

KASTRASYONUN VE TESTOSTERON'UN ERKEK KUZULARIN HİPOFİZ BEZİ ÖN LOBU HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNE İLİŞKİN BİR ÇALIŞMA

Haluk Keleştimur*

Aydın Girgin**

A study associated with the effects of castration and testosterone on the cells of the anterior lobe of the pituitary in ram lambs

Summary: *The present experiment was made to investigate the histological changes occurring in the cells of the anterior lobes of the pituitaries in wethers and testosterone-treated wethers.*

Twenty two Akkaraman ram lambs, which were approximately 2.5 months old, were used in a 7 month experimental period. At the beginning of the study, lambs were divided into three groups; Group 1 (rams) was left intact, Group 2 (wethers) and Group 3 (testosterone-treated wethers) were castrated. The animals of Group 3 were injected subcutaneously with 10 mg testosterone propionate every other day throughout the experimental period.

The basophils (beta cells) of the anterior lobes of wethers and testosterone-treated wethers, which are responsible for secreting luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) showed hypertrophy. There was no histologically any other significant change.

In conclusion, testosterone is not said to have a direct effect on the basophils secreting LH and FSH in the anterior lobes of the pituitaries of Akkaraman ram lambs.

Özet: *Bu araştırma, kastre edilen ve kastre edildikten sonra testosteron verilen erkek kuzuların hipofiz bezi ön lobu hücrelerinde meydana gelen histolojik değişiklikleri gözlemek amacıyla yapıldı.*

Araştırmada yaklaşık 2,5 aylık 22 baş Akkaraman erkek kuzusu kullanıldı. Birinci grup kontrol grubu olarak bırakıldı. İkinci ve üçüncü gruplardaki hayvanlar ise araştırmanın başlangıcında kastre edildiler. Üçüncü gruptaki kastre edilmiş olan kuzulara gün aşırı 10 mg testosteron propionate deri altı enjekte edildi. Araştırma 7 ay süre ile yürütüldü.

*: Dr., F.Ü., Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Bilim Dalı, Elazığ.

** : Dr., F.Ü., Veteriner Fakültesi, Morfoloji Anabilim Dalı, Elazığ.

Kastre edilen ve kastre edildikten sonra testosteron hormonu verilen kuzuların hipofiz bezlerinin ön loblarına ait, luteinizan hormon (LH) ve follikül stimüle edici hormonlarını (FSH) salgılamaktan sorumlu olan bazofil hücrelerinde kastre edilmeyenlere göre bir hipertrofi gözlemlendi. Bunun dışında histolojik olarak önemli bir değişiklik gözlemlenmedi.

Sonuç olarak, testosteron hormonunun hipofiz ön lobunda LH ve FSH salgılayan bazofil hücreleri üzerinde doğrudan bir etkiye sahip olduğu söylenemez.

Giriş

Hipofiz yaşam için çok gerekli endokrin bir bezdir. Her türlü canlıda kuşak boyu hayatın sürüp gitmesi, hipofizin üreme organlarındaki hücrelere yaptığı hormonal etki ile gerçekleşmektedir (18).

Evcil hayvanlarda üreme fonksiyonunun düzenlenmesinde çok önemli görevlere sahip olan hipofiz ön lobu, histolojik olarak üç ayrı kısımdan meydana gelmektedir. Bunlar; pars anterior (pars distalis), pars tuberalis ve pars intermedia'dır (18, 21). Birçok hayvanda pars anterior ile pars intermedia arasında yarık şeklinde bir boşluk mevcuttur. Buna hipofiz boşluğu adı verilmiştir (7). Üreme fonksiyonu yönünden başlıca öneme sahip olan pars distalis, kromofil ve kromofob olarak iki ayrı hücre grubunu kapsar. Diğer bazı hormonların yanı sıra, LH ve FSH gibi gonadotropin hormonlarını da salgılamaktan sorumlu bazofil olan gruptur. LH ve FSH hormonlarının aynı bazofil hücre grubu tarafından salgılandığı kabul edilmektedir (21). Bazofil hücrelerin periyodik asit-Schiff (PAS) reaksiyonu pozitiflik gösterir (8).

Testislerden testosteron ve diğer androjenlerin salgılanması büyük ölçüde hipotalamusun kontrolü altında ön hipofizden salgılanan gonadotropik hormonların etkileri ile düzenlenir. Hipotalamus'tan salgılanan gonadotropin serbest bırakıcı hormon (GnRH), hipofiz ön lobundan follikül stimüle edici hormonun (FSH) ve luteinizan hormonun (LH) salgılanmasına neden olur (1). Genç erkek kuzularda hipofiz bezinin çıkarılması testislerin gelişmesini durdurur ve spermatogenesis olayının başlamasına engel olur. Hipofizektomi uygulanan bu hayvanların LH ve FSH ile tedavi edilmeleri ise bu etkileri ortadan kaldırır (17). Hipofiz ön lobundan salgılanan LH'nin testislerde leydig hücreleri, FSH'nin ise sertoli hücrelerinin normal fonksiyonları için zorunlu oldukları bilinmektedir (1).

Fötal hayatın başlangıcında artmış olan hipofiz ön lobunun gonadotropik fonksiyonu giderek azalır ve doğumdan sonra ortadan kalkar. Puberte dönemine kadar gonadotropinler çok az miktarlarda salgılanırlar. Pubertenin başlamasıyla birlikte gonadotropin salgılanması da tekrar artar (11). Webb (20), ön hipofizde gonadotropinleri salgulamaktan sorumlu olan hücrelerin fötal hayatın başlangıcında aktif olduklarını ve gebeliğin sonuna doğru ise sekretorik aktivitelerini önemli ölçüde kayb ettiklerini, ayrıca, LH ve FSH salgılayan bu hücrelerin başlangıçta köşeli veya yıldız şeklinde iken, sonraları yuvarlaklaşarak genişlemiş olduklarını bildirmiştir.

Preston ve ark. (15), kastre edilen erkek kuzuların kastre edilmeyenlere göre daha büyük ve ağır hipofiz bezine sahip olduklarını vurgulamışlardır. Caraty (3), kastrasyondan sonra erkek kuzuların hipofiz bezlerindeki LH içeriğinin azalmasına karşılık, FSH miktarında önemli bir değişiklik olmadığını bildirmiştir. Aynı çalışmada, kastrasyondan sonra önemli ölçüde azalan GnRH içeriğinin testosteron verilmesi ile normal düzeye geldiği belirtilmiştir. Lapwood ve Fisher (10), kastre edilen erkek kuzuların kastre edilmeyenlere göre daha yüksek LH düzeylerine sahip olduklarını bildirmiş, ayrıca, GnRH'un verilmesinden sonra LH düzeyinde gözlenen artışın kastre edilenlerde daha fazla olduğuna değinmişlerdir. Parrott ve Davies (13), kastre edilen erişkin koyunlara testosteron hormonu verilmesinin serum LH ve FSH konsantrasyonları üzerinde önemli bir etki oluşturmadığını ve dihidrotestosteronun ise LH ve FSH konsantrasyonlarını önemli ölçüde azaltmış olduğunu açıklamışlardır. Schanbacher (17), erkek kuzularda kastrasyondan sonra artan serum LH ve FSH konsantrasyonlarının uzun süre eksojen testosteron verilmesi sonucu (silastik kapsüller içinde) önemli ölçüde azaldığını gözlemiştir.

D'Occhio ve ark. (6), testosteronun erkek koyunlarda hipotalamus ve hipofiz düzeyinde negatif bir geri etkiye (feedback) sahip olduğunu bildirmiştir. Pelletier (14) de, testosteronun hipotalamus düzeyinde GnRH sentezini inhibe ettiğini ileri sürmüştür.

Kastre edilen ratların hipofiz ön loblarında LH ve FSH salgılayan bazofil hücrelerde hipertrofi meydana geldiği bildirilmiştir (21). Romano ve ark. (16), kastre edilen ratların LH hücreleri sayısında % 48 oranında artış olduğunu ve kastrasyondan sonra ön hipofiz bezinde gözlenen tüm değişikliklerin dihidrotestosteron verilmesi ile önlendiğini bildirmişlerdir. Dacheux (5), kastre edilen domuzların ön hipofiz bezlerindeki LH ve FSH salgılayan hücrelerin sayısında % 27-37

oranında bir artış olduğunu ve bu iki hormonun aynı gonadotrop hücre popülasyonu tarafından sentezlendiğini gözlemiştir.

Bu araştırmanın başlıca amacı; kastrasyon sonucu erkek koyunların hipofiz ön loblarında meydana gelen histolojik değişikliklerin ortaya çıkarılması ve testosteron hormonunun LH ile FSH hormonlarının salgılanmalarından sorumlu olan bazofil hücreler üzerinde doğrudan bir etkiye sahip olup olmadıklarının açıklığa kavuşturulmasıdır. Fizyolojik çalışmaların, bu şekilde histolojik gözlemler ile desteklenmesinin konunun daha iyi anlaşılmasına yardımcı olacağı açıktır.

Materyal ve Metot

Araştırmada, 2,5 aylık, süttten kesilmiş ve ortalama canlı ağırlıkları yaklaşık 17 kg olan 22 baş Akkaraman erkek kuzusu kullanıldı. Birinci ve ikinci gruplar 7'şer, üçüncü grup ise 8 hayvanı kapsadı. Kuzular, Elazığ yöresinden temin edildi. Araştırma F.Ü. Araştırma ve Deneme Çiftliğinde 7 ay süreyle yürütüldü. Bu süre hayvanların cinsel yönden olgun hale gelmeleri dikkate alınarak belirlendi.

Araştırmanın başlangıcında hayvanlar üç gruba ayrıldılar. Birinci gruptaki hayvanlar kontrol grubu olarak bırakıldılar. İkinci ve üçüncü gruptaki hayvanlar ise kapalı metotla (2) kastre edildiler. Üçüncü grupta bulunan kastre edilmiş kuzulara gün aşırı 10 mg testosteron propionate deri altı olarak araştırma süresince enjekte edildi. Bu dozun, hormonun kan konsantrasyonunu araştırma süresince fizyolojik sınırlar arasında tutabileceği bildirilmiştir (9).

Araştırma süresi sonunda kesilen hayvanlardan tekniğine uygun olarak (19) alınan hipofiz bezine ait örnekler % 10'luk formol solüsyonunda tesbit edildi. Alkol ve ksilollerden geçirildikten sonra parafinde bloklandılar. Parafin kalıplarından 5-7 mikron kalınlığında kesitler alındı. Boyamalarda Crossmon'ın triple boyası (4), Hematoxylen Eosin ve PAS metodları (12) kullanıldı. Şekiller araştırma mikroskopunda çekildi.

Bulgular

Adenohipofiz'in (ön hipofiz) pars anterior (pars distalis), pars tuberalis ve pars intermedia olmak üzere üç kısımdan oluştuğu gözlemlendi. Organı dıştan saran kapsül ön hipofiz içerisine doğru kollar göndermiştir. Bağ doku içerisinde kılcıl damar ve bunların genişlemesinden oluşan sinusoid'ler yer almıştır (Şekil, 5, 6 d).

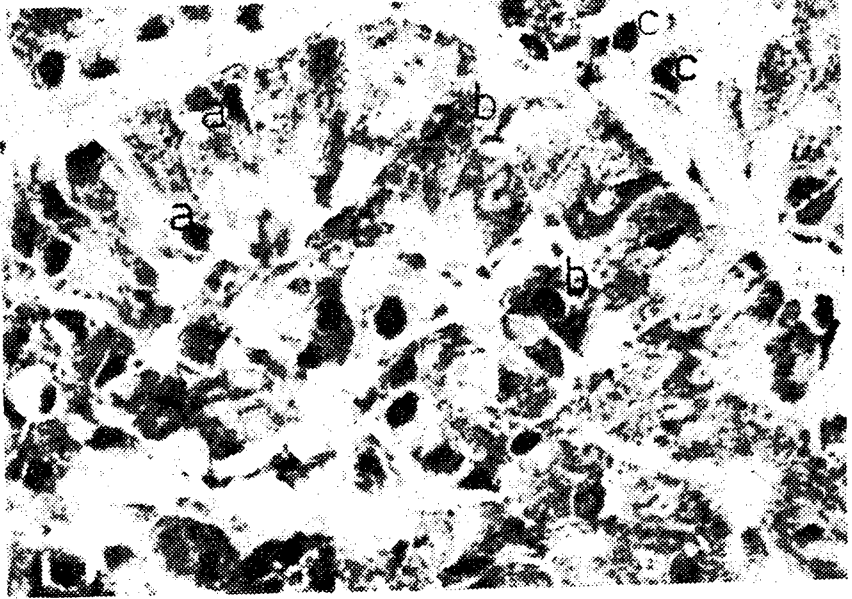
Her üç grupta asidofil hücrelerin sayısının bazofil hücrelerden daha çok olduğu belirlendi. Ön hipofizin bir iç salgı bezinin tipik özelliklerini gösterdiği gözlemlendi.

Bazofil hücrelerin, parankim hücrelerinin yaklaşık % 10'unu oluşturduğu ve bunların çoğunlukla pars distalis'in ön ve orta bölgelerinde bulunduğu belirlendi. Bazofil hücreler asidofil hücrelerden biraz daha büyüktüler. Bazal membran ile bazofil hücrelerin periyodik asit-Schiff (PAS) reaksiyonunun pozitif olduğu görüldü (Şekil, 2, 4, 6).

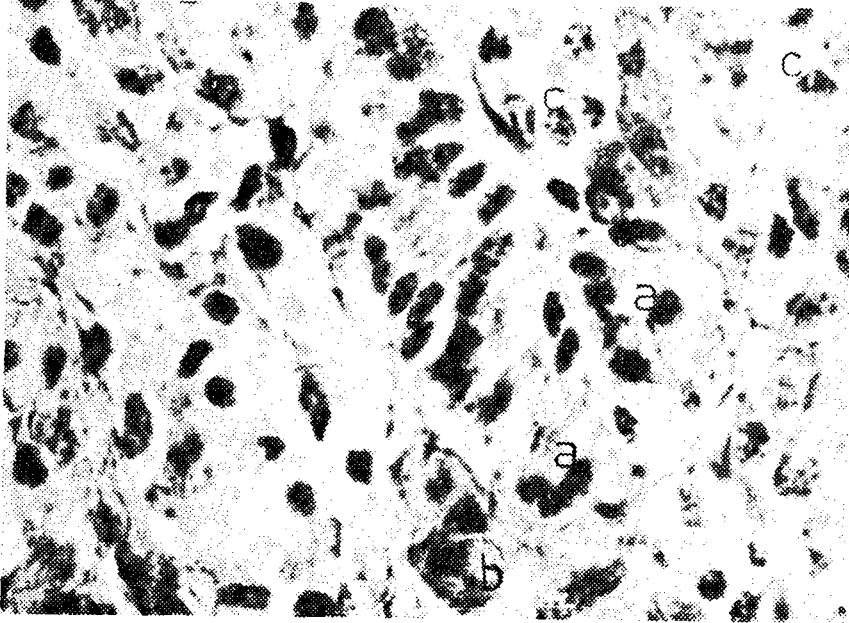
Kastre edilen ikinci ve kastre edildikten sonra testosteron verilen üçüncü gruptaki hayvanların hipofiz ön loblarına ait bazofil hücrelerinde bir hipertrofi gözlemlendi (Şekil, 3, 6). Bunun dışında gruplar arasında histolojik yönden önemli bir farklılık belirlenmedi.

Erkek kuzularda hipofiz boşluğuna rastlandı. Boşluğa bakan hücrelerin kübik yapıda olduğu da gözlemlerimiz arasındadır (Şekil, 4 oklar).

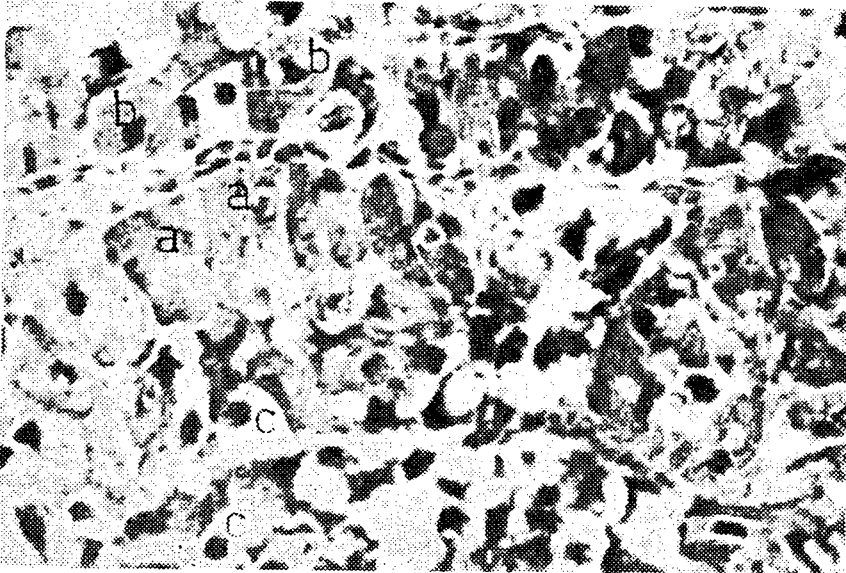
Kromofob hücreler, hipofiz ön lobunun hemen her tarafına dağılmış biçimde yuvarlak, düzensiz, köşeli olarak görüldü (Şekil, 1,2,3,4,5,6).



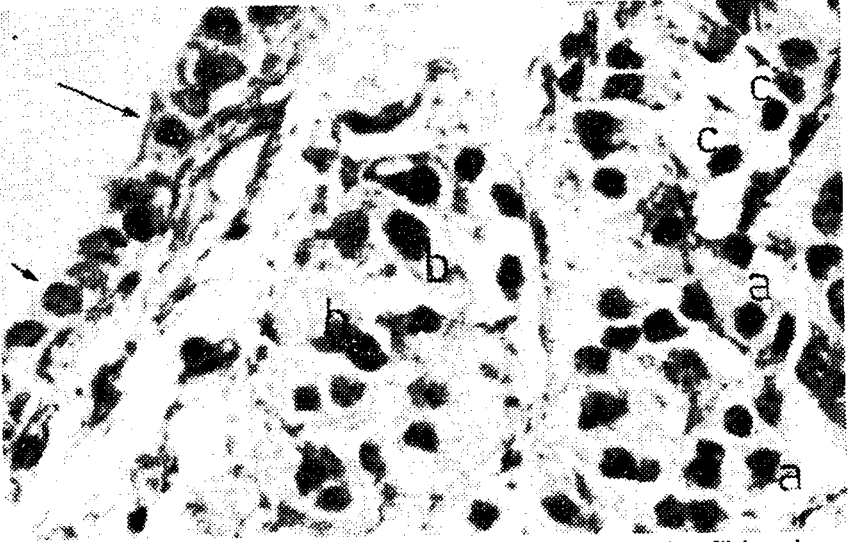
Şekil 1. Kontrol grubu, pars anterior'da hücreler.
a-asidofil hücreler, b-bazofil hücreler, c-kromofob hücreler, üçlü boyama, x 250. Control group, cells of the pars anterior. a-acidophilic (alpha) cells, b-basophilic (beta) cells, c-chromophobe cells, triple stain x 250.



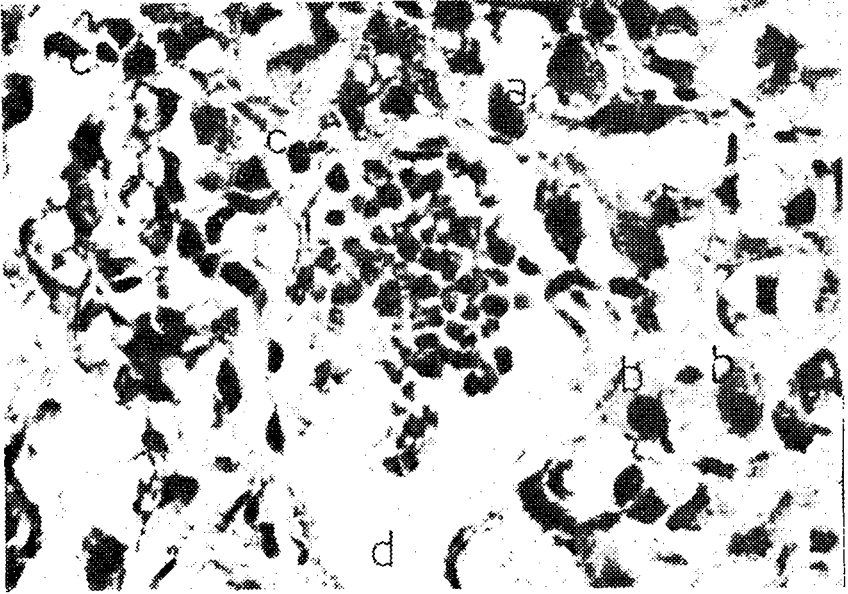
Şekil 2. Kontrol grubu, pars anterior. a-asidofil hücreler, b-bazofil hücreler, c-kromofob hücreler, PAS x 250. Control group, the pars anterior, a-acidophilic cells, b-basophilic cells, c-chromophobe cells, triple stain x 250.



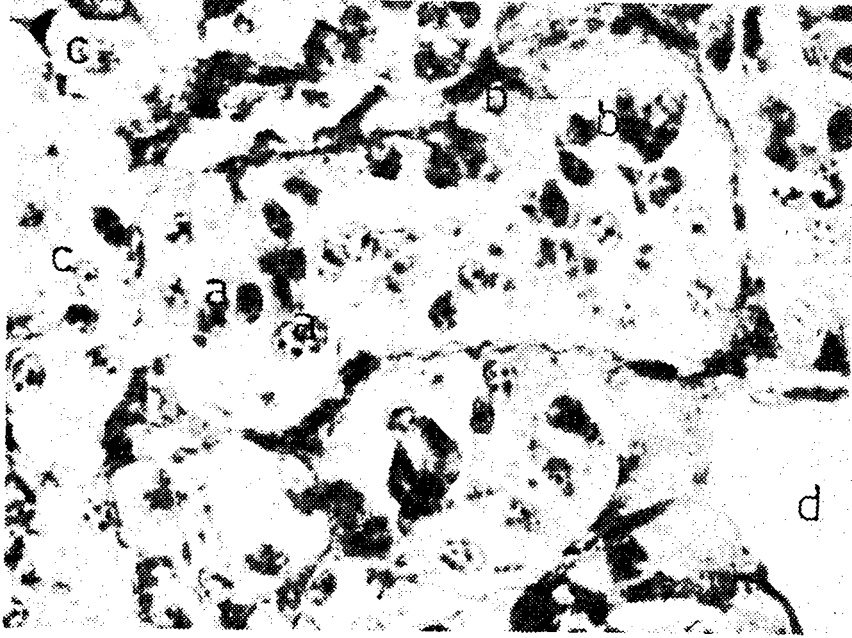
Şekil 3. Kastre edilmiş testosteron verilmemiş, pars anterior, a- asidofil hücreler, b-bazofil hücreler, c-kromofob hücreler, üçlü boyama x 250. Wethers, the pars anterior, a-acidophilic cells, b-basophilic cells, c-chromophobe cells, triple stain x 250.



Şekil 4. Kastre edilmiş testosteron verilmemiş, a-asidofil hücreler, b-bazofil hücreler, c-kromofob hücreler (hipofiz boşluğuna bakan kübik hücreler (oklar), P A S x 250. Wethers, a-acidophilic cells, b-basophilic cells, c-chromophobe cells, the cubic cells in the hypophyseal cavity. x 250.



Şekil 5. Kastre edilmiş testosteron verilmiş, pars anterior. a-asidofil hücreler, b-bazofil hücreler, c-kromofob hücreler, d-sinusoid, üçlü boyama x 250. Testosterone-treated wethers, the pars distalis, a-acidophilic cells, b-basophilic cells, c-chromophobe cells, d-sinusoid, triple stain, x 250.



Şekil 6. Kastre edilmiş testosteron verilmiş, pars anterior. a-asidofil hücreler, b-bazofil hücreler. c-kromofob hücreler, d-sinusoid, P A S x 250. Testosterone-treated wethers, the pars anterior. a-acidophilic cells, b-basophilic cells, c-chromophobe cells, d-sinusoid, PA Sx250

Tartışma ve Sonuç

Evcil hayvanların üreme fonksiyonlarında hipotalamus, ön hipofiz ve gonadlar arasındaki ilişkinin büyük öneme sahip olduğu bilinmektedir. Bu ilişkinin ortaya çıkarılması için fizyolojik yönden çok sayıda araştırma yapılmış olmasına karşın, henüz tam olarak anlaşılabilen birçok nokta mevcuttur. Özellikle, testosteron hormonu ile LH ve FSH gibi gonadotropik hormonlar arasındaki etkileşim hayvan türlerine göre oldukça farklılık göstermektedir. Koyun ve keçi gibi üreme fonksiyonları mevsimsel değişiklik gösteren hayvanlarda alınan sonuçlar ise çoğu zaman daha da karmaşık görülmektedir. Bunun başlıca nedeni, bu hayvanlarda hipofiz ön lobundan gonadotropinlerin salgılanmasının büyük ölçüde gün ışığının uzunluğuna bağlı olarak azalma ve artış göstermesidir.

Bazı araştırmacılar (10,17), kastrasyondan sonra erkek kuzuların hipofiz ön loblarında LH ve FSH gibi gonadotropik hormonların salgı-

lanmasında önemli bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırmada, kastre edilen hayvanların ön hipofiz bezlerinde gonadotropinleri salgıladıkları kabul edilen bazofil hücrelerinde az da olsa gözlenen hipertrofinin, bu artışla yakından ilgili olması muhtemel görülmektedir. Bir araştırmada (15), kastre edilen erkek kuzuların kastre edilmeyenlere göre daha büyük ve ağır hipofiz bezine sahip olmaları da bu hipertrofidan ileri gelebilir.

Romano ve ark. (16)'nın ratlarda, Dacheux (5)'in ise domuzlarda kastrasyonu takiben ön hipofizin bazofil hücreleri sayısında önemli bir artış kaydetmelerine karşın, bu çalışmada belirgin bir artışa rastlanmamıştır. Bu durumda, erkek kuzularda kastrasyonun ve dolayısıyla da testosteronun etkilerinin rat ve domuz gibi hayvanlarda gözlenenlerden farklı bir karaktere sahip olabileceği söylenebilir. Ratlarda ve domuzlarda bazofil hücrelerin sayısında gözlenen bu artış büyük ölçüde testosteronun hipotalamus düzeyinde GnRH sentezini inhibe edici etkisinin ortadan kalkması ile ilgili olabilir. Nitekim, Pelletier (14), testosteronun hipotalamus düzeyinde GnRH sentezini inhibe ettiğini ileri sürmektedir. Ancak, kastrasyondan sonra GnRH sentezinin azaldığını ve testosteronun bu sentezi arttırdığını ileri süren görüşler de (3) mevcuttur.

Erkek kuzu ve koyunlarda eksojen testosteron hormonunun ön hipofiz bezinin morfolojik ve histolojik yapısı üzerindeki etkisine dair bir çalışmaya literatürlerde rastlanılmamıştır. Bu araştırmada, kastre edildikten sonra eksojen olarak testosteron hormonu verilen erkek hayvanların ön hipofiz bezlerinde gonadotropinleri salgılamaktan sorumlu bazofil hücreleri kastre edilenlerinkine benzer bulunmuştur. Parrott ve Davies (13), eksojen olarak verilen testosteron hormonunun serum LH ve FSH düzeyleri üzerinde önemli bir etki oluşturmamasına karşılık, testosteronun bir aktif metaboliti olan dihidrotestosteronun bu hormonların düzeylerinde önemli bir azalmaya sebep olduğunu bildirmektedirler. Schanbacher (17) ise, uzun süre eksojen testosteron tedavisinin kastrasyondan sonra artan LH ve FSH düzeylerini önemli ölçüde azalttığını bildirmektedir. Böylece, testosteronun hipofiz ön lobu üzerindeki feedback etkisinin bizzat kendisi tarafından değil de, aktif metaboliti olan dihidrotestosteron tarafından oluşturulması muhtemel görülmektedir. Ayrıca, bu etkinin şiddetinin de testosteronun dihidrotestosterona dönüşme hızına bağlı olduğu söylenebilir.

Bazı araştırmacılar (18,21), adenohipofizin pars distalis, pars tuberalis ve pars intermedia'dan oluştuğunu, LH ve FSH gibi gonadot-

ropinlerin PAS pozitif olan (21) bazofil hücrelerinden salgılandıklarını bildirmektedirler. Bu çalışmada, adenohipofiz'in aynı yapıda, LH ve FSH salgılamaktan sorumlu bazofil hücrelerin PAS pozitif olduğu görülmüştür.

Birçok hayvanlarda hipofiz ön lobu ile pars intermedia arasında yarık şeklinde bir boşluğun olduğu bildirilmiştir (7). Bu araştırmada, tüm gruplardaki kuzuların ön hipofiz bezlerinde hipofiz boşluğuna rastlanılmış ve bu boşluğa bakan hücrelerin kübik yapıda oldukları görülmüştür.

Sonuç olarak, testosteron hormonunun hipofiz ön lobunda LH ve FSH hormonlarını salgılamaktan sorumlu bazofil hücreler üzerinde doğrudan bir etkiye sahip olduğu söylenemez. Ancak testosteronun kanda çok hızlı bir şekilde metabolize olarak vücuttan atılmasının da hormonun etkisinin ortaya çıkmasını engelleyebileceği gözden uzak tutulmamalıdır. Kastrasyondan sonra bazofil hücrelerinde gözlenen hipertrofinin bu hayvanlarda testosteron hormonunun hipotalamus düzeyinde inhibe edici etkisinin ortadan kalkmasına bağlı olduğu kabul edilebilir. Böylece hipotalamustan daha fazla miktarda salgılanan GnRH ön hipofizde LH ve FSH sentezini arttırmaktadır.

Kaynaklar

1. **Amann, R.P. and Schanbacher, B.D.** (1983). *Physiology of male reproduction*. J. Anim. Sci., 57 (Suppl.): 380 - 403.
2. **Artun, B.S.** (1970). "Evcil Hayvanlarda Operasyon Bilgisi". A.Ü. Vet. Fak. Yay. No: 255, A.Ü. Basımevi, Ankara.
3. **Caraty, A.** (1983). *Ram hypothalamic-pituitary, gonadal interactions. Effects of castration and cryptorchidism*. Acta Endocrinologica, 102: 292 - 298.
4. **Crossmon, G.** (1937). *A Modification of Malloy's connective tissue stain with a discussion of the principles involved*. Anat. Rec., 69: 33 - 38.
5. **Dacheux, F.** (1983). *Subcellular localisation of LH and FSH in the castrated porcine pituitary cells*. IRCS medical Science, Library Compendium, 11: 1011 - 1012.
6. **D'Occhio, M.J., Schanbacher, B.D. and Kinder, J.E.** (1982). *Relationship between serum testosterone concentration and patterns of luteinizing hormone secretion in male sheep*. Endocrinology, 110 (5): 1547 - 1554.
7. **Erençin, Z.** (1971). "Özel Histoloji". A.Ü. Veteriner Fak. Yay. No: 268. İkinci Baskı. A.Ü. Basımevi, Ankara.
8. **Erkoçak, A.** (1982). "Özel Histoloji". A.Ü. Tıp Fak. Yay. sayı: 432, Tıp Fakültesi Basımevi, 4. Baskı, Ankara.

9. **Keleştimur, H.** (1985). *Kastrasyonun ve testosteron hormonunun Akkaraman ırkı erkek kuzularda büyüme performansı, bazı kan metabolitlerinin düzeyleri ile karkas karakterleri üzerindeki fizyolojik etkileri*. Doğa Bilim Dergisi. Seri D1, 9 (2): 166-180.
10. **Lapwood, K.R. and Fisher, M.W.** (1982). *Effects of cranial cervical ganglionectomy and castration of male lambs. 111. Hormonal responses following administration to gonadotropin releasing hormone (GnRH)*. Theriogenology, 17 (3): 293-303.
11. **Levasseur, M.C.** (1977). *Thoughts on puberty. Initiation of the gonadotropic function*. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 17 (3 A): 345 - 361.
12. **Luna, L.G.** (1968). *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*". 3. Ed. Mc Graw-Hill Book Company. New York.
13. **Parrott, R.F. and Davies, R.V.** (1979). *Serum gonadotrophin levels in prepubertally castrated male sheep treated for long periods with propionated testosterone, dihydrotestosterone, 19-hydroxytestosterone or oestradiol*. J. Reprod. Fert., 56: 543 - 548.
14. **Pelletier, J.** (1970). *Mode of action of testosterone propionate on the secretion and release of luteinizing hormone (LH) in the castrated ram*. Acta Endocrinologica, 63: 290-298.
15. **Preston, T.R., Greenhalgh, I. and Macleod, N.A.** (1960). *The effect of hexoestrol on growth, carcass quality, endocrines and reproductive organs of ram, wether and female lambs*. Anim. Prod., 2: 11 - 25.
16. **Romano, M.I., Machiavelli, G.A., Perez, R.L., Carricarto, V. and Burdman, J.A.** (1984). *Correlation between LH secretion in castrated rats with cellular proliferation and synthesis of DNA in the anterior pituitary gland*. J. Endocrinol, 102 (1): 13 - 18.
17. **Schanbacher, B.D.** (1980). *Testosterone regulation of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone secretion in young male lambs*. J. Anim. Sci., 51 (3): 679-684.
18. **Tanyolaç, A.** (1984). *"Özel Histoloji"*. A.Ü. Veteriner Fak. Yay. No: 398, A.Ü. Basımevi, Ankara.
19. **Urman, H.K.** (1966). *"Kısa Nekropsi Teknikleri ve Bazı Hastalıkların Teşhisi için Alınacak Marazi Maddeler ve Muhafaza Şekilleri"*. A.Ü. Vet. Fak. Yay. No: 192, A.Ü. Basımevi, Ankara.
20. **Webb, P.D.** (1981). *The pars distalis (anterior pituitary) in the fetal sheep: an ultrastructural study*. J. Developmental Physiol., 3: 319 - 332.
21. **William, B. and Don, W.F.** (1975). *"A textbook of Histology"*. 10 th. ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia.