Archive of SID

تأثیر یرقان انسدادی بر روی گنادوتروپین‌ها و آپوپتوز سلولهای زاینده بیضه موشهای صحرائی بالغ

ابراهیم نصیری .M.Sc☆، سید محمدحسین نوری موگهی .Ph.D☆، احمدرضا دهپور .Ph.D★
علی‌اکبر امیرزرگر .Ph.D★، محمد بربرستانی .Ph.D☆، میرعباس عبدالوهابی .Ph.D☆
محمد اکبری .Ph.D☆، علیرضا رفیعی .Ph.D★

☆ دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه علوم تشریح

★ دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه فارماکولوژی

★ دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه ایمونولوژی

♦ آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی ۴۴۱۵۵-۶۴۴۷، دانشگاه علوم پزشکی تهران
دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح

چکیده

* **هدف:** بررسی تغییرات احتمالی هورمونهای گنادوتروپین، Inhibin B و میزان آپوپتوز سلول‌های زاینده در موش کلستاتیک

* **مواد و روشها:** در این مطالعه از سه گروه هشت سری موش صحرایی به شرح ذیل استفاده شد: شاهد (بدون جراحی)، شاهد جراحی یا SHAm (جراحی بدون انسداد مجرای صفراوی) و گروه کلستاتیک (جراحی همراه با انسداد مجرای صفراوی). سه هفته بعد از جراحی غلظت سرمی هورمونهای FSH و LH با روش ایمونورادیومتریک‌اسی (IRMA)، میزان Inhibin B با روش آنزیم ایمونو اسی (ELISA) و آپوپتوز سلول‌های زاینده بیضه موش با روش TUNEL اندازه‌گیری شد.

* **یافته‌ها:** نتایج این پژوهش بیانگر کاهش معنی دار هورمونهای FSH و LH در گروه کلستاتیک نسبت به گروههای شاهد و شاهد جراحی بود ($P<0/05$). در حالیکه سطح پلاسمای Inhibin B در گروه کلستاتیک نسبت به گروههای دیگر افزایش قابل ملاحظه‌ای ($P<0/05$) را نشان داد، ولی تغییر معنی دار در شاخص آپوپتوز سلولهای زاینده گروه کلستایتک نسبت به گروههای دیگر مشاهده نشد ($P<0/19$).

* **نتیجه‌گیری:** یرقان انسدادی حاد باعث کاهش هورمون‌های گنادوتروپینی می‌شود ولی تأثیر معنی داری روی آپوپتوز سلولهای زاینده بیضه ندارد. لذا به نظر می‌رسد که آپوپتوز سلولهای زاینده بیضه موشهای بالغ تنها وابسته به هورمونهای گنادوتروپین نیست و امکان دخالت فاکتورهای دیگر نیز در این خصوص وجود دارد.

گل واژگان: یرقان انسدادی، گنادوتروپینها، آپوپتوزیس و اسپرماتوژنزیس

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

کلستاز انسدادی حاد نوعی بیماری کبدی است که بیشتر به علت گیر کردن سنگ صفراوی در مجرای مشترک، آمپول واتر یا کارسینومای سرپانکراس بوجود می‌آید. دوره این بیماری سه هفته است که بعد از این دوره بیماری مزمن شده و تبدیل به سیروز کبدی می‌گردد. این بیماری با تجمع نمکهای صفراوی و بیلی روبین در پلاسما همراه است. تحقیقات جدید در کستاز انسدادی افزایش اوپیوئیدی درونساز، نیتریک اکساید، استرس‌های اکسیداتیو و سیتوکین‌ها را در پلاسما نشان می‌دهد (۵-۱). بیشتر این فاکتورها روی محور جنسی مؤثر بوده، باعث تغییر در ترشح گنادوتروپین‌ها می‌گردند. اوپیوئیدهای اندوژن ترشح گنادوتروپینها را با مهار هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH)[1] مترشحه از هیپوتالاموس، کاهش می‌دهد (۶). نیتریک اکساید اگزوژن باعث مهار محور هیپوتالاموس - هیپوفیز، گناد (HPG)[2] می‌شود (۷) که اثرات آن بر آپوپتوز، بر اساس میزان آن در بافت و سلول، متفاوت است. در بعضی از شرایط باعث القاء آپوپتوز می‌شود. افزایش استرس‌های اکسیداتیو در افراد دیابتیک و افزایش سیتوکین‌ها در بیماری‌های التهابی باعث کاهش گنادوتروپین‌ها می‌شود (۴، ۵). هورمونهای محور جنسی فرایند استروئیدوژنز و اسپرماتوژنز را کنترل می‌کند. هورمون لوتئینه (LH) از هیپوفیز قدامی ترشح شده و سلول‌های لایدیگ بیضه را در جهت تولید تستوسترون و ۱۷- بتا استرادیول تحریک می‌کنند. تستوسترون نیز به صورت فیدبک منفی ترشح هورمون LH را کنترل می‌کند (۸). هورمون محرک - فولیکولی FSH، فرآیند اسپرماتوژنز را در سلول‌های زاینده، تولید هورمون مهاری B[3] را در سلول سرتولی تحریک می‌کند (۹، ۱۰). هورمون مهاری B نیز به صورت پس خورد منفی بر ترشح FSH تأثیر می‌گذارد (۱۱). هورمونهای مهاری از دو پپتید غیر مشابه (بنام زیر واحدهای آلفا و بتا) تشکیل شده‌اند که با پیوندهای دی سولفید به هم متصل هستند. دو نوع هورمون مهاری A و B کشف شده‌اند که زیر واحد آلفای آنها یکسان است. اما زیر واحد بتای آنها متفاوت و در عین حال مرتبط با هم است. بنابراین هورمونهای مهاری دارای سه زیر واحد آلفا، بتا - A و بتا - B هستند (۱۲). از آنجائیکه مقدار هورمون مهاری A (آلفا و بتا - A) در سرم جنس نر خیلی کم (<2pg/ml) است، فاقد اهمیت فیزیولوژیک است (۱۳). ولی مقدار هورمون مهاری B (آلفا و بتا - B) قابل توجه بوده و به عنوان شاخص خوب[4] اسپرماتوژنزیس و عملکرد سلولهای بیضه محسوب می‌شود (۱۴).

بقای سلولهای زاینده بیضه وابسته به حضور گنادوتروپین است و کاهش آن منجر به افزایش آپوپتوز سلولهای زاینده می‌گردد (۱۵). بنابراین بنظر می‌رسد که در کلستاز انسدادی احتمال تغییر در ترشح گنادوتروپین و میزان آپوپتوز سلولهای زاینده در موش کلستاتیک وجود دارد.

مواد و روشها

* مواد

کیتهای ایمونورادیومتریک (IRMA)[5] برای سنجش هورمون‌های FSH و LH از شرکت دی - اس - ال (DSL) (وبستر، تگزاس، آمریکا) خریداری شد. کیت آنزیم ایمونواسی[6] هورمون مهاری B از شرکت سروتک (آکسفورد، انگلستان) تهیه گردید.

و برای بررسی آپوپتوز سلولهای زاینده از کیت تشخیصی Klenow-FragEL DNA Fragmentation از شرکت Oncogen (USA, MI) استفاده گردید.

موشهای صحرایی نر ۱۲-۱۶ هفته‌ای با وزن ۲۰۰-۲۵۰ گرم، نژاد Spraque-Dawley از بخش حیوانات آزمایشگاهی انیستیتوپاستور کرج تهیه گردیدند.

* روشها

قبل از انجام مطالعه، موشها به بخش حیوانات آزمایشگاهی بخش فارماکولوژی دانشکده پزشکی منتقل و با حیوانات بر اساس مقررات و دستورالعملهای تدوین شده NIH[7] رفتار شد. موشها بطور تصادفی به سه گروه هشت تایی، گروه شاهد (بدون جراحی)، گروه شاهد - جراحی یا sham (جراحی بدون انسداد مجرای صفراوی) و گروه آزمایش یا کلستاتیک (جراحی همراه با انسداد مجرای صفراوی) تقسیم شدند و در تمام مدت مطالعه غذای پلیت و آب به میزان کافی در اختیار حیوانات قرار داشت و با برقراری سیکل ۱۲ ساعت روشنائی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. انسداد مجرای صفراوی بر اساس پروتکل موجود در مطالعات قبلی صورت گرفت (۱۶).

برای بیهوشی کامل از کتامین (داخل صفاتی ۵۰mg/kg) و کلروپرومازین (۱۰mg/kg) لاپاراتومی استفاده شد.

در گروه شاهد - جراحی، مجرای صفراوی با استفاده از پنست فقط مشاهده گردید، در گروه کلستاتیک، مجرای صفراوی با دو گره در فاصله چند میلی متری بسته شد و حدفاصل بین دو گره با قیچی قطع و جدار شکم در دو لایه فاسیا و پوست بخیه شد. میزان مرگ و میر بعد از عمل در گروه آزمایش حدوداً ۱۰درصد بود. بعد از ۲۱ روز موشهای صحرایی ابتدا با اتر بیهوش و سپس قطع نخاع شدند و مقدار ۵ سی‌سی خون با سرنگ استریل از قلب استخراج و سرم با سانتریفوژ نمونه‌ها در ۱۵۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه جداگردید.

سرم‌ها تا زمان آزمایش در منهای هفتاد درجه نگهداری و همزمان بیضه‌های حیوان برداشته و بعد از شستشو با سرم فیزیولوژی در محلول فیکساتیو بوئن برای ارزیابی آپوپتوز سلولهای زاینده نگهداری شد.

مقادیر FSH سرم با روش ایمونورادیومتریک و استفاده از آنتی بادی مونوکلونال ضد FSH موش صحرایی متصل به لوله‌های پلی‌استیرنی با قابلیت تسخیر FSH موش صحرایی در حضور آنتی‌بادی مونوکلونال ثانویه حاوی یدید رادیواکتیو

1. Ginadotropin-Releasing Hormone
2. Hypothalamus Pitiatury Gonad
3. Inhibin B
4. Good Marker
5. Immunoradiometric Assay
6. Immounoassay Kit
7. Health National-Institute

www.SID.ir

Archive of SID

ضد FSH موش صحرایی، بر اساس دستورالعملهای شرکت تولید کننده کیت و با استفاده از دستگاه گاما کانتر اندازه گیری شد (۸).

مقادیر LH سرم با روش ایمونورادیومتریک (IRMA) رقابتی با استفاده از LH رتی حاوی پدید رادیواکتیو (۱۲۵) و آنتی بادی مونوکلونال ضد پدید رادیواکتیو تهیه شده در خرگوش، بر اساس دستورالعملهای شرکت تولید کننده کیت و با استفاده از دستگاه گاما کانتر اندازه گیری شد (۸).

مقدار هورمون مهاری B سرم با روش ساندویچ ایمونواسی آنزیم (ELISA) بعنوان روشی با حساسیت و ویژگی بالا انجام شد. برای افزایش حساسیت و ویژگی تستها ابتدا نمونه‌ها با افزودن SDS[1] به مدت سه دقیقه در ۱۰۰°C حرارت داده شده و پس از برودت با محلول ۶درصد پروکسید هیدروژن تازه مجاور گردید. این سنجش بر اساس آنتی بادی تسخیر کننده تحت واحدهای α و β inhibin است. برای این منظور آنزیم الکالین فسفاتاز با واحد آلفا کونژوگه گردیده و حاصل جذب فرایند آنالیز فتومتریک در طول موج ۴۹۰nm خوانده می‌شود. رقت این تست تقریباً ۱۵pg/mL است و بر اساس دستورالعملهای شرکت تولید کننده سنجیده شد (۸).

* نشاندار کردن برشهای بافتی بیضه

برای تعیین سلولهای آپوپتوتیک از روش TUNEL بر اساس دستورالعملهای Klenow-FragEL DNA Fragmentation Detection Kit (Oncoge Research USA) استفاده گردید. برشهای بافتی در گزیل پارافین‌گیری، سپس در درجات مختلف الکل آبگیری و در نهایت با PBS شستو شدند. برای تراواسازی، نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق با ۲۰μg\mL محلول پروتئیناز K رقیق شده با (10mm. Tris-HCL, PH7.4) مجاور شد. برای غیر فعال ساختن آنزیم پراکسیداز درونساز نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در محلول ۳درصد H_2O_2 در متانول قرار داده شدند. برای نشاندار کردن درجا نمونه‌ها، از واکنش نشاندار سازی Klenow، با استفاده از Digoxigenin-ddUTP غیر رادیواکتیو استفاده شد. بدین منظور نمونه‌های بافتی با آنزیم دی‌اکسی‌نوکلئوتیدیل ترانسفراز انتهای (TdT) و بازهای آلی Digoxigenin-ddUTP در دمای ۳۷°C به مدت ۱/۵ ساعت در اتاقک مرطوب انکوبه شد و گروههای هیدروکسیل انتهایی ′۳ قطعات DNA با ماده Digoxigenin نشاندار شد، سپس واکنش با افزودن بافرهای Stop و Block بترتیب به مدت ۱۰ و ۵ دقیقه متوقف گردید. آنگاه با افزودن آنتی بادی Antidigoxigenin کونژوگه شده نمونه‌ها با پراکسیداز برای ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شده و بعد در محلول 1X TBS چهار بار شستشو داده شد. با افزودن محلول حاوی ۰/۰۵ DAB[2] بمدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق رنگ آمیزی شدند. سپس نمونه‌ها چهار با در آب مقطر (dH2O) شستشو داده شدند و بعد از آن زمینه نمونه‌ها با رنگ متیل گرین[3] بمدت ۵ دقیقه رنگ آمیزی متضاد گردیدند. بعد از آبگیری با الکل و گزیلل، توسط چسب انتالن روی نمونه‌ها با لامل پوشانده شد.

شاخص آپوپتوز با شمارش سلولهای TUNEL مثبت در ۵۰ برش عرضی از مناطق مختلف لوله‌های منی ساز هر گروه محاسبه گردیدند (۲۳). از آنجائیکه میزان آپوپتوزیس در سلولهای اسپرماتوگونی به طور طبیعی بیشتر است در این پژوهش شاخص آپوپتوزیس سلولهای اسپرماتوگونی را برای بررسی آپوپتوز سلولهای زاینده انتخاب نموده‌ایم. پس از شمارش سلولهای اسپرماتوگونیای آپوپتوتیک و غیر آپوپتوتیک شاخص آپوپتوز برای هر لوله منی ساز با استفاده از فرمول زیر تعیین گردید:

$$\text{اندیس آپوپتوتیک} = \frac{\text{تعداد سلولهای آپوپتوتیک}}{\text{تعداد کل سلولها}} \times ۱۰۰$$

* آنالیز آماری

تمامی مقادیر به صورت میانگین ± خطای انحراف معیار استاندارد نشان داده شده است. ارزیابی آماری داده با آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA انجام شد. بر این اساس ارزش P کمتر از $P<۰/۰۵$ از لحاظ آماری معنی‌دار است.

یافته‌ها

یک روز بعد از لاپاراتومی موشهای کلستاتیک علائم کلستازیس (زردی، ادرار تیره، و استاتوره) را بروز دادند و پس از ۲۱ روز کشته شدند و هورمونهای FSH، LH و Inhibin در سرم اندازه گیری شد. میزان آپوپتوز سلولهای زاینده در هر گروه با شمارش سلولهای زاینده TUNEL مثبت در مجاری منی ساز گرد بررسی شد.

* الف) کلستازیس موجب کاهش معنی دار هورمون‌های LH و FSH می‌شود.

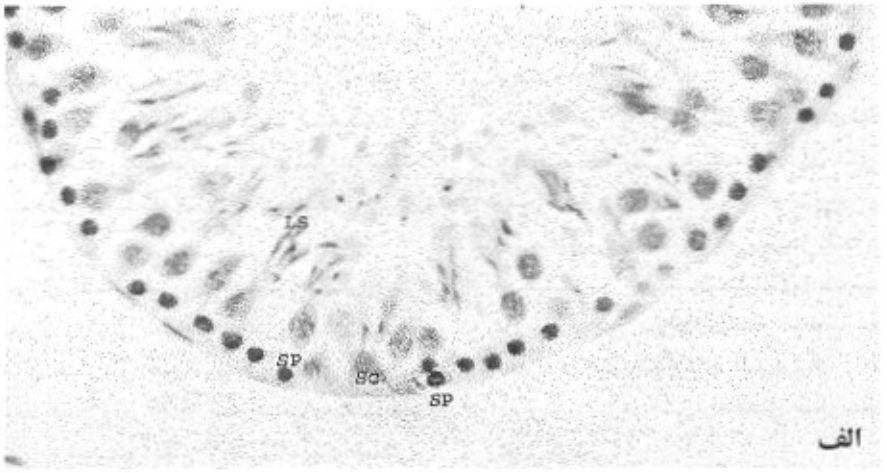
با توجه به نمودار ۱ - الف) میانگین غلظت هورمون FSH در موش کلستاتیک (۱۳/۲۲±۱/۰۳۸ng/ml) نسبت به گروه‌های شاهد (۱۸/۱۴±۱/۲۷ng/ml) و sham (۱۶/۹۲±۱/۰vng/ml) بطور معنی دار کاهش یافت ($P=۰/۰۱۹$).

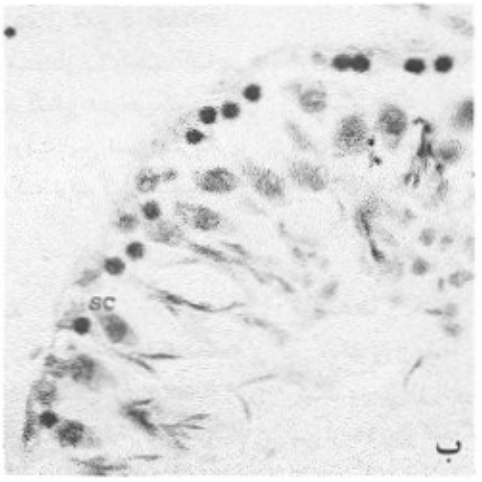
نمودار ۱ - ب) تأثیر کلستاز بر روی هورمون LH را نشان می‌دهد. میانگین غلظت هورمون LH در موش کلستاتیک (۲۱ng/ml/۰±۰/۸۳) نسبت به گروههای شاهد (۲۶ng/ml/۰±۰/۵۸) و sham (۱vng/ml/۰±۰/۸۴) بطور معنی‌دار کاهش داشت ($P=۰/۰۰۲۹$).

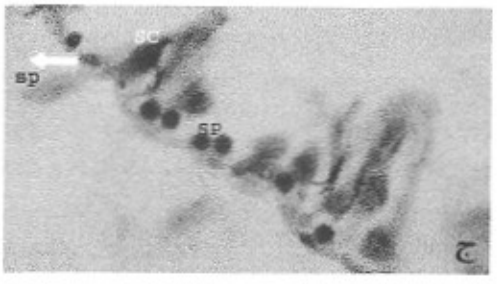
1. Sodium Dodecyle Sulfate
2. Diaminobenzidin
3. Methyl Green

www.SID.ir

Archive of SID







شکل ۱: رنگ‌آمیزی TUNEL سلولهای زاینده مجرای منی ساز بیضه در سه گروه کنترل (الف)، sham (ب) و کلستازیس (ج). سلولهای آپوپتیک TUNEL مثبت، به رنگ قهوه‌ای و سلولهای غیر آپوپتیک توسط متیل گرین به رنگ سبز نشان داده شده است. اسپرماتوگونی SP، سرتولی SC و اسپرماتید دراز نابالغ LS

ب) انسداد مجاری صفراوی موجب افزایش سطح پلاسمای هورمون inhibin B می‌شود.

هورمون inhibin B (نمودار ۱ - ج) در موشهای کلستاتیک (۳۸/۰۸±۲/vpg/ml) نسبت به گروههای شاهد (۲۸/۹±۱/۲۲ng/ml) و sham (۲۷/۵۶±۱/۵۵pg/ml) بطور معنی دار افزایش نشان داد (P=۰/۰۰۴۹).

ج) عدم تأثیر کلستاز انسدادی بر روی آپوپتوز سلولهای زاینده

سلولهای زاینده آپوپتیک در تمامی گروهها دیده شد ولی شاخص آپوپتوز (شکل ۱ و نمودار ۲) در موشهای کلستاتیک (۱/۳۷درصد±۹/۸۹) نسبت به شاهد (۰/۹۱درصد±۷/۰۸) و sham (۱/۱±۷/۲۷) تغییرات معنی‌دار را نشان نداد (P=۰/۱۹).

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

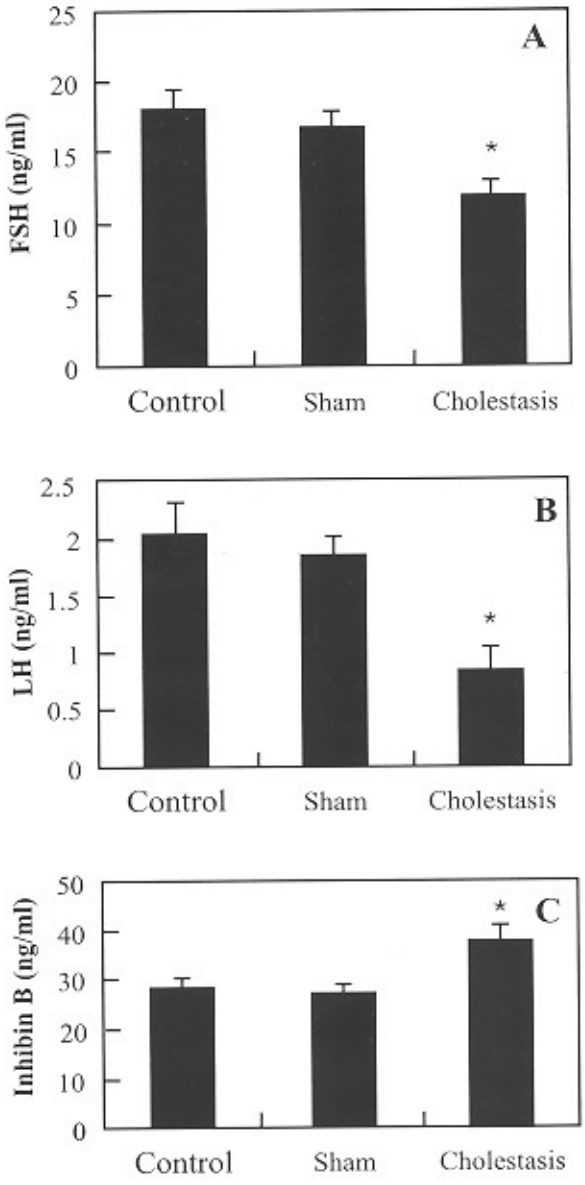
نتایج این بررسی نشان داد که در موشهای کلستاتیک، کاهش معنی داری در ترشح FSH و LH در پلاسما ایجاد شده است. از آنجائیکه در کلستاز چندین فاکتور، شامل: اوپیوئیدها، نیتریک اکساید، استرسهای اکسیداتیو و سیتوکینها افزایش می‌یابند (۵-۱). لذا احتمال می‌رود که افزایش این فاکتورها دلیلی برای کاهش میزان FSH و LH در پلاسمای موشهای کلستاتیک باشد.

کاهش گنادوتروپین‌ها در موشهای معتاد دیده شده است و تجویز اوپیوئیدهای اگزوژن همانند مرفین باعث کاهش سطح سرمی گنادوتروپین‌ها می‌گردد. بنظر می‌رسد اوپیوئیدهای اندوژن ترشح گنادوتروپین را از مهار GnRH از هیپوتالاموس کاهش می‌دهد (۱۷، ۱۸). بنابراین ممکن است افزایش اوپیوئید کلستاز در کاهش گنادوتروپین‌ها نقش داشته باشد.

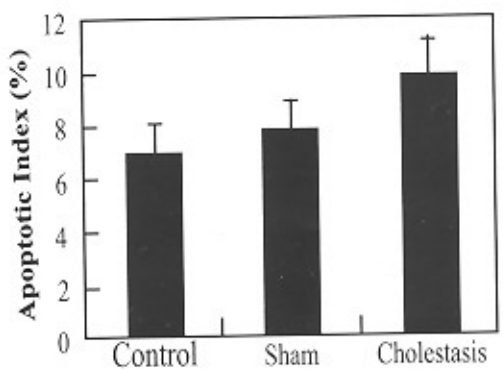
در جریان کلستاز انسدادی افزایش بیش از حد نیتریک اکساید اتفاق می‌افتد که مقدار زیاد آن برای بسیاری از سلول‌ها، عوارض سمی (Cytotoxic) دارد (۱۹). در مطالعاتی که با نیتریک اکساید اگزوژن صورت گرفته است، نیتریک اکساید باعث مهار محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - گناد (HPG) شده است (۷) و تجویز آزاده کنندهٔ نیتریک اکساید (DETO/NO) باعث مهار فرآیند استروئیدوژنزیس در سلول‌های لایدیگ گردیده است (۲۰). لذا این احتمال وجود دارد که افزایش نیتریک اکساید ناشی از کلستازیس بر کاهش گنادوتروپین‌ها دخالت داشته باشد.

استرس‌های اکسیداتیو در افراد کلستاتیک و دیابتیک به شدت افزایش می‌یابد. بنظر می‌رسد در افراد دیابتیک استرس‌های اکسیداتیو بر اثر مهار آنتی اکسیدان‌ها توسط هیپرگلیسمی افزایش می‌یابند. کاهش LH و FSH در افراد دیابتیک را به استرس‌های اکسیداتیو نسبت داده‌اند (۵) به نظر می‌رسد افزایش استرس‌های اکسیداتیو در کلستاز انسدادی در کاهش گنادوتروپین‌ها دخالت داشته باشد.

از نتایج دیگر این پژوهش مشاهده افزایش هورمون مهاری B در گروه کلستاتیک است که بیانگر دو مسئلهٔ مهم است: اول اینکه از ارتباط پس خورد منفی هورمون B و FSHحدس زده می‌شود که کاهش سطح سرمی FSH باعث افزایش هورمون مهاری B شده است دوم اینکه هورمون مهاری B در ارتباط مستقیم با عملکرد سلولهای بیضه بوده و وجود آن بهترین شاخص فعالیت اندوکرینی آنها محسوب می‌شود (۱۰). نتایج این پژوهش در مورد میزان وقوع آپوپتوز در سلولهای زاینده اسپرماتوگونی بیضه نشان می‌دهد. علیرغم کاهش گنادوتروپین‌ها در گروه کلستازیس افزایش معنی داری در آپوپتوز سلولهای زاینده اسپرماتوگونی بیضه رخ نداده است. این نتیجه با گزارش Billig و همکارانش مبنی بر کاهش گنادوتروپین‌ها همراه با افزایش آپوپتوز سلولهای زاینده بیضه همخوانی ندارد (۱۵). این تفاوت احتمالاً بدلیل استفاده آنها از آنتاگونیستهای گنادوتروپین و رتهای جوان (یکماهه) باشد. آنتاگونیستهای گنادوتروپین در رتهای بالغ تقریباً تا ۸۰درصد سطح سرمی FSH و LH را (بدون افزایش مقدار آپوپتوز سلولهای زاینده) راکاهش می‌دهد (۲۳). در پژوهش ما نیز مقدار FSH و LH به



نمودار ۱: تأثیر کلستازیس روی سطح سرمی FSH(A)، LH(B) و Inhibin(C) نشان می‌دهد. علامت (*) نشانگر معنی دار بودن ($P<0.05$) اختلاف میانگین گروه کلستازیس با گروه‌های شاهد و sham می‌باشد.



نمودار ۲: تأثیر کلستازیس روی آپوپتوز سلولهای زاینده بیضه. اعداد بصورت میانگین ± خطای استاندارد معیار بیان شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

ترتیب ۲۵ و ۵۵ درصد در رتهای کلستاتیک کاهش یافت. بنابراین احتمال دارد که فاکتور سن یکی از عوامل موثر در بقای سلول‌های زاینده باشد و هورمون‌های گنادوتروپین در زمان بلوغ تنظیم کننده اصلی سلول‌های زاینده بیضه نباشند (۲۲).

جمع بندی نتایج حاصل از مطالعات فوق نشان می‌دهد که کلستاز انسدادی حاد باعث کاهش هورمون‌های گنادوتروپین می‌شود و این کاهش شاید بخاطر افزایش تون اوپیوئیدها، نیتریک اکساید و یا رادیکالهای آزاد دیگر در موشهای کلستاتیک باشد. کلستاز انسدادی حاد تأثیر معنی داری بر آپوپتوز سلولهای زایندهٔ اسپرماتوگونی در بیضه موش‌های صحرایی ندارد. لذا بنظر می‌رسد که فاکتورهای افزایش یافته در جریان کلستاز، علی رغم کاهش هورمونهای گنادوتروپینی نتوانسته‌اند منجر به تغییرات ریخت‌شناسی و افزایش آپوپتوز سلول‌های زاینده بیضه گردد. بنابراین بنظر می‌رسد که وجود اختلال در محور هورمونی هیپوفیز - بیضه‌ای به تنهائی نمی‌تواند عامل ایجاد آپوپتوز سلولهای زاینده و اختلال در روند اسپرماتوژنز باشد. احتمالاً فاکتورهای دیگری که هنوز ناشناخته‌اند همراه با اختلال هورمونی روی آپوپتوز سلولهای زاینده بیضه تأثیر دارند. بررسی‌های آینده در مورد شناخت عوامل دیگر فاکتورهای بقاء سلول‌های زاینده در جریان کلستاز انسدادی می‌تواند دانش ما در مورد تظاهرات کلستاز کامل‌تر کند.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از پرسنل مرکز تحقیقات غدد درون ریز دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بخصوص از آقای دکتر هدایتی و خانم دکتر آذری و همچنین خانم خسروی از بخش ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران که در انجام سنجش هورمونی و آقای دکتر E.V. Younglai از دانشگاه Mcmaster کانادا که ما را در روش TUNEL Apoptosis یاری نمودند تقدیر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Nahavandi A, Dehpour AR, Mani A, Homayounfar H, Abdoli A, Abdolhoseini MR: The role of nitric oxide in bradycardia of rats with obstructive cholestasis. Europ J of Pharmacol 2001; 411:135-141

2. Dehpour AR, Seyyedi A, Rastegar H, Namirania K, Moezi L, Sadeghipour H, Dehghani M, Jorjani M, Roushanzamir F, Ahmadiani A: The nonadrenergic noncholinergic relaxation of anococcygeus muscles of bile duct-ligated Rats. Europ J Pharmacol 2002; 445:31-36

3. Narimani K, Samini M, Ejtemaei Mehr SH, Gaskari SA, Rastegar H, Homayoun H, Dehpour AR: Mesenteric Vascular bed responsiveness in bile duct-ligated Rats:roles of opioid and nitric oxide systems. Europ J Pharmacol 2001; 423:185-193

4. Zietz B, Wengler I, Messmann H, Lock G, Schomerich J, Straub RH: Early shifts of adrenal steroid synthesis before and after relief of short-term cholestasis. J Hepatol 2001; 35:329-337

5. Abou-seif MA, Youssef AA: Oxidative stress and male IGF-1, gonadotropin and related hormones in diabetic patients. Clin Chem Lab Med 2001; 39(7): 618-623

6. Cicero TJ: Effects of exogenous and endogenous opiates on the hypothalamic- Pituitary-gonodal axis in the male. Fed-Proc 1980; 39(8): 2551-2554

7. Pinilla L, Gonzalez LC, Tena-Sempere M, Bellido C, Aguilar E: Effects of systemic blockade of nitric oxide synthase on pulsatile LH, prolactin and GH secretion in adult male rats. Horm Res 2001; 55(5): 229-235

8. Kolb BA, Frank Stanczyk Z, Rebecca Sokol Z: Serum Inhibin B levels in males with gonadal dysfunction Fertility and Sterility. 2000; 74(2):234-38.

9. Mclachlan RI, Wreford NG, Donnell LO, Kretser DM, Robertson DM: The endocrine regulation of spermatogenesis: independent roles for testosterone and FSH. Journal of Endocrinology. 1996; 148:1-9.

10. Pierik HF, Vreeburg JM, Stijnen T, De Jongand Robertus FH, Weber FA: Serum inhibin B as a marker of spermatogenesis. Journal of clinical Endocrinology and Metabolism. 1998; 83(9): 3110-3114

11. Burger HG, Igarashi M: Inhibin definition and nomenculture, including related substance. J Clin Endocrinol Metab 1988; 66:885-886

12. Wanzhu J, Chandana BH, Yoshida M, Arai KY, Saita E, Zhanquan S, Ren L, Watanabe G, Nigel PG, Taya K: Inhibin B regulation FSH secration during testicular recrudescendce in male Golden Hamster. J Androl 2003; 23(6): 845-853

13. Anderson RA, Wallace EM, Groome NP, Bellis AP, Physiological relationships between inhibin B, FSH secretion and spermatogenesis in normal men and response to gonadotropin suppression by exogenous testosterone. Hum Rep 1997; 12(4): 746-751

14. Meachem SJ, Nieschlag E, Simoni M: Inhibin B in male reproduction: pathophysiology and clinical relevance. European Journal of Endocrinology. 2001; 145: 561-571

15. Billig H, Furuta I, Rivier C, Tapanainen J, Parvinen and Aaron H, Hsueh JW: Apoptosis in testis germ

www.SID.ir

Archive of SID

cells: Developmental changes in gonadotropin dependence and localization to selective tubule stages. Endocrinol 1995; 136(1): 5-12
16. Dehpour AR, Seyyedi A, Rastegar H, Namirania K, Moezi L, Sadeghipour H, Dehghani M, Jorjani M, Roushanzamir F, Ahmadiani A: The nonadrenergic noncholinergic relaxation of anococcygeus muscles of bile duct-ligated Rats. European Journal of Pharmacol 2002; 445: 31-36
17. Cicero TJ, Meyer ER, Wiest WG: Effects ofchronic morphine administration on the reproductive system of male rat. J Pharmacol Exp Ther 1975; 192(3): 542-548
18. Cicero TJ, Bell RD, Meryer ER: Narcotic and the hypothalamic-pituitary-gonadal axis: acute androgen dependent systems. J Pharmacol Exp Ther 1977; 201(1): 76-83
19. Rosselli M, Dubey RK, Imthurn B, Macas E, Keller PJ: Effects of nitric oxide on human spermatozoa: evidence that nitric oxide decrease sperm motility and induces sperm toxicity. Human Reproduction 1995; 10(7): 1786-1790
20. Punta KD, Charreau EH, Pignataro OP: Nitric oxide inhibits Leydig cell steroidgenesis. Endocrinol 1996; 137(12): 5337-5343
21. Dym M, Raj HGM, Lin YC, Chemes HE, Nayfeh SN, French FS: Is FSH required for the maintenance of spermatogenesis in adult rats? J Reprod Fertil Suppl. 1979; 26: 175-181
22. Fujisawa M, Hiramine C, Tanaka H, Okada H, Arakawa S, Kamidono S: Decrease in apoptosis of germ cells in the testes of infertile men with varicocele. Word Journal Urology 1999; 17: 296-300
23. Inaba Y, Fujisawa M, Okada H, Arakawa S, Kamidono S: The apoptotic changes of testicular germ cells in the obstructive Azoospermia models of prepubertal and adult rats. The Journal of Urology 1998; 160: 540-544

www.SID.ir