

## ÖSTRÜS SIKLUSUNUN FARKLI DÖNEMLERİNDE İNEKLERİN SERVİKAL EPİTELİ ÜZERİNDE IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOPİK ÇALIŞMALAR (\*)

Ülker EREN<sup>1</sup>

Reşat N. AŞTI<sup>2</sup>

Light and Electron Microscopical studies on the cervical epithelium of cows at various phases of Estrus Cycle

### SUMMARY

In this study, the nature of cervical epithelium and cervical mucus of cows were investigated at various phases of estrus cycle. In this research 10 Brown Swiss cows were used. The sexual cycles of cows were synchronized by Dinoprost tromethamine administration. Tissue samples were taken from cervix by biopsy technique at different phases of the cycle.

As a result of light and electron microscopical observations two main cell types as secretory and ciliated cells were determined in epithelial lamina formed by simple columnar epithelium. In addition, light cells which have a cytoplasm not giving contrast and the cells which were thought to have a reserve function were observed. It was seen that the height of the cells and amount of secretory material changed by different phases of estrus cycle. The mode of secretion of secretory material into the lumen was determined to be either apocrin or membran fusion.

Histochemical examinations showed that the secretory material of cells were composed of sulphated or carboxylated acidic mucosubstance and neutral mucosubstance. It was also seen that the composition of secretory material at the basal or apical areas of cervical crypt and surface epithelium were different at various phases of sexual cycle. At estrus and metestrus phases, neutral mucosubstance and sulphated acidic mucosubstance were dominant in the apical areas of the cervical crypts and surface epithelium, whereas in the basal areas of the crypts, carboxylated acidic mucosubstance was dominant. However at diestrus and early proestrus phases the amount of carboxylated acidic mucosubstance decreased while neutral mucosubstance and sulphated acidic mucosubstance increased.

KEY WORDS : Cervical epithelium, estrus cycle, cow.

### GİRİŞ

Cervix Uteri (Serviks uteri)'nin tek katlı prizmatik epitelden oluşan lamina epitelyalisinde, predominant durumda olan mukus salgılayan hücreler ve daha az sayıda görülen kinosilyumlu hücreler olmak üzere, genelde iki tip hücrenin bulunduğu bildirilmiştir (17, 20, 23, 26, 27). Wrobel (28), bu hücrelere ilaveten bazal hücrelerden bahsetmekte ve bunların rezerv fonksiyonlu hücreler olduğunu ileri sürmektedir.

Servikal epitelde, hücrelerin yüksekliğinin ve salgı materyalinin kompozisyonunun, östrual siklusun fazlarına göre değişen hormonal durumun kontrolü altında olduğu bildirilmektedir (1, 11, 12, 17, 27). Bir grup araştırmacı (1, 11, 12, 27), östrojenin servikte hücrelerin yüksekliğini ve salgı miktarını artırdığını ileri sürerken; Marinov ve Lovell (17), progesteronun salgı miktarını artırdığını bildirmişlerdir.

Servikal mukusun histokimyasal metodlarla incelendiği araştırmalar, genelde birbirini tamamlar nitelikte olmuştur. Önceleri servikal salgının

### ÖZET

Bu çalışmada, östrus siklusunun değişen dönemlerinde servikal epitelin yapısı ve servikal mukus incelendi. Araştırmada 10 adet İsviçre Esmeri inek kullanıldı. Hayvanların siklusları Dinoprost tromethamine ile senkronize edildi. Siklusun değişen dönemlerinde, serviksten biyopsi tekniği ile doku örnekleri alındı.

Işık ve elektron mikroskopik düzeyde yapılan gözlemlerin sonucunda tek katlı prizmatik epitelden oluşan lamina epitelyaliste salgı yapan hücreler ve silyumlu hücreler olmak üzere temelde iki tip hücre tespit edildi. Bunların yanında sitoplazması kontrast vermeyen açık hücrelere ve rezerv fonksiyona sahip olduğu düşünülen hücrelere rastlandı. Östrüs siklusunun farklı dönemlerinde hücrelerin yüksekliklerinin ve salgı materyalinin miktarının değiştiği, salgı materyalinin lumen apokrin tarzda veya membran kırılması yoluyla verildiği görüldü.

Histokimyasal yöntemlerle yapılan incelemelerin sonucunda, hücrelerdeki salgı materyalinin nötral mukosubstans ile sülfatlı ve karboksilli asidik mukosubstansın karışımı olduğu tespit edildi. Siklusun değişen fazlarında, salgı materyalinin kompozisyonunun servikal kriptlerin tabanı ve apikal bölgeleri ile yüzey epitelinde farklı olduğu görüldü. Östrüs ve metöstrüs dönemlerinde, servikal kriptlerin apikali ve yüzey epitelinde, nötral mukosubstans ve sülfatlı asidik mukosubstans, kriptlerin bazal sahalarında ise karboksilli asidik mukosubstans baskındı. Bununla birlikte, diöstrüs ve erken proöstrüs dönemlerinde, karboksilli asidik mukosubstans miktarı azalırken nötral mukosubstans miktarı arttı.

ANAHTAR KELİMELER: Servikal epitel, östrus siklusu, inek.

mukopolisakkaritlerin bir kompozisyonu olduğu (17), nötral, asidik ve sülfatlı mukopolisakkaritleri içerdiği (8) bildirilmiştir. İlk kez Wordinger ve arkadaşları (26, 27), asidik mukosubstansı sülfatlı ve karboksilli asidik mukosubstans olarak ayırmışlardır. Mullins ve Saacke (20), folliküller fazda, servikal olukların bazalinde siyalomusin üretilirken apikalde sülfatlı ve nötral müsünün baskın olduğunu; luteal fazda ise bazal kısımda, siyalomusin üretimi azalırken, sülfatlı ve nötral müsünün bol olarak kaldığını tespit etmişlerdir.

Sunulan çalışmada, seksüel siklusları senkronize edilen ineklerde, östrüs siklusunun değişen fazlarında, servikal epitelin ışık ve elektron mikroskopik düzeyde, servikal mukusun tabiatının da histokimyasal yöntemlerle ışık mikroskopik düzeyde incelenmesi amaçlandı.

### MATERYAL ve METOT

Materyal olarak, Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü'ne ait 2-6 yaşlı ve doğum sonrası 45-60'ncü günlerde bulunan 10 adet İsviçre Esmeri inek kullanıldı. Araştırmada kullanılan hayvanların seksüel siklusları, 11 gün ara ile iki kez i.m. 25 mg Dinoprost tromethamine enjeksiyonu ile senkronize edildi (7). Dinoprost enjeksiyonundan sonra, östrüs belirtilerinin görüldüğü gün ve bu günü izleyen 3., 11., 18. günlerde, jugular kan örnekleri ile uzun kollu uterus biyopsi pensisi kullanılarak,

\* Bu araştırma, aynı başlıklı doktora tezinden özetlenmiştir.

1- S.Ü. Veteriner Fakültesi, Kampüs-KONYA.

2- A.Ü. Veteriner Fakültesi, Dışkapı-ANKARA.

serviks uteri'den doku örneği alındı.

Toplanan kan örnekleri 2000 rpm'de 20' santrifüje edildi. Elde edilen serumlarda, progesteron değerleri, 125 I Progesteron Analiz Kiti IMM 1204 kullanılarak, Konya Nükleer Tıp Merkezi'nde RIA yöntemi ile tesbit edildi (13).

Biyopsi tekniği ile serviks uteriden alınan doku örneklerinin yarısı ışık mikroskopik, diğer yarısı da elektron mikroskopik düzeyde yapılacak incelemeler için kullanıldı.

Işık mikroskopik incelemeler için alınan doku örnekleri, Zenker-Formalin solusyonunda tesbit edildi. Parafinde bloklanan dokulardan alınan 5-6 mikronluk kesitler aşağıdaki işlemlere tabi tutuldu.

Genel histolojik inceleme için Crossmon tarafından modifiye edilen Mallory'nin üçlü boyama tekniği (4).

Epitelial mukosubstansın incelenmesi için PAS (18), AB pH 2.5, PAS/AB pH 2.5, AB pH 1 (16), AF/AB pH2.5 (24), Best carmine (3), Diastaz sindirim/Best carmine, Diastaz Sindirim/PAS (16) boyama metotları uygulandı.

Elektron mikroskopik düzeyde yapılacak incelemeler için alınan doku parçaları, Karnovsky (15) yöntemine göre tesbit edilerek, Araldit M' de bloklandı. Blokardan alınan kesitler Carl Zeiss Em 9S-2 model elektron mikroskopta incelendi.

#### BULGULAR

Materyalden toplanan kan örneklerinde tesbit edilen progesteron düzeyleri tablo 1' de gösterildi. Sonuçlar, bulguların değerlendirilmesinde dikkate alındı.

Tablo 1. Kan Örneklerinde Tesbit Edilen Progesteron Düzeyleri (ng/ml).

Hayvan no:	Östrüs (1. gün)	Metöstrüs (3. gün)	Diöstrüs (11. gün)	Erken proöstrüs (18. gün)
1	0.18	0.01	3.3	5.8
2	0.01	0.01	0.59	0.35
3	0.01	0.29	2.8	3.9
4	0.01	0.01	0.01	4.1
5	0.01	0.30	3.2	3.2
6	0.01	0.01	1.9	2.2
7	0.01	0.13	2.6	2.5
8	0.01	0.48	-	0.12
9	0.86	-	2.63	1.13
10	0.62	0.14	-	-

Işık ve elektron mikroskopik düzeyde yapılan incelemelerin sonucunda, servikal mukozanın epitel katının tek katlı prizmatik epitel hücrelerinden oluştuğu ve bağ dokuya doğru değişen derinlikte kripler şekillendirdiği görüldü. Servikal mukozada bez yapısına rastlanmadı.

Servikal epitelde esas olarak salgı yapan hücreler (Şekil 1a) ve silyumlu hücreler (Şekil 1b) olmak üzere iki tip hücre tesbit edildi. Bunların yanında, sitoplazması kontrast vermeyen açık hücrelere (Şekil 2x) ve rezerv fonksiyona sahip olduğu düşünülen hücrelere (Şekil 4x) rastlandı.

Işık mikroskopik olarak yapılan incelemelerde, sitoplazmalarının müköz salgı materyali ile dolu olduğu görülen hücrelerin (Şekil 1a) elektron mikroskopik görüntülerinde üç tip salgı granülü tesbit edildi. Bunlar;

- tip 1, elektron-açık olup yapısında çok az miktarda ince granüler madde bulunduran salgı granülü (Şekil 5a),
- tip 2, elektron-yarı açık salgı granülü (Şekil 5b),
- tip 3, elektron-koyu alanlara sahip olan salgı granülü (Şekil 5c) olarak belirlendi. Hücrelerin bu üç tip salgı granülünü homojen veya heterojen

biçimde bulundurdukları, tip 2 salgı granülünün ise hücrelerde daha yaygın olduğu görüldü. Salgı yapan hücrelerde, çekirdeğin normalde silindirik olduğu ve hücrenin bazal yarımında yer aldığı, artan salgı miktarının baskısı ile yassılaşmış bazale itildiği gözlemlendi. Kriptlerin tabanındaki hücrelerin daha fazla salgı materyali içerdikleri dikkati çekti.

Kan progesteron düzeyinin 1 ng/ml' nin altında olduğu görülen (Tablo 1) östrüs ve metöstrüs dönemlerinde, diöstrüs ve erken proöstrüs dönemlerine göre hücrelerin boylarının daha yüksek ve salgı materyalinin de daha fazla olduğu gözlemlendi. Hücrelerin salgılarını apikal uçta membran kırılması (Şekil 6 oklar) veya apokrin tarzda (Şekil 7 oklar) verdikleri tesbit edildi. Salgı yapan hücrelerin, mikrovilluslara da sahip oldukları görüldü.

Salgı yapan hücrelerden daha az sayıda görülen ve kinosilyumlu olan hücrelerin sitoplazmalarının eozinofilik olduğu (Şekil 1b), iğ şeklindeki çekirdeklerin hücrelerin ortalarında yer aldığı gözlemlendi. Salgı yapan hücreler arasına sıkışmış izlenimi veren ve apikale doğru genişleme gösteren bu hücrelerin, kriplerin tabanında iken bazal membran üzerinde daha fazla yer kapladıkları, çekirdeğin de hücrenin şekline uyum gösterdiği (Şekil 1ç) dikkati çekti. Silyumlu hücrelerin, kinosilyumların (Şekil 8k) yanında mikrovilluslara da sahip olabildikleri, hatta mikrovillusların bazen belli bir bölgeden topluluk halinde yükseldikleri (Şekil 8m) gözlemlendi.

Işık mikroskopik düzeyde epitel hücreleri arasında, sitoplazması boya almayan açık renkli hücreler olarak tespit edilen hücrelerin, elektron mikroskopik olarak yapılan incelemelerinde, sitoplazmalarının kontrast vermediği (Şekil 2x) ve çekirdeklerin ökromatik olduğu görüldü. Sitoplazmalarında mitokondriyonlara (Şekil 3m), granüllü endoplazma retikulumu keseciklerine (Şekil 3g) serbest ribozom ve polizomlara rastlandı. Ayrıca sitoplazmalarında değişik yönlerde seyreden tonofilamanların varlığında dikkati çekti (Şekil 3t). Bu hücreler ile bitişik olan hücreler arasında dezmozal bağlantılar tesbit edildi. Açık hücrelerin çok ince sitoplazmik uzantılarıyla lumene ulaşabildikleri ve düzenli bir şekilde sahip olmadıkları görüldü. Nadiren, apikal sitoplazmalarında birkaç tane salgı granülü bulunduran ve aynı zamanda kinosilyum taşıyan açık hücrelere de rastlandı.

Histokimyasal yöntemlerle yapılan incelemelerin sonucunda, hücrelerdeki salgı materyalinin nötral mukosubstans ile sülfatlı ve karboksilli asidik mukosubstansın karışımı olduğu tesbit edildi. Östrüs ve metöstrüs dönemlerinde, kriplerin apikal sahalarında ve yüzey epitelinde nötral mukosubstans ve sülfatlı asidik mukosubstansın (Şekil 9 oklar) baskın olduğu görüldü. Kriptlerin bazalinde ise karboksilli asidik mukosubstansın daha yoğun olduğu (Şekil 9x) tesbit edildi. Bunun yanında diöstrüs ve erken proöstrüs dönemlerinde kriplerin bazal kısımlarında karboksilli asidik mukosubstans miktarı azalırken, nötral mukosubstansın (Şekil 10 oklar) ve sülfatlı asidik mukosubstansın artmış olduğu dikkati çekti.

Servikal epitelde az miktarda glikojen tesbit edildi ve  $\alpha$ -amilaz ile sindirildi. Glikojenin  $\alpha$ -amilaz ile sindirilmesinden sonra uygulanan PAS reaksiyonu sonucunda, nötral mukosubstans miktarında belirgin bir azalma görülmeydi. Silyumlu hücrelerin çok zayıf PAS (+) reaksiyon göstermelerinin ve bazılarının glikojen bulundurmalarının dışında silyumlu, açık renkli ve rezerv hücrelerin histokimyasal reaksiyonlara cevap vermedikleri gözlemlendi.

#### TARTIŞMA ve SONUÇ

İnlerde, servikal epitelin histolojik ve histokimyasal özelliklerini belirlemek amacı ile yapılan araştırmada, seksüel siklusları senkronize edilmiş hayvanlardan biyopsi ile elde edilen doku örnekleri materyal olarak kullanılmıştır.

Servikal epitelde, mukus salgılayan hücrelerin bulunduğu bildirilmiştir (17, 20, 23, 26, 27). Wrobel (28) elektron mikroskopik olarak yaptığı çalışmada, bazal hücrelerden de bahsetmektedir. Sunulan çalışmada, salgı yapan hücreler ve bu hücrelerin siklusun fazlarına göre değişen yapıları, silyumlu hücrelerin farklı tipleri ile açık ve rezerv hücreler tesbit

edildi. Salgı yapan hücrelerde, elektron mikroskopik düzeyde tesbit edilen granül tiplerinin farklı nitelikte veya hücrelerin fonksiyon aşamalarına göre morfolojik değişim gösteren salgı granülleri olup olmadığı saptanamadı.

Progesteron değerinin yüksek olduğu diöstrüs ve erken proöstrüs dönemlerine göre, progesteron değerinin düşük olduğu östrüs ve metöstrüs dönemlerinde hücrelerin oldukça yüksek, salgı miktarının fazla olduğu gözlemlendi. Bu sonuçlar, Hartman'ın (11) maymunlarda, Wrobel (28) ile Wordinger ve arkadaşlarının (27) ineklerde, östrojenin servikste hücrelerin yüksekliği ve salgı miktarını artırdığına dair bulguları ile uyumlu iken Marinow ve Lovell'in (17) ineklerde progesteronun hücrelerde salgı miktarını artırdığı görüşüne ters düşmektedir.

Histokimyasal metodlarla, ışık mikroskopik düzeyde yapılan incelemelerden elde edilen sonuçlar, östrüs ve metöstrüs dönemlerinde, servikal kriplerin apikal bölgelerinde ve lumene bakan yüzey epitelinde nötral mukosubstans (nötral glikoprotein, glikojen) ve glikozaminoglikanların, kriplerin tabanında ise glikoproteinlerin (sialoglikoprotein) baskın olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, diöstrüs ve proöstrüs başlangıcında, kriplerin bazalinde glikoprotein miktarı azalırken, kriplerin apikalinde ve lumene bakan yüzey epitelinde nötral mukosubstans ve glikozaminoglikanların artmış olduğu gözlemlendi. Elde edilen bulgular, glikoproteinlerin östrual fazda daha fazla olduğunu ileri süren görüşleri (12, 20) desteklerken, düşük seviyede olduğunu bildiren görüşlere (2, 10) terstir. Bir grup araştırmacının (8, 17, 26,) servikal epitelde glikojen tespit edemediklerini bildirmelerine rağmen yapılan çalışmada, servikal epitelde glikojen tespit edildi ve  $\alpha$ -amilaz ile sindirildi. PAS reaksiyonu ile diastaz sindirim /PAS reaksiyonu arasında belirgin bir fark bulunamaması, diğer nötral mukosubstansa göre (nötral glikoprotein) glikojenin miktar olarak az olmasına bağlandı.

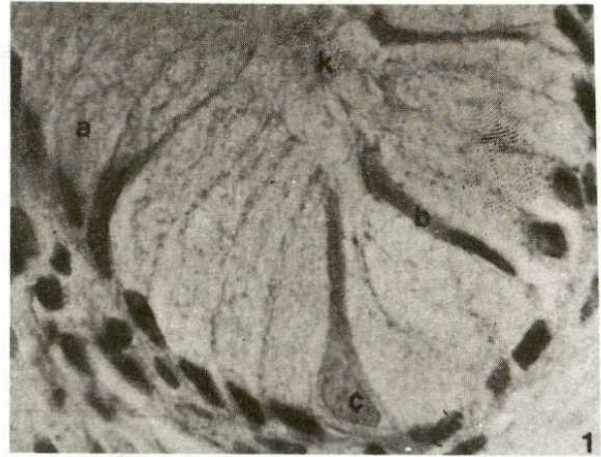
Araştırmacılar (9, 20), ineklerde servikal mukozada bez bulunmadığını bildirirlerken, insanda (19, 25), mandalarda (6) ve keçilerde (5, 14) bez tesbit edilmiştir. Sunulan çalışmada da, servikal epitelin kripler oluşturduğu fakat bez şekillendirmediği gözlemlendi.

Servikal epitelde, ikinci büyük çoğunluğu oluşturan silyumlu hücrelerin fonksiyonları henüz anlaşılmış değildir. Bu hücrelerin fonksiyonunun, mukusun hareketini sağlamak olabileceği (27), yada bu hücrelerin Müller kanalının kalıntıları olduğu görüşü (17, 27) ileri sürülmüştür. Odor ve Horacek (21) ile Odor ve Blandav (22), ovariyektomize tavşanlarda silyumlu hücrelerin arttığını bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada, silyumlu hücreler hem ışık hem de elektron mikroskopik olarak tesbit edildi. Ayrıca, mikrovillus bulunduran silyumlu hücrelerde rastlandı.

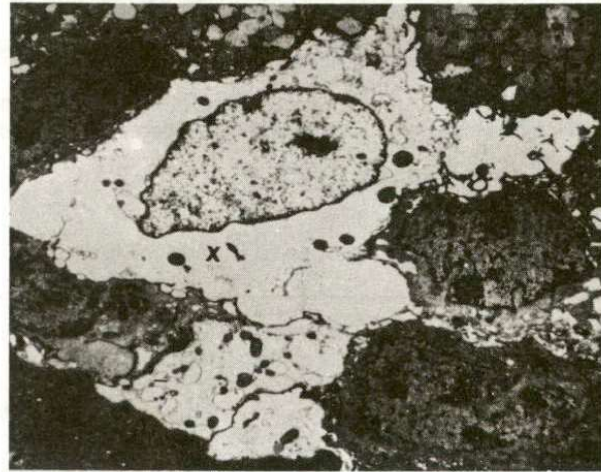
Elektron mikroskopik düzeyde yaptığı araştırmada Wrobel (28), bazal hücre olarak tanımladığı hücreleri, sitoplazması elektron-koyu olan differensiyel olmamış tip, açık renkli tip ve organelleri artmış, salgı granülleri şekillenmiş tip olmak üzere, çeşitli alt tiplere ayırarak bu hücrelerin rezerv fonksiyonlu hücreler olduğunu bildirmiştir. Yapılan çalışmada da, ışık ve elektron mikroskopik olarak rezerv fonksiyonlu olduğu düşünülen hücrelere rastlandı. Araştırmacının (28) belirlediği alt tiplerden sadece, elektron-koyu olan tip ayırt edildi.

Çalışmada, ışık ve elektron mikroskopik olarak tesbit edilen açık renkli hücrelerin çekirdeklerinin ökromatik olması ribozom ve polizomların çokluğu, granüler endoplazma keseceklerine rastlanması, tonofilamanların varlığı bu hücrelerin fonksiyona geçmeden önceki aşamaları olabileceğini düşündürmektedir. Elde edilen bulgular, Wrobel'in (28) bulgularını destekler niteliktedir.

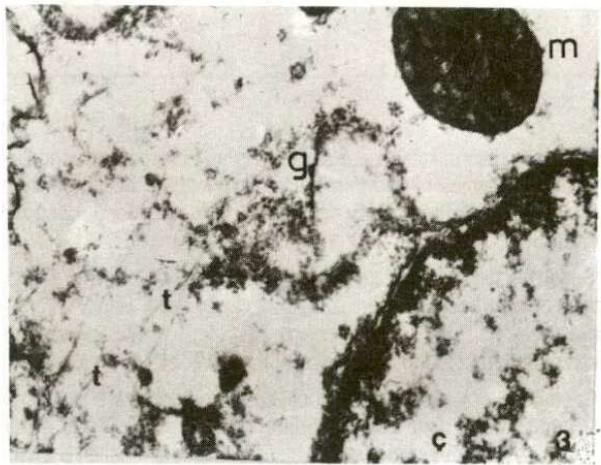
Sonuç olarak, ışık ve elektron mikroskopik düzeyde servikal epitelde, salgı yapan hücreler, silyumlu hücreler, rezerv ve açık hücreler tesbit edildi. Siklusun değişen fazlarına göre, hücrelerin yüksekliklerinin ve salgı miktarının değiştiği saptandı. Salgı materyalinin, nötral mukosubstans ile karboksilli ve sülfatlı asidik mukosubstansın karışımı olduğu belirlendi. Ayrıca, salgı materyalinin kompozisyonunun siklusun fazlarına, kriplerin bazal ve apikal sahalarına göre farklılıklar gösterdiği gözlemlendi.



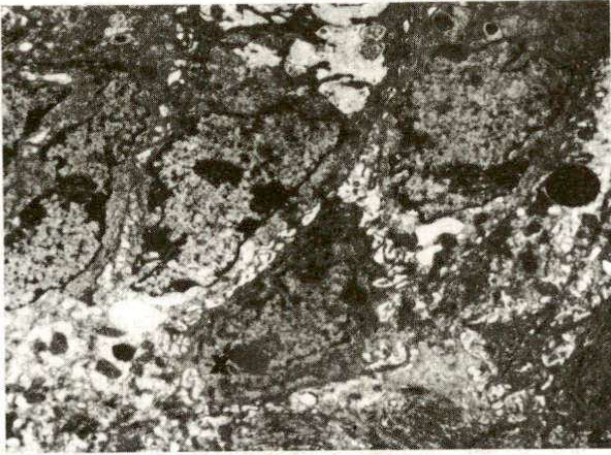
Şekil 1. Servikal epitelin ışık mikroskopik görünümü. Salgı yapan hücreler (a), silyumlu hücreler (b), çekirdek (ç), kript (k). Triple., x 950.



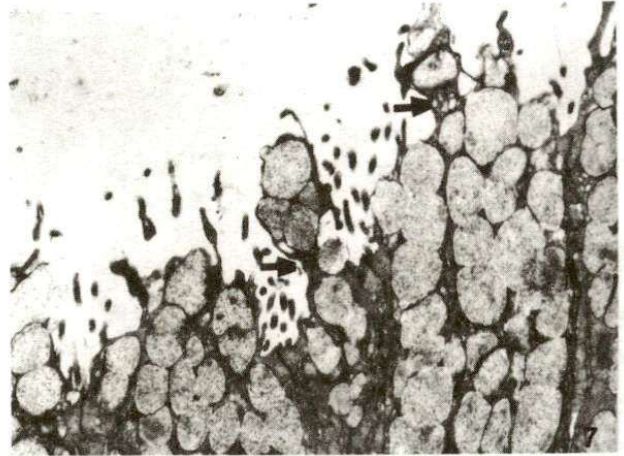
Şekil 2. Açık hücrenin elektron mikroskopik görünümü. Açık hücre (x), x 3020.



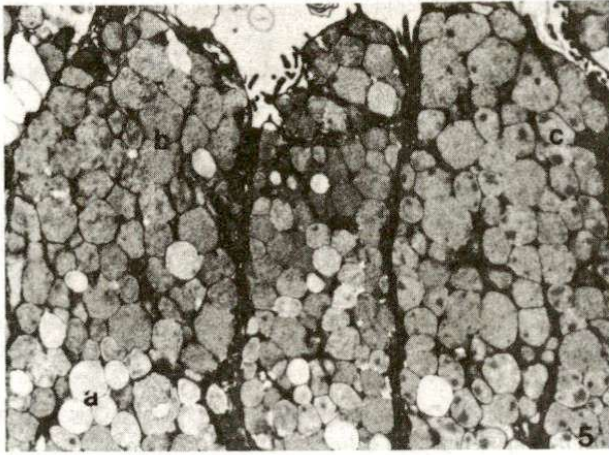
Şekil 3. Açık hücrenin elektron mikroskopik görünümü. Çekirdek (ç), Mitokondriyon (m), granüllü endoplazma retikulumu (g), Tonofilamanlar (t), x 20900.



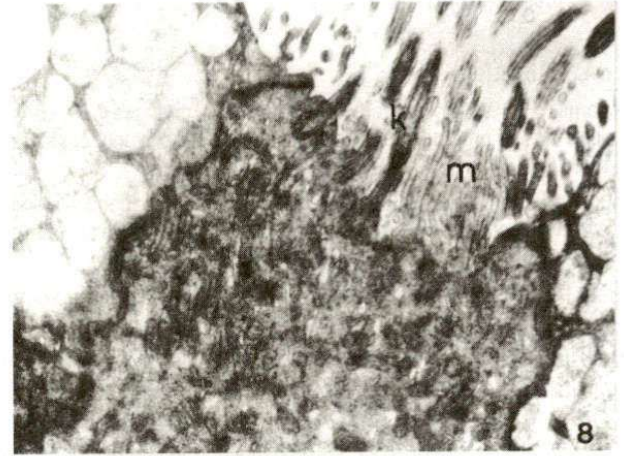
Şekil 4. Rezerv hücrenin elektron mikroskopik görünümü (x), x 3960.



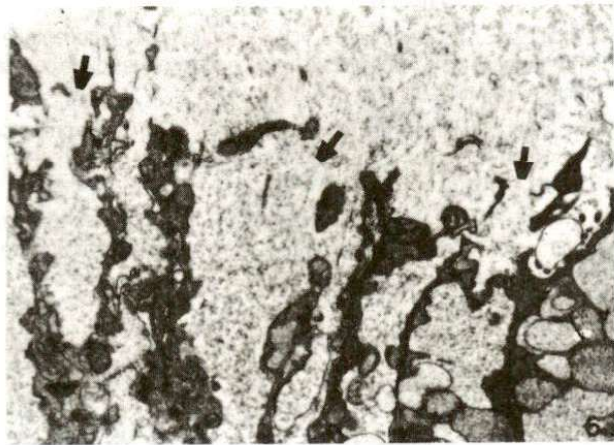
Şekil 7. Salgı materyalinin apokrin tarzda lumene verilmesi (oklar), x 9450.



Şekil 5. Salgı yapan hücrelerin elektron mikroskopik görünümü.. Tip I granüller (a), tip II granüller (b), tip III granüller (c), x 4085.



Şekil 8. Silyumlu hücrenin elektron mikroskopik görünümü. Kinocilyum (k), mikrovillus (m), x 11025.



Şekil 6. Salgı materyalinin membran kırılması ile lumene verilmesi (oklar), x 5985.



Şekil 9. Servikal epitelin görünümü (metöstrüs) Sülfatlı asidik mukosubstans (oklar), karboksilli asidik mukosubstans (x). AF /AB pH 2.5, x 790.



şekil 10. Servikal epitelin görünümü (erken proöstrüs). Nötral mukosubstans (oklar). PAS/AB. pH 2.5., x 280.

#### KAYNAKLAR

1. Adams NR (1986) Measurement of histological changes in the cervix of ewes after prolonged exposure to oestrogenic clover or oestradiol 17 B. Aust. Vet. J. 63: 279-282.
2. Agrawal SC, Datta IC (1976) Sialic acid and hexosamine concentrations in cervical mucus in different breeds of cows and buffalo at oestrus. J. Reprod Fert., 48: 363-364.
3. Best F (1906) Über karmin farbung des glykogens und der kerne, Z Wiss Mikr., 23: 319-322.
4. Crossmon O (1937) A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved. Anat. Rec., 69: 31-38.
5. Delman HD, Carithers RW (1968) Glands in the cervix uteri of the domestic goat (*Capra hircus*), Am. J. Vet. Res., 39: 1509-1511.
6. Fateh El-Bab MR, El-Naggar MA (1975) A histoglogical and histochemical study of the cervix uteri of the buffalo cow during the estrus cycle, Zbl. Vet. Med. A., 22: 164-175.
7. Gorden I (1983) Controlled breeding in farm animals. 1st. ed. Pergamon Press, Oxford.
8. Hafez ESE, EL-Banna AA, Yamashita T (1971) Histochemical charecteristics of cervical epithelia in rabbits and cattle, Acta Histochem. Bd 39 : 195-205.
9. Hafez ESE (1987) Anatomy of female reproduction. In: Reproduction in farm animals. Ed. ESE Hafez. Lee and Fabiger Philadelphia, p57.
10. Hamana K, El- Banna AA, Hafes ESE (1971) Sialic acid some physicochemical charecteristics of bovine cervical mucus, Cornel Vet., 61: 104-113.

11. Hartman CG (1962) Cyclic changes in the endocervix of the monkey and the origin of the cervical mucus, Ann. NY. Acad. Sci., 97: 564-570.
12. Heydon RA, Adams MR (1979) Comparative morpology and mucus histochemistry of the ruminant cervix: Differences between crypt and surface epithelium, Biol. Reprod., 21: 557-562.
13. International atomic energy agency (1984) Laboratory training manual on radioimmunoassay in animal reproduction, Technical Report Series No: 233, Vienna.
14. Joshi CL, Nand BS, Saigal RP (1976) Histomorphological and histochemical studies on the female genitalia of the ageing goat, II. Glands in cervix uteri, Anat. Anz. Bd. 139: 193-199.
15. Karvovsky MJ (1965) A Formaldehyde fixative of high osmolality for use in electromicroscopy, J. Cell. Biol., 45: 407-408.
16. Luna LG (1968) Methods For carbohydrates and mucoproteins. In: Manual of histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, Mc Graw-Hill Book Company, New York, pp: 163,168,171.
17. Marinov U, Lovell JE (1967) Secretory and ciliated cells of the bovine cervix, Am. J. Vet. Res., 28: 1763-1772.
18. Mc Manus JFA (1946) Histological Demonstration of mucin after periodic acid, Nature, 158:202.
19. Mogissi KS (1966) Cyclic changes of cervical mucus in normal and progestin treated women, Fertil. Steril., 17: 663-674.
20. Mullins KJ, Saacke RG (1989) Study of the functional anatomy of bovine cervical mucosa with special reference to mucus secretion and sperm transport, Anat. Rec., 225: 106-107.
21. Odor DL, Horacek MJ (1971) Morphometric analysis of rabbit cervical epithelium under varying hormonal conditions, Anat. Rec., 220: 71
22. Odor DL, Blandav RJ (1988) Light and electron microscopic observation on the cervical epithelium of the rabbit, I. Am. J. Anat., 181: 289 -319.
23. Sato M, Masaki J, Ohta M, Nihei A (1982) Morphological Observations of the crypt and mucus of the bovine cervix. Jap. Zootechn. Sci., 53: 381-387.
24. Spicer SS, Mayer DB (1960) Histochemical differentiation of acid mucopolysaccharides by means of combined aldehyde fuchsin-alcian blue staining, Techn. Bull Regist Med. Techn., 30: 53-60.
25. Weikel W, Wagner R, Moll R (1987) Charecterization of subcolumnar reserve cells and other epithelia of human uterine cervix, Virchows Arch. B., 54: 98-110.
26. Wordinger RJ, Dickey JF, Hill JR (1972) Influence of a progestogen on the histogogy and carbohydrate histochemistry of the bovine cervical mucosa, J. Anim. Sci., 35: 830-835.
27. Wordinger RJ, Ramsey JB, Dickey JF, Hill JR (1973) On the presence of a ciliated columnar epithelial cell type within the bovine cervical mucosa, J. Anim. Sci., 36: 936-940.
28. Wrobel KH (1971) Histologische, Histochemische und Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Cervix uteri des Rindes, Verlag Paul Parey Berlin, pp: 24-35.