بررسی توزیع طبیعی اسید سیالیک در روند اسپرماتوژنز موش

*فرزانه زمان سلطانی، دکتر علیرضا محمودیان، دکتر حسن علوی، دکتر علیرضا فاضل

*گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

خلاصه

گلیکوکانجوگیتها در تکثیر، تمایز و میان کنش های سلولی و همچنین فرایند اسپرماتوژنز ولقاح نقش بسیار مهمی دارند. در میان این ترکیبات اسید سیالیک نقش منحصر به فرد و مهمی دارد. مطالعات قبلی صورت گرفته اهمیت و ضرورت وجود این قند انتهایی را در اسپرماتوژنز، بلوغ اسپرم و لقاح نشان داده اند. با توجه به اهمیت این ترکیب و عدم بررسی توزیع طبیعی آن در سلولهای بیضه تاکنون، بر آن شدیم تا با استفاده از روش لکتین هیستوشیمی و لکتین (Wheat germ agglutinin(WGA متصل به Horse radish peroxidase که به طور اختصاصی به این قند متصل می شود، توزیع طبیعی این قند را بررسی کنیم. وجود یك الگوی طبیعی می تواند شناخت موارد پاتولوژیك ایجاد شده توسط عوامل مختلف را میسر سازد. نتایج به دست آمده افزایش تدریجی محتوای اسید سیالیك را در سلول های اسپرماتوگونی تا تشکیل اسپرماتید یا پایان تقسیم میوز نشان می دهد که با کاهش قابل توجه آن در اسپرماتیدهای اولیه پیگیری شده و مجددا درمراحل بعدی اسپرماتوژنز افزایش میزان اسید سیالیك تا بلوغ اسپرم مشاهده می شود. در سلول های سرتولی نیز به طور متوسط و سلول های لیدیگ واکنشی قوی ایجاد می شود. این نتایج ضرورت حضور اسید سیالیك را به عنوان پوششی بر روی گیرنده ها و آنتی ژن های سطحی سلول و/ یا عملکرد آن به عنوان یك گیرنده اختصاصی در تمایز اسپرماتوگونی ها و تقسیم میوز نشان می دهد. افزایش محتوای اسید سیالیك در اسپرمیوژنز و اسپرم بالغ احتمالا بیشتر در ارتباط با نقش پوششی آن بر روی آنتی ژن های سطحی اسپرم می باشد تا نقش گیرندگی آن. حضور گلیکوکانجوگیتهای حاوی اسید سیالیك در سلول های لیدیگ می‌تواند در ارتباط با اتصال این ترکیبات به تستوسترون و انتقال آن به جریان خون یا لوله‌های منی ساز باشد.

کلمات کلیدی : اسپرماتوژنز، لکتین، اسید سیالیك، بیضه، گلیکوکانجوگیت.

مقدمه

اسپرماتوژنز یکی از جالبترین مکانیسمهای تکامل سلولی است که در آن سلولهای بنیادی و دیپلوئید اسپرماتوگونی اسپرماتوزوآی هاپلوئید را ایجاد می کنند(۱۲). شروع این فرایند در بیضه و بلوغ متعاقب آن در اپیدیدیم مستلزم عبور از چندین مرحله است که منجر به ایجاد اسپرماتوزآی متحرکی می شود که قادر به بارور کردن تخمك می باشد. شواهد فراوانی نشان می دهند که غشاء پلاسمایی ویژگی های متفاوتی را در طول اسپرماتوژنز کسب می کند(۵).

گلیکوپروتئینهای غشاء پلاسمایی در تمایز سلولی بسیاری از سیستمهای بیولوژیك نقشی تعیین کننده دارند. تصور می شود این ترکیبات در سطح سلول میانجی میانکنشهای اختصاصی سلول به سلول باشند. همچنین در اعمال دیگر سلولی نظیر پینوسیتوز و تکثیر نیز ممکن است درگیر باشند. بنابراین احتمالا گلیکوپروتئین های غشاء از عوامل مهم تمایز و تداخل عمل در طول اسپرماتوژنز در پستانداران هستند که تکثیر میتوزی و میوزی تغییرات برجسته در شکل سلول و اتصالات و چسبندگی‌های سلولی وسیع بین سلولهای زایا و سرتولی را فراهم می‌کنند(۷). این ترکیبات علاوه بر غشاء در تشکیل اکروزوم نیز دخالت دارند (۵). بسیاری از آنزیمهای اکروزومی نظیر: هیالورونیداز، ساختار گلیکوپروتئینی دارند. در مورد عمل و تشکیل پلی ساکاریدهای اکروزوم اطلاعات کمی وجود دارد ولی عمل آنها را در ارتباط با ظرفیت گیری و فعال

Archive of SID

www.SID.ir

سازی اکروزوم دانسته‌اند(۱۳). درمیان این گلیکوکانجوگیت‌ها اسید سیالیك دارای نقش برجسته ومهمی است. پوشانیدن نواحی آنتی ژنیك وشناسایی موجود بر روی اسپرم توسط اسید سیالیك باعث حفاظت اسپرمها درحین عبور از مسیر تناسلی مؤنث می شود. این در حالی است که پس از رسیدن اسپرم به تخمك برداشته شدن اسیدسیالیك از غشاءپلاسمایی برای ظرفیت گیری مورد نیاز است و باعث می‌شود که آنتی ژن‌ها و لیگاندهای خاص کربوهیدراتی مسئول شناسایی منطقه شفاف تخمك درسطح اسپرم ظاهر شوند(۱۰). گانگلیوزیدها گلیکولیپیدهای پیچیده‌ای هستند که حاوی حداقل یك عامل اسید سیالیك هستند (۴). گانگلیوزیدهای کمپلکس برای انتقال تستوسترون از سلول‌های لایدیگ به داخل لوله منی ساز و جریان خون ضروری هستند. این ترکیبات در اسپرماتوژنزنیز نقشی اساسی دارند(۱۵).

مطالعات صورت گرفته قبلی در گونه‌های مختلف حیوانات اهمیت اسید سیالیك را نشان می دهند. به عنوان مثال تجویز مزمن ماری جوآنا در سگ باعث نکروز و دژنره شدن لوله های منی ساز و توقف کامل اسپرماتوژنز می‌گردد. کاهش میزان اسید سیالیك در سلولهای بیضه و اپیدیدیم یکی از یافته‌های این بررسی بوده است(۸). مطالعه دیگر صورت گرفته در مورد اثرات الکل بر بلوغ اسپرم تاثیر منفی الکل بر بلوغ اسپرم را نشان داده است و یکی از یافته های این بررسی نیز کاهش میزان اسید سیالیك اسپرم بوده است(۱۴). عبور اسپرم از اپیدیدیم نیز که منجر به بلوغ کامل اسپرم می گردد نیز همراه با افزایش اسید سیالیك گزارش شده است (۹). موش‌های مذکری که به صورت هموزایگوت در ژن سازنده آنزیمی که مسئول ساخت گانگلیوزیدهای کمپلکس می‌باشد نقص دارند، عقیم هستند که ارتباط احتمالی آن با نقش اسید سیالیك در انتقال تستوسترون از سلول‌های لیدیگ به لوله‌های منی ساز و جریان خون را مطرح ساخته است (۱۵).

اخیرا لکتین‌های متصل به فلوروکرمها، فریتین یا پراکسیداز برای ردیابی حضور گلیکوکانجوگیت‌ها با واحدهای قندی خاص در بافت‌ها و سلول‌ها به طور وسیعی به کار گرفته شده اند (۴). این مواد پروتئین‌هایی هستند که به وسیله تفاوت تمایلشان برای اتصال به کربوهیدراتهای ویژه مشخص می‌گردند. لکتین‌ها ابزاری سودمند برای بررسی سطح سلول پیگیری تمایز سلولی یا تغییرات سلولی و بررسی ساختمان و سازماندهی قندهای غشاء سلول می‌باشند (۶). یکی از این لکتین‌ها Wheat germ agglutinin or Triticum vulgaris(WGA) می‌باشد که به طور اختصاصی به قند اسید سیالیك متصل می‌شود (۵،۱۰،۱۱). با توجه به اینکه توزیع طبیعی اسید سیالیك در روند اسپرماتوژنز در موش تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است، برای تعیین الگوی توزیع طبیعی این ماده در فرایند اسپرماتوژنز موش با استفاده از لکتین WGA این بررسی صورت گرفت. وجود یك الگوی طبیعی باعث می شود تا در مطالعات بعدی بتوانیم موارد پاتولوژیك را که بر اثر عوامل مختلف ممکن است رخ دهد، تشخیص دهیم.

مواد و روش کار

روش تهیه بافت و آماده سازی مقاطع : این بررسی بر روی ۱۵موش مذکر بالغ از نژاد BALB/c با سنین ۲ تا ۴ ماهه، تهیه شده از مرکز سرم سازی رازی مشهد، انجام شد. تحت شرایط بیهوشی با کلروفرم، بیضه‌ها، خارج و به مدت ۴۸ ساعت در فیکساتورهای B4G (۲،۱) و بوئن (۵) قرار گرفتند. B4G شامل شش درصد کلرید مرکوریك ، یك درصد گلوتارالدئید و یك در صد استات سدیم می باشد (۱). پس از فیکساسیون مراحل آماده سازی و معمولی یعنی آب‌گیری در الکل‌های صعودی، شفاف سازی در گزیلل، آغشته سازی و قالب‌گیری با پارافین را طی کرده و از بلوك های پارافینی به دست آمده برش های ۵ میکرونی تهیه شد(۵) .

Archive of SID

www.SID.ir

روش لکتین هیستوشیمی : مقاطعی که با B4G فیکس شده بودند، به منظور برداشتن کامل املاح مرکوریك موجود در فیکس(B4G) به مدت ده دقیقه در محلولAlcoholic iodine قرارگرفتند(۱). پس از شستشو به مدت نیم ساعت در محلول بافر فسفات سالین قرار گرفتند(۱). بر روی هر لام چند قطره لکتین Wheat germ agglutinin (WGA)، رقیق شده با بافر فسفات به نسبت ۱:۱۰۰ ریخته شد (۳،۲). این لکتین به صورت کونژوگه با Horse radish peroxidase (HRP) از شرکت سیگما خریداری شده بود.

پس از گذشت ۲ ساعت، کلیه لامها با بافر فسفات سالین شسته و به مدت ده دقیقه در مجاورت (DAB) Diaminobenzidine با غلظت ۰۳٪ در بافر فسفات که به آن ۲۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه افزوده شده بود، قرار گرفتند. سپس کلیه لامها به مدت پنج دقیقه در محلول آلسین بلو با pH= ۲/۵ به منظور ایجاد رنگ زمینه قرار گرفتند. پس از آن مراحل معمول آزمایشگاهی برای آماده سازی لامها صورت گرفته و لامهای آماده شده با میکروسکوپ معمولی نوری بررسی شد (۳،۲،۱) براساس شدت واکنش در سلولهای مختلف و با استفاده از روش Gong & Stefes نمرات صفر تا ۴+ برای هر یك از آنها منظورشد.

نتایج

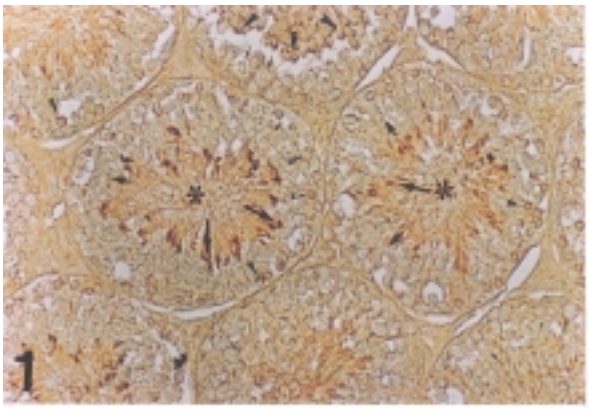
نمونه های فیکس شده با(B4G)

اسپرماتوگونی نوع A ، درکلیه مقاطع لوله‌های منی ساز و در تمام مراحل اسپرماتوژنز واکنش سیتوپلاسمی واکنش متوسطی (++) را نشان داد (تصویر ۳و۴). اسپرماتوگونی نوع B نیز که فقط در مرحله V وIV در لوله ها ظاهر می‌شود، واکنش متوسط (++) سیتوپلاسمی نشان داد. اسپرماتوسیت اول در مراحل مختلف تکامل خود به نحو متفاوتی واکنش ایجاد کرده بود، به این صورت که در فاز استراحت خود همانند اسپرماتوگونی واکنش متوسط (++) سیتوپلاسمی ظاهر می‌کند ولی با تکامل در مراحل لپتوتن و زایگوتن تقسیم اول میوز، به تدریج بر شدت واکنش افزوده می‌شود و در ابتدای پاکیتن واکنش قوی (+ + +) سیتوپلاسمی درآن دیده می‌شود (تصویر۲و۳). در مراحل انتهایی پاکیتن علاوه بر واکنش سیتوپلاسمی در ناحیه گلژی نیز واکنش شدید (+ + + +) ملاحظه می‌شود و بالاخره درمرحله دیاکینز که هسته رویت نمی‌گردد، واکنش در اسپرماتوسیت اول در سیتوپلاسم شدید (+ + + +) می‌شود (تصویر ۴) . همین شدت واکنش در اسپرماتوسیت II که به ندرت و فقط در مرحله XII اسپرماتوژنز رویت می‌گردد، حفظ می‌شود ولی از شدت واکنش در اسپرماتید های گرد در ابتدا به شدت کاسته می شود و به یك واکنش متوسط سیتوپلاسمی (+ +) محدود می‌گردد که با پیشرفت بلوغ در اسپرماتیدهای اولیه یا گرد نقطه مدوری با واکنش قوی (+ + +) در آن ظاهر می شود (تصویر۱و۲و۳) و در مراحل بعدی تکامل اسپرماتید از حالت مدور به صورت هلالی یا کلاهکی تغییر شکل داده وتوسعه می یابد و بر شدت واکنش سیتوپلاسمی نیز افزوده می‌گردد (تصویر۱). در اسپرماتیدهای انتهایی (مراحل ۱۶-۱۰ اسپرمیوژنز) واکنش سیتوپلاسمی (+ +) و واکنش در آکروزوم شدید (+ + + +) می‌گردد (تصویر ۴). در مورد سلول های سرتولی، به خصوص در سیتوپلاسم راسی واکنش متوسط(+ +) دیده می‌شود و به نظر می‌رسد شدت واکنش در سیتوپلاسم راسی از نواحی قاعده‌ای شدیدتر است. واکنش سلول‌های لیدیگ به WGA متوسط (+ +) به نظر می رسد(تصویر ۲) .

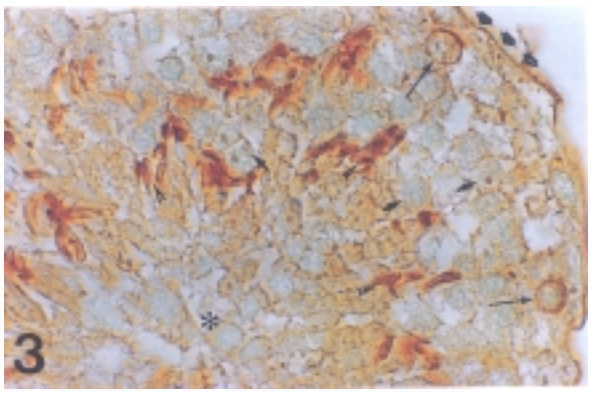
نمونه های فیکس شده با محلول بوئن

واکنش عمومی نسبتا قوی در کلیه عناصر و سلول‌ها و بافت بینابینی بیضه ملاحظه شد. این یکنواختی ارزیابی تکامل سلول‌ها و همچنین آکروزوم را مشکل ساخته و ظاهرا بین سلول‌ها و ساختمان های مختلف از نظر شدت واکنش تفاوت بارز و چشمگیری به نظر نمی‌رسید به جز این که با وجود یکنواختی واکنش اسپرماتیدهای انتهایی واکنش شدیدتری ایجاد کرده بودند.

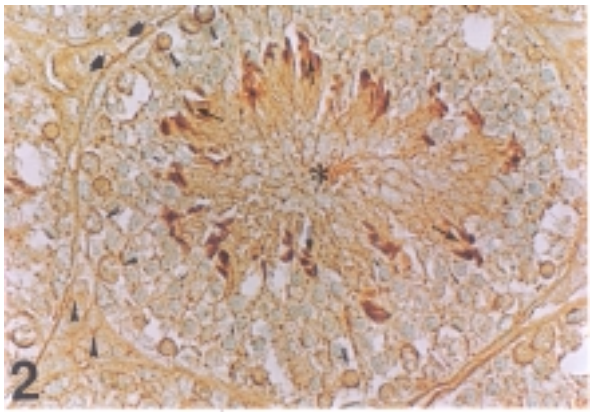
Archive of SID
www.SID.ir



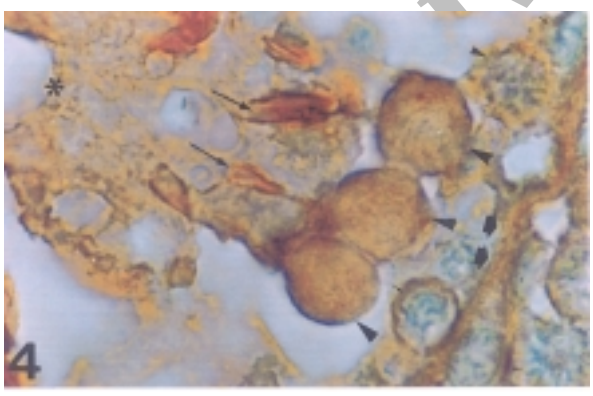
نصویر۱ : مقطع عرضی لوله های منی ساز، بزرگنمایی ۳/۳×۱۰×۲۰، لکتین WGA.
ستاره :مجرای لوله منی ساز، فلش کوچک :اسپرماتوسیت اول درانتهای پاکیتن، سرفلش کوچک :اسپرماتوسیت اول درابتدای پاکیتن،پیکان کوتاه : اسپرماتید گرد یا اولیه در مراحل اول اسپرمیوژنز، سرفلش بزرگ: اسپرماتید گرد یا اولیه در مراحل انتهایی تکامل خود،پیکان بلند: اسپرماتید انتهایی(late) .



تصویر ۳ : مقطع عرضی بخشی از یک لوله منی ساز، بزرگنمایی ۲/۵×۱۰×۴۰ ، لکتین WGA.
ستاره: مجرای لوله منی ساز، پیکان کوتاه وپهن:غشاءپایه لوله منی ساز، فلش کوچک: اسپرماتوگونی، پیکان بلند : اسپرماتوسیت اول درابتدای پاکیتن، پیکان کوتاه: اسپرماتید اولیه در ابتدای اسپرمیوژنز، سرفلش: اسپرماتید انتهایی.



تصویر ۲ : مقطع عرضی یک لوله منی ساز، بزرگنمایی ۳/۳×۱۰×۴۰ ، لکتین WGA.
ستاره: مجرای لوله منی ساز، سرفلش کوچک : اسپرماتوسیت اول درمرحله پاکی تن، فلش کوچک :اسپرماتید اولیه در مراحل ابتدایی اسپرمیوژنز، پیکان بزرگ : اسپرماتید انتهایی، سرفلش بزرگ :سلول های لیدیگ در بافت بینابینی، پیکان کوتاه : غشاء پایه لوله منی ساز.



تصویر ٤ :مقطع عرضی بخشی از یک لوله منی ساز، بزرگنمایی ۲/۵×۱۰×۱۰۰، لکتین WGA.
ستاره: مجرای لوله منی ساز، پیکان کوتاه وپهن : غشاء پایه لوله منی ساز، فلش کوچک : اسپرماتوگونی ، سرفلش کوچک، اسپرماتوسیت اول در مرحله زیگوتن ، سر فلش بزرگ: اسپرماتوسیت اول درمرحله دیاکینز، فلش بزرگ : اسپرماتید انتهایی در مرحله ۱۲ اسپرمیوژنز.

www.SID.ir

بحث

گلیکوکانجوگیتهای سطح سلول از عـوامل تنظیم کننده‌ای هستند که مانع اتصال لیگاندها به گیرنده‌های غشاء می‌شوند. همچنـین خود این ترکیبات نیز به عـنوان گیـرنده‌های اختصاصی عمل می‌کنند(۱۶). احتمالا، گلیکوپروتئین‌های غشاء در تمایز و تداخل عمل سلول‌ها در طول اسپرماتوژنز پستانداران نقش مهمی ایفا می‌کنند . واکنش مثبت به لکتین ها که به صورت رنگ قهوه‌ای ظاهر می‌شود، یك واکنش اختصاصی است و WGA به قند انتهایی اسید سیالیك متصل می‌شود. لذا واکنش مثبت به WGA نشان دهنده حضور اسید سیالیك می باشد(۵). افزایش محتوای اسید سیالیك در این سلول‌ها با پیشرفت تکامل آنها می‌باشد. نقطه مدوری که در مراحل پیشرفته تکامل این سلول‌ها با واکنش شدید دیده می‌شود، احتمالا ناحیه گلژی سلول است و ازآنجایی که گلیکوزیلاسـیون در دستگاه گلژی رخ می‌دهد چنین واکنشی قابل پیش بینی است. بیشتر آنزیم های آکروزوم گلیکوپروتئین هستند و این دستگاه در سلولهای اسپرماتوژنیك عامل ساخت وتشکیل آکروزوم می باشد. این وضعیت در اسپرماتوسیت ثانویه نیز حفظ می شود. ظهور و افزایش اسید سیالیك در سلول‌های اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت I وII از دو جنبه قابل بررسی است. اول، نقش اسید سیالیك در ترکیب گلیکوکانجوگیت‌ها به عنوان یك گیـرنده برای لیگاندهایی که درپدیده تمایز و تقسیم میوزی مورد نیازهستند. به طورمثال گلیکوکانجوگیتهای حاوی بنیان انتـهایی اسید سیالیك درغشاء سلولهای اپی‌تلیوم روده گیرنده توکسین ویبریون وبا هستند، اگرچه که این نقش وضعیتی طبیعی نیست ولی بر نقش اسـید سـیالیك به عنوان یك گیرنده دلالت می کند (۴). از طرفی اسید سیالیك به علت داشـتن بار منفی منجر به ایجاد شارژ منفی در سطح سلول می گردد (۴). این شارژ منفی نیز ممکن است در نحوه فعالیت فیزیولوژیك غشاء تاثیرگذار باشد. دومین نقش احتمالی مطرح شونده برای اسید سیالیك نقش پوشانندگی آن است (۱۰). اتصال اسید سیالیك باعث پـنهان شدن قندهای انتهایی می‌شود. که به فعالیت آنها در یك زمان خاص از تکامل نیازی نیست و یا به عنوان یك گیرنده فعالیت آنها باید مهار شود. با توجه به این مطلب ممکن است اسید سیالیـك در این ناحیه از لوله‌های منی ساز باعث جلوگیری از رسیدن لیگاندهایی باشد که درصورت اتصال آنـها به گیرنده‌های غشاء باعث بروز اختلال در فرایند اسپرماتوژنز می‌گردد. پس از انجام تقسیم میوز به نظر می‌رسد کـه نیاز به اسید سیالیك به عنوان گیرنده یا پوشاننده قند انتهایی ویا احیانا هر دوی این موارد کاهش می‌یابد که به صورت کاهش ناگهانی واکنش به WGA در اسپرماتیدهای اولیه ظاهر می‌گردد. با تکامل اسپرماتـیدها محتوای اسید سیالیك به صورت تدریجی افزوده می‌شود که نیاز مجـدد به نقـش اسید سیالیك را مطرح می‌کند. در این مورد خاص باتوجه به بـررسی های انجام شده قبلی نقش پوشانندگی اسید سیالیك بیشتر مطرح است. مطالعات صورت گرفته بر روی اسپرمهایی که تحت اثر سیالیداز قرار گرفته اند، نشان داده است که از میزان لقاح توسط این سلولها در مقایسه با انواع طبیعی به میزان چشمگیری کاسته می شود. علت این کاهش را ظاهرشدن گیرنده‌های سطحی غشاء اسپرم دانسته‌اند که به صورت آنتی ژنیك عمل کرده و باعث می‌شود تا تعداد زیادی از آنها درحین عبور از دستگاه تناسلی مؤنث توقیف شده و از بین بروند و در نتیجه با کاهش میزان اسپرم ها ازمیزان لقاح نیزکاسته می شود (۱۰).

در مورد نمونه‌هایی که با بوئن فیکس شده اند، واکنشی تقریبا یکنواخت و قوی درکلیه عناصر و سلولهای لوله‌های منی ساز ملاحظه شد. وجود چنین واکنشی در بررسی انجام شده توسط Arya و همکارانش بر روی رت نـیز که فقط از این فیکساتیو استفاده کرده بودند، نیز گزارش شده است(۵). یافته‌های او مبنی بر تمایل گسترده WGA به تمام قسمت‌های غشاء پلاسمایی و سیتوپلاسم کلیه سلولهای اسپرماتوژنیك و سلول‌های سرتولی باعـث شد که وی WGA را به عنوان مارکری انتخابی و مناسب برای سلول‌های خاص و یا

Archive of SID

www.SID.ir

ارگانل‌های سلولی در بیضه مناسب نداند(۵). با توجه به واکنش های متفاوت سلولهای بافت بیضه به WGA با دو فیکس مختلف چنین به نظر می‌رسد که عامل نتیجه گیری Arya احتمالا استفاده از فیکساتیو بوئن باشد لذا به نظر می‌رسد که در این مورد استفاده از فیکساتیو بوئن مناسب نبوده و با توجه به نتایج بهتر استفاده از فیکساتیو B4G برای WGA توصیه می گردد.

تقدیر وتشکر

نویسندگان مقاله کمال تشکر و قدردانی خود را از حمایت مالی وهمکاری های صمیمانه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد ابراز می دارند و خدمات فنی خانم متجدد درامرکمك به انجام کارهای آزمایشگاهی نیز قابل تقدیر است.

منابع

۱. فاضل علیرضا ، مطالعات هیستوشیمیایی ترکیبات قندی سطح سلولی لنفوسیت های T در روند تکامل جنینی ، مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد،جلد۳۸ ،شماره ۴۹ ،۱۳۷۴، ۱۳ـ۳ .

۲. فاضل علیرضا ، قربانی کلخواجه رستم ، نقش اختصاصی برخی از گلیکوکانجوگیت ها درتکامل اولیه جوانه اندام جنین، مجله علوم پایه پزشکی ایران، جلد۲، شماره۳، ۱۳۷۸، ۱۶۵ـ۱۵۸.

۳. نیکروش محمدرضا ، فاضل علیرضا ، جلالی مهدی، از مزانشیم تا غضروف : مطالعات لکتین هیستوشیمی درمزانشیم ناحیه شکمی ـ داخلی لوله عصبی درطی رویانی، مجله علوم پایه پزشکی ایران ، جلد ۵، شماره ۲ ، ۱۳۸۱، ۱۰۶ـ۱۰۰.

4. Alberts B., Johnson A., Lewis J., Roberts K. , Watter P., Molecular biology of the cell , Garland Science , New York , Fourth edition , 2002 , 592- 593.
5. Arya M., Vanha-Perttula T., 1984,Distribution of lectin binding in rat testis and epididymis , Andrologia , 16: 495-508.
6. Burkett B., Schulte B. , Spicer S. , 1987, Histochemical evalution of glycoconjugates in the male reproductive tract with lectin-horseradish peroxidase conjugates , The American Journal of Anatomy , 178:23-29.
7. Clarke F. M., Keyes S. , 1984, Identification of spermatogenic cell plasma membrane glycoproteins by two dimensional electrophoresis and lectin blotting, J. Cell Science , 65:233-248.
8. Dixit V. P. , Gupta G. L. , Agrawal M. , 1977, Testicular degeneration and necrosis induced by chronic administration of cannabis extract in dogs , 69(3):299- 305.
9. Magargee S. F., Kunze E. , Hammerstedt R.H. , 1988, Changes in lectine binding features of ram sperm surfaces associated with epididymal maturation and ejaculation, Biol. Reprod., 38(3): 667-685.
10. Montreuil J. , Vliegenthart J. F. G., Schachter H., Glycoproteins II , Elsevier Science B.V., Amsterdom, 1997, 403-455.
11. Moor H. D. M., Hartman T. D., Holt W. V., 1984, The structure and epididymal maturation of the spermatozoon of the common marmoset , J. Anatomy, 138(2):227-235.
12. Saez F. J., Madind J. F.,Aparicio R., Alonso E., Hernandez F.,2000, Glycan residues of N- and O-linked oligosaccarides in the premeiotic spermatogenic cells of the urodele amphibian PleurodelesWaltl Characterized by means of lectin histochemistry,Tissue & Cell,32(4):302-311.
13. Soderstrom K. O., Malmi R., Karjalainen K., 1984, Binding of fluorescein isothiocyanate conjugated lectins to rat spermatogenic cells in tissue sections, Histochemistry,80(6):575-579.
14. Srikanth V., Malini T., Arunakaran J., Govindarajula P., Balasubramaian K., 1999, Effects of ethanol treatment on epididymal secretory products and sperm maturation in albino rats, J. Pharmacol. Exp. Ther., 288(2):509-515.
15. Thierry H., Lesley G. H., 1999, The remodeling of glycoconjugates in mice, Biochemico et Biophysica Acta, 1473:123-136.
16. Tomoya O. A., Hioaki N., Kazuhiro S., Sonoko N., 2002, Germ cell survival through carbohydrate mediated with sertoli cells, Science, 295:124-127.

Archive of SID

www.SID.ir