antikor için herhangi bir işlem uygulanmadı. Daha sonra, kesitler non-spesifik bağlanmaları engellemek için %10'luk keçi serumu (Labvision, Ultravision kit, TM-125-HL) ile 5 dakika süreyle muamele edildi. Bu işlemden sonra, monoklonal mouse anti-rabbit macrophages (1:200, DAKO, Kat No; M 0633,

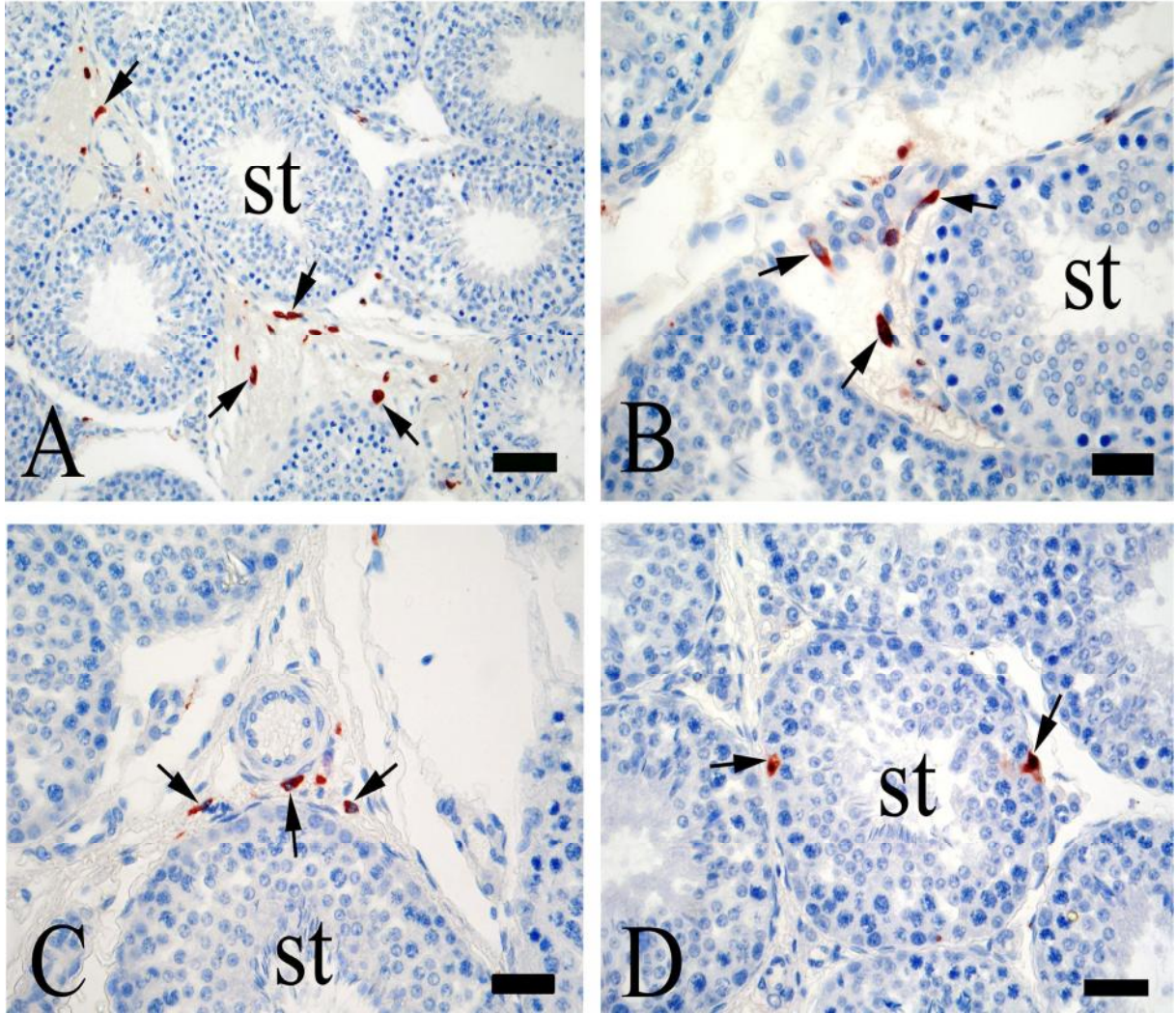
Klon; RAM11), monoklonal mouse anti-human CD68 (1:50, DAKO, Kat No; M 0718, Klon; EBM11), monoklonal mouse anti-human CD68 (1:50, Neomarkers, Kat No; MS 397, Klon; KP1) ve monoklonal mouse anti-human CD68 (1:50, Neomarkers, Kat No; MS 1808, Klon; PG-M1) primer antikorlarıyla kesitler 1 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Daha sonra, kesitler 20 dakika süreyle biotinli anti-mouse sekonder antikor (Labvision, Ultravision kit, TM-125-HL) ve 20 dakika süreyle de avidin-peroksidaz solüsyonlarıyla (Labvision, Ultravision kit, TM-125-HL) muamele edildi. Kesitlere, antijen-antikor reaksiyonunun görünlenebilmesi için 5-10 dakika süreyle 3-amino 9-etil karbozol (AEC) kromojeni (Labvision), ardından zemin boyaması için 2-3 dakika süreyle Gill'in hematoksileni uygulandı. Yıkamalar PBS (Phosphate buffer saline, 0.01 M, pH;7.4) ile yapılırken, tüm boyama işlemleri oda ısısında bir nem kamarası (Shandon, UK) içerisinde gerçekleştirildi. Pozitif kontrol olarak, tav anların dalak kesitleri kullanıldı. Negatif kontrol için primer antikorların yerine non-spesifik immun serum damlatılarak geriye kalan boyama işlemlerine normal boyamalarda olduğu gibi devam edildi.

### Bulgular

Yapılan immunohistokimyasal boyamalar sonucunda, tav an testisinin interstisyel dokusunda yerle im gösteren çok sayıda makrofajın sitoplazmasında RAM11 pozitif immunreaksiyon belirlendi (ekil 1A). interstisyel doku içerisinde RAM11 pozitif makrofajların Leydig hücreleri (ekil 1B), peritübüler hücreler ve kan damarları etrafında (ekil 1C) lokalize oldukları dikkati çekti. Bazı RAM11 pozitif makrofajların ise özellikle Leydig hücre kümeleri içerisinde yerle im gösterdiği görüldü (ekil 1B). Bazı seminifer tubüllerin epitelinde ise çok az sayıda RAM11 pozitif makrofajlar belirlendi (ekil 1D). Tubülus rektus ve rete testis epitelinde ve bu bölgelerdeki interstisyel dokuda ise RAM11 immunreaktivitesi gözlenmedi.

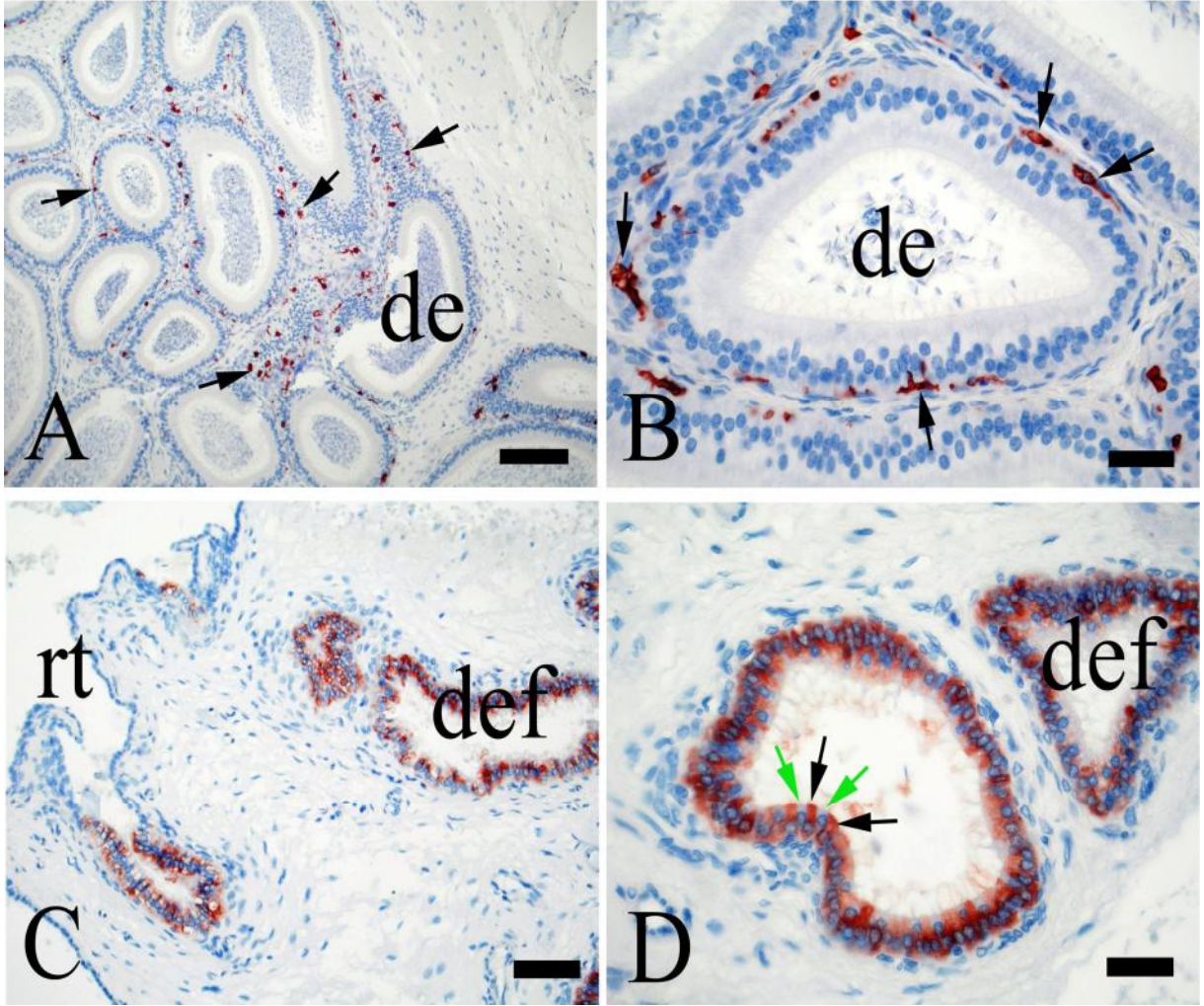
Epididimisin interstisyel dokusunda çok sayıda RAM11 pozitif makrofajların bulunduğu dikkati çekti (ekil 2A). Kaput, korpus ve kauda epididimiste tüm duktus epididimis kanalı boyunca epitel içerisinde intraepitelyal yerleimli RAM11 pozitif makrofajların olduğu görüldü (ekil 2B). Bununla birlikte, duktuli eferentis epitelinde RAM11 pozitif immunreaksiyon olduğu dikkati çekti (ekil 2C). Epitelde özellikle siliyalı hücrelerin sitoplazmalarında pozitif immunboyanma tespit edildi (ekil 2D).

Bununla birlikte, testiste ve epididimisteki CD68'in her üç klonu için yapılan boyamalarda negatif immunreaksiyon belirlendi.



**ekil 1.** Tav an testisinde makrofajların immunohistokimyasal lokalizasyonu, immunperoksidaz, AEC.

- A) Testisin intersitisyumunda lokalize olan RAM11 pozitif makrofajlar (oklar), st; seminifer tubüller, bar; 50  $\mu$ m.  
B) Leydig hücrelerine yakın yerle im gösteren RAM11 pozitif makrofajlar (oklar), st; seminifer tubüller, bar; 25  $\mu$ m.  
C) Kan damarı etrafında ve peritübüler alanlarda yerle im gösteren RAM11 pozitif makrofajlar (oklar), st; seminifer tubüller, bar; 25  $\mu$ m.  
D) Seminifer tubül epitelinde bazal yerle imli RAM11 pozitif makrofajlar (oklar), st; seminifer tubüller, bar; 25  $\mu$ m.



ekil 2. Tav an epididimisinde makrofajların immunohistokimyasal lokalizasyonu, immunperoksidaz, AEC.

- A) Epididimis intersitiumunda lokalize olan RAM11 pozitif makrofajlar (oklar), de; duktus epididimisler, bar; 100  $\mu$ m.  
 B) Duktus epididimis (de) epitelinde intraepitelial yerleşimli RAM11 pozitif makrofajlar (oklar), bar; 25  $\mu$ m.  
 C) Duktuli eferentis (def) epitelinde RAM11 pozitif immunreaksiyon, rt; rete testis, bar; 50  $\mu$ m.  
 D) Duktuli eferentis (def) epitelinde RAM11 pozitif hücreler (siyah oklar) ve negatif hücreler (yeşil oklar), bar; 25  $\mu$ m.

### Tartışma ve Sonuç

Beyin, göz, ovaryum, adrenal korteks, gebe uterus desiduası ve plasentanın fetal yarımı gibi bazı dokular ve organlar immunolojik açıdan özel yapılar olarak bilinmektedir (29). Belirgin lenf drenajına sahip olmamaları ve otoantijenlere karşı immun reaksiyon göstermemeleri nedeniyle bu organlar immunolojik açıdan özel yapılar olarak tanımlanmışlardır (5). Bununla birlikte, testis yapısında çok sayıda lenf sinuzoidleri içermesine karşın, immunolojik açıdan özel organlar grubuna dahil edilmemiştir. Kendi ürettiği germ hücrelerine karşı bir immun yanıt oluşturmadan bir tolerans geliştirmesi testise bu özelliği kazandırmıştır (6). Bu fonksiyon-

nun gerçekleştirilmesinde Sertoli hücreleri ve peritübüler hücreler tarafından oluşturulan kan-testis bariyerinin yanı sıra makrofajların önemli rolleri olduğu görülmüştür (4, 5, 29). Özellikle insan, fare ve sıçan testisleri üzerinde testiküler makrofajların yapısı ve fonksiyonlarıyla ilgili çok sayıda ara tırma yapılmıştır (2, 3, 10, 23, 26). Buna karşın, tav an testis ve epididimisinde makrofajların varlığı ve dağılımlarıyla ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Anti-RAM11 primer antikorunun yardımıyla makrofajların erişkin tav an testis ve epididimislerindeki varlığı ve lokalizasyonları immunohistokimyasal olarak ilk defa bu çalışmayla ortaya konulmuştur.

Testiküler makrofajlar, di er organların ba doku- larında lokalize olan makrofajların genel özellikleri- ne sahip olmakla birlikte, testise spesifik fonksi- yonlara da sahiptirler (4, 9, 16, 27). Özellikle, sıçan ve fare testisleri üzerinde yapılan ara tırmalar testiküler makrofajların Leydig hücre geli mi ve eri kinlerde steroidogenezi önemli rol oynadı ır nı göstermi tir. Elektron mikroskopik gözlemler sonucunda, Leydig hücreleri ve makrofajlar arasın- da parmak benzeri sitoplazmik ba lantıların oldu- u tespit edilmi tir. Bu durum iki hücre arasında yakın fonksiyonel bir ili ki oldu unu ortaya koy- mu tur (15, 17). Testiküler makrofajların sayısı ve geli mi direkt Leydig hücre aracılı mekanizmalarla ayarlanmaktadır (2). Makrofajların Leydig hücrele- riyle etkile imleri yanında, salgıladıkları bazı mediyatörler aracılı ıyla Sertoli hücre fonksiyonları ve spermatogenezis üzerinde de etkili olabildikleri anla ılmış tir (13, 16). Ara tırmalar, testiküler makrofajların Leydig hücrelerinin steroidogenik fonksiyonları üzerinde direkt uyarıcı etkisi olan 25- hidroksikolesterolü sentezledikleri ve salgıladıkları nı ortaya koymu tur (11, 17, 34). Testiküler makrofajların ayrıca tümör nekrozis faktör- (TNF- ), interlökin-1 (IL-1 ) ve interlökin-1 (IL-1 ) sitokinlerini sentezledikleri belirlenmi tir. Bu sitokinlerin, Leydig hücrelerinde steroidogenezi üzerinde düzenleyici etkilerinin oldu u tespit edil- mi tir (13, 19, 21, 30). Bununla birlikte, TNF- Sertoli hücrelerinde geli im faktörlerinin ekspres- yonunu ve germ hücreleri için önemli metabolitlerin üretimini artırılmasında rol oynadı ı bildirilmi tir (32). IL-1'in ise Sertoli hücrelerinde nitrik oksit, gama glutamil transpeptidaz ve laktat üretimini düzenledi i bilinmektedir (13, 31). Bunların yanı sıra, testiküler makrofajların, Leydig hücre fonksi- yonlarını önleyen hidrojen peroksit gibi reaktif oksij- en türlerini (ROS) de üretti i belirlenmi tir (11). Sunulan çalı ma, koç (26) ve kemirgenlerin (8, 10, 15, 19, 25) testislerine benzer ekilde makrofajların tav an testislerinin intersitisyumunda da yaygın bir biçimde yerle im gösterdikleri göster- mi tir. Özellikle, kemirgenlerin testisleri (8, 10, 15, 19, 26) için bildirilenlere benzer ekilde tav an testislerinde de makrofajların Leydig hücrelerine çok yakın olarak lokalize oldukları görülmü tür. Bu iki hücre arasındaki yakın yerle im, tav an testiküler makrofajlarının muhtemelen di er türlerin testislerindeki makrofajlarla benzer fonksiyonlara sahip oldu unu göstermektedir.

Eri kin testisinde, makrofajların intersitisyel doku- nun önemli hücreleri oldu u ve normal durumlarda bu hücrelerin sadece intersitisyel dokuda yerle im gösterdikleri bildirilmi tir (4, 12). Buna kar ın pato- lojik durumlarda ve mevsimsel üreyen hayvanların regresyona u ramı testislerinde makrofajların

germinal hücre katmanına girebilece i görülmü tür (8, 33). Farklı etiyojilere ba lı olarak spermatozisinde hasar olu mu insan testislerinde ise tubül epiteli içerisindeki CD68 pozitif makrofajların sayısında artı tespit edilmi tir (25). Sunulan çalı mada, bazı seminifer tubül epiteli içerisinde az sayıda RAM11 pozitif makrofajlara rastlanılmı tir. Bu durum, hasar görmü germ hü- crelerinin veya Sertoli hücrelerinin ortadan kaldırıl- ması için makrofajların seminifer tubül epitelleri içerisinde girmesi eklinde açıklanabilir.

Sunulan çalı mada sıçan ve insan epididimisine (22) benzer olarak tav anların kaput, korpus ve kauda epididimislerinde intersitisyel dokuda ve kanal epitelleri içerisinde çok sayıda intraepitelyal RAM11 pozitif makrofajlara rastlanılmı tir. ntraepitelyal makrofajların, kan-epididimis bariye- rine destek oldu u ve denatüre olmu spermatozonların ortadan kaldırılmasında rol oy- nadı ı dü ünülmektedir (18, 22, 28).

Lis ve ark., (2007) yaptıkları bir ara tırmada, tav- anların deri, oral mukoza ve özafagusunun çok katlı epitelinin bazal hücre katmanındaki hücrelerin bir makrofaj proteini olan RAM11 için üretilmi antikörlerle pozitif reaksiyon verdiklerini saptamı- tırlar. Sunulan ara tırmada, bu ara tırmacıların bulgularına (20) benzer olarak duktuli eferentlerin epitelinde özellikle siliyalı hücrelerde RAM11 pozi- tif immunreaktivite belirlenmi tir. Bu durum, siliyalı hücrelerin sitoplazmalarında RAM11 proteinini veya anti-RAM11 primer antikoruyla çapraz reaksi- yon veren ba ka bir molekülü içerdini göstermek- tedir.

Sunulan çalı mayla, tav an testis ve epididimisinde yerle im gösteren makrofajların RAM11 proteinini içerdini, özellikle insan makrofajlarında varlı ı bildirilen CD68 molekülünü ise içermeyi anla ılmış tir. Makrofajlar, tav an testis ve epididimisinin intersitisyumunda yaygın bir biçimde yerle im göstermektedir. Tav an testis ve epididimisinde belirlenen RAM11 pozitif makrofajlar muhtemelen insan ve kemirgenlerin testis ve epididimislerindeki makrofajlarla benzer hücre fonksiyonlara sahiptirler.

## Kaynaklar

1. Borg CL, Wolski KM, Gibbs GM, O'Bryan MK, 2009. Phenotyping male infertility in the mouse: how to get the most out of a 'non- performer'. *Hum Reprod Update*, 1: 1-20.
2. Bryniarski K, Szczepanik M, Maresz K, Ptak M, Ptak W, 2004. Subpopulations of mouse testicular macrophages and their immunoregulatory function. *AJRI*, 52: 27-35.

3. Bryniarski K, Szczepanik M, Ptak M, Wlodzimierz P, 2005. Modulation of testicular macrophage activity by collagenase. *Folia Histochem Cytobiol*, 43(1): 37-41.
4. Cohen PE, Nishimura K, Zhu L, Pollard JW, 1999. Macrophages: important accessory cells for reproductive function. *J Leukoc Biol*, 66: 765-772.
5. Fijak M, Meinhardt A, 2006. The testis in immune privilege. *Immunol Rev*, 213: 66-81.
6. Filippini A, Riccioli A, Padula F, Lauretti P, D'Alessio A, De Cesaris P, Gandini L, Lenzi A, Ziparo E, 2001. Immunology and immunopathology of the male genital tract: control and impairment of immune privilege in the testis and semen. *Hum Reprod Update*, 7 (5): 444-449.
7. Frenette G, Legare C, Saez F, Sullivan R, 2005. Macrophage migration inhibitory factor in the human epididymis and semen. *Mol Hum Reprod*, 11(8): 575-582.
8. Gaytan F, Bellido C, Aguilar E, van Rooijen N, 1994. Requirement for testicular macrophages in Leydig cell proliferation and differentiation during prepubertal development in rats. *J Reprod Fertil*, 102: 393-399.
9. Gaytan F, Bellido C, Morales C, Reymundo C, Aguilar E, van Rooijen N, 1995. Response to Leydig cell apoptosis in the absence of testicular macrophages. *J Reprod Immunol*, 29 (1): 81-94.
10. Giannessi F, Giambelluca MA, Scavuzzo MC, Ruffoli R, 2005. Ultrastructure of testicular macrophages in aging mice. *J Morphol*, 263: 39-46.
11. Hales DB, 2002. Testicular macrophage modulation of Leydig cell steroidogenesis. *J Reprod Immunol*, 57: 3-18.
12. Hedger MP, 2002. Macrophages and the immune responsiveness of the testis. *J Reprod Immunol*, 57: 19-34.
13. Hedger MP, Meinhardt A, 2003. Cytokines and the immune-testicular axis. *J Reprod Immunol*, 58: 1-26.
14. Hutson JC, 1990. Changes in the concentration and size of testicular macrophages during development. *Biol Reprod*, 43: 885-890.
15. Hutson JC, 1992. Development of cytoplasmic digitations between Leydig cells and testicular macrophages of the rat. *Cell Tissue Res*, 267: 385-389.
16. Hutson JC, 1994. Testicular macrophages. *Int Rev Cytol*, 149: 99-143.
17. Hutson JC, 2006. Physiologic interactions between macrophages and Leydig cells. *Exp Biol Med*, 231(1): 1-7.
18. Kazeem AA, 1988. A critical consideration of the rat epididymis as an immunologically privileged site. *Scand J Immunol*, 27: 149-156.
19. Kern S, Robertson SA, Mau VJ, Maddocks S, 1995. Cytokine secretion by macrophages in the rat testis. *Biol Reprod*, 53: 1407-1416.
20. Lis GJ, Litwin JA, Furgal-Borzych A, Zarzecka J, Cichocki, T, 2007. Macrophage-specific RAM-11 monoclonal antibody cross-reacts with basal cells of stratified squamous epithelia. *Folia Histochem Cytobiol*, 45(3): 229-232.
21. Lysiak JL, 2004. The role of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 in the mammalian testis and their involvement in testicular torsion and autoimmune orchitis. *Reprod Biol Endocrinol*, 2: 9-18.
22. Marchlewicz M, 2001. Localization of immunocompetent cells in the human epididymis. *Folia Histochem Cytobiol*, 39(2): 173-174.
23. Meinhardt A, Bacher M, Metz C, Bucala R, Wreford N, Lan H, Atkins R, Hedger M, 1998. Local regulation of macrophage subsets in the adult rat testis: examination of the roles of the seminiferous tubules, testosterone, and macrophage-migration inhibitory factor. *Biol Reprod*, 59: 371-378.
24. Nashan D, Malorny U, Sorg C, Cooper T, Nieschlag E, 1989. Immuno-competent cells in the murine epididymis. *Int J Androl*, 12(1): 85-94.
25. Niemi M, Sharpe RM, Brown WRA, 1986. Macrophages in the interstitial tissue of the rat testis. *Cell Tissue Res*, 243: 337-344.
26. Pöllänen P, Maddocks S, 1988. Macrophages, lymphocytes and MHC II antigen in the ram and the rat testis. *J Reprod Fert*, 82: 437-445.

27. Rival C, Theas MS, Suescun MO, Jacobo P, Guazzone V, van Rooijen N, Lustig L, 2008. Functional and phenotypic characteristics of testicular macrophages in experimental autoimmune orchitis. *J Pathol*, 215: 108-117.
28. Serre V, Robaire B, 1999. Distribution of immune cells in the epididymis of the aging Brown Norway rat is segment-specific and related to the luminal content. *Biol Reprod*, 61: 705-714.
29. Schuppe HC, Meinhardt A, 2005. Immune privilege and inflammation of the testis. *Chem. Immunol Allergy*, 88: 1-14.
30. Suescun MO, Rival C, Theas MS, Calandra RS, Lustig L, 2003. Involvement of tumor necrosis factor- in the pathogenesis of autoimmune orchitis in rats. *Biol Reprod*, 68: 2114-2121.
31. Weissman BA, Niu E, Ge R, Sottas CM, Holmes M, Hutson JC, Hardy MP, 2005. Paracrine modulation of androgen synthesis in rat Leydig cells by nitric oxide. *J Androl*, 26 (3):369-378.
32. Xiong Y, Hales DB, 1993. The role of tumor necrosis factor- in the regulation of mouse Leydig cell steroidogenesis. *Endocrinology*, 132: 2438-2444.
33. Yee JB, Hutson JC, 1983. Testicular macrophages: isolation, characterization and hormonal responsiveness. *Biol Reprod*, 29: 1319-1326.
34. Zirkin BR, Chen H, 2000. Regulation of Leydig cell steroidogenic function during aging. *Biol Reprod*, 63: 977-981.

**Yazı ma Adresi:**

Yrd. Doç. Dr. Feyzullah BEYAZ  
Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı  
Barı Manço Cad. No.1 Kocasinan/KAYSER  
Tel: 352 3380006-155  
E-Mail: fbeyaz@erciyes.edu.tr