Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 19:55 +0330 on Wednesday November 22nd 2017

مقاله پژوهشی

تأثیر یرقان انسدادی حاد بر روی پارامترهای اسپرم موش های صحرائی بالغ

دکتر ابراهیم نصیری* ، **دکتر احمدرضا دهپور**** ، **دکتر علیرضا زمانی***** ، **دکتر ایرج امیری***

دریافت : ۸۳/۹/۹ ، پذیرش : ۸۴/۵/۳۰

چکیده:

مقدمه و هدف : کلستاز یا یرقان انسدادی نوعی بیماری کبدی است که با تجمع اسیدهای صفراوی، افزایش تونوس اوپیوئیـدهای درونساز، نیتریک اکساید و سیتوکین ها در پلاسما همراه است. از آنجائیکه این پیامدها میتوانند روی هورمون های جنسـی تـأثیر بگذارند و بلحاظ اینکه باروری مناسب نتیجه توازن فیزیولوژیک هورمون های جنسی می باشـد، ایـن مطالعـه بـه تعیـین تغییـرات احتمالی هورمون های گنادوتروپین و پارامترهای اسپرم در موش کلستاتیک پرداخته است.

روش کار : برای این مطالعه تجربی سه گروه و در هر گروه هشت سر موش صحرایی بکار برده شد : شاهد (بدون جراحی)، شاهد جراحی یا شم (جراحی بدون انسداد مجرای صفراوی) و گروه کلستاتیک (جراحی همراه با انسداد مجرای صفراوی). سه هفته بعد از انجام جراحی غلظت سرمی هورمون هایFSH وLH توسط روش ایمونورادیومتریک اسی و پارامترهای اسپرم با استفاده از میکروسکوپ نوری اندازه گیری شد.

نتایج : نتایج این پژوهش بیانگر کاهش معنی دار هورمون های FSH ، LH در گروه کلسـتاتیک نسـبت بـه گـروه هـای شـاهد و شاهد - جراحی بوده است ($P<۰/۰۵$). ولی تغییـر معنـی داری در پارامترهـا و مورفولـوژی اسـپرم گـروه کلسـتاتیک نسـبت بـه گروههای دیگر مشاهده نشده است($P>۰/۰۵$).

نتیجه نهائی : یرقان انسدادی حاد باعث کاهش هورمون های گنادوتروپینی شده ولی تأثیر معنی داری روی پارامترهای اسپرم نداشته است از نتایج این مطالعه حدس زده می شود که اسپرماتوژنز سلول های زاینده بیضه موش های بالغ تنها وابسته به هورمون های گنادوتروپین نیست بلکه فاکتورهای دیگری نیز ممکن است دخالت داشته باشند.

کلید واژه ها : اسپرم / موش / هورمونهای محرک غدد جنسی / یرقان انسدادی

مقدمه :

کلستاز انسدادی حاد نوعی بیماری کبـدی اسـت کـه بیشتر بعلت گیر کردن سنگ صفراوی در مجرای صـفراوی مشترک، آمپول واتر یـا کارسـینومای سـرپانکراس بوجـود می آید. دوره این بیماری سه هفته بـوده کـه بعـد از ایـن دوره بیمـاری مـزمن شـده و تبـدیل بـه سـیروز کبـدی می گردد، این بیمـاری بـا تجمـع نمـک هـای صـفراوی و بیلی روبین در پلاسما همـراه اسـت. تحقیقـات جدیـد در کلسـتاز انسـدادی افـزایش اوپیوئیـدی درونسـاز، نیتریـک اکسـاید، اسـترس هـای اکسـیداتیو و سـیتوکین هـا را در پلاسما نشان می دهد (۵-۱). بیشـتر ایـن فاکتورهـا روی محـور جنسـی مـؤثر بـوده، باعـث تغییـر در ترشـح گنادوتروپینهـا مـی گردنـد. اوپیوئیـدهای انـدوژن ترشـح گنادوتروپین ها را با مهار هورمون آزاد کننده گنادوتروپین GnRH (Gonadotropin-Releasing Hormone) مترشحه از هیپوتـالاموس، کـاهش مـی دهـد(۶). نیتریـک اکسـاید اگزوژن باعث مهار محـور هیپوتـالاموس- هیپـوفیز- گنـاد HPG (Hypothalamus-Pitiatury-Gonad) می شود (۷).

* استادیار گروه علوم تشریحی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان(ebrahimnasiri@yahoo.com)

** استاد گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

*** استادیار گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 19:55 +0330 on Wednesday November 22nd 2017

هورمون های محور جنسی فرآیند استروئیدوژنز و اسپرماتوژنز را کنترل می‌کند. همچنین تحقیقات زیادی افزایش تولید نیتریک اکساید را در ناباروری نشان می دهند(۱۱-۸). برخی از این تحقیقات نشان می دهد که نیتریک اکساید روی حرکت اسپرم نقش مهاری داشته و افزایش سطح آن موجب ناباروری در مردان می شود (۱۲،۱۳). با در نظر گرفتن اثرات مهاری اوپیوئیدهای درونساز بر روی گنادوتروپینها و نیز نقش مهاری نیتریک اکساید بر روی حرکت اسپرم و نقش احتمالی آن در ناباروری و این واقعیت که سطح اوپیوئیدهای درونساز و نیتریک اکساید در جریان کلستاز افزایش می یابد، منطقی است تصور شود که کلستاز انسدادی می تواند بر روی دستگاه تناسلی تأثیر بگذارد.

بهمین منظور این مطالعه با هدف تعیین تغییرات احتمالی هورمونهای گنادوتروپین و پارامترهای اسپرم در موش کلستاتیک انجام شد.

روش کار:

مواد: کیتهای ایمونورادیومتریک اسی (IRMA) برای سنجش هورمونهای FSH و LH از شرکت دی- اس- ال (Diagnostic Systems Laborotories) (وبستر، تگزاس، امریکا) خریداری شد. موشهای صحرائی نر ۱۲-۱۶ هفته ای با وزن ۲۰۰-۲۵۰گرم، نژاد اسپراک ـ داولی (Spraque-Dawley) از بخش حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور کرج تهیه گردیدند.

روشها: این مطالعه از نوع تجربی می باشد. قبل از انجام مطالعه، موش ها به بخش حیوانات آزمایشگاهی بخش فارماکولوژی دانشکده پزشکی منتقل شد و با حیوانات بر اساس مقررات و دستورالعملهای تدوین شده توسط انستیتو ملی بهداشت آمریکا (Health National Institute USA) رفتار شد. موش ها بطور تصادفی به سه گروه هشت تایی تقسیم شدند. گروه شاهد (بدون جراحی)،گروه شاهد- جراحی یا شم(sham) (جراحی بدون انسداد مجرای صفراوی) و گروه آزمایش یا کلستاتیک BDL (جراحی همراه با انسداد مجرای صفراوی Bile Duct Ligated) 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(۱۴).

برای این منظور تحت بیهوشی کامل با کتامین (داخل صفاقی ۵۰ mg/kg) وکلروپرومازین (۱۰ mg/kg) لاپاراتومی انجام گردید.

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 حد فاصل بین دو گره با قیچی قطع گردید سپس جدار شکم در دو لایه فاسیا و پوست بخیه گردید. میزان مرگ و میر بعد از عمل در گروه آزمایش حدوداً ۱۰٪ بود. بعد از ۲۱ روز موش های صحرایی ابتدا با اتر بیهوش گردیدند و سپس قطع نخاع شدند و مقدار ۵ سی سی خون با استفاده از سرنگ استریل از قلب آنان استخراج شد و سپس با سانتریفوژ نمونه ها در۱۵۰۰ rpm بمدت ۱۰ دقیقه سرم جدا گردید. سرم ها تا زمان آزمایش در منهای هفتاد درجه نگهداری گردیدند. همزمان قسمت دمی اپیدیدیم راست حیوان برداشته شد و بعد از شستشو با سرم فیزیولوژی در محلول بافر۳۷ درجه به میزان ۵ سی سی در یک پلیت قرار گرفت و بوسیله تیغ بیستوری کاملا تکه تکه گردید و در داخل انکوباتور برای ارزیابی پارامترها و مورفولوژی اسپرم نگهداری شد.

مقادیر FSH سرم با روش ایمونورادیومتریک با استفاده از آنتی بادی مونوکلونال ضد FSH رتی متصل به لوله های پلی استیرنی که قابلیت تسخیر FSH رتی را در حضور آنتی بادی مونوکلونال ثانویه حاوی ید رادیواکتیو ضد FSH رتی را دارند و بر اساس دستورالعملهای شرکت تولید کننده کیت وبا استفاده از دستگاه گاما کانتر اندازه گیری شد (۱۵).

مقادیر LH سرم با روش ایمونورادیومتریک رقابتی با استفاده از LH رتی حاوی ید رادیواکتیو (۱۲۵قرمز رنگ) و آنتی بادی پلی کلونال ضد یدید رادیواکتیو تهیه شده در خرگوش و براساس دستورالعملهای شرکت تولید کننده کیت و با استفاده از دستگاه گاما کانتر اندازه گیری شد (۱۵).

برای بررسی موتیلیتی اسپرم، مقداری از نمونه(تکه تکه اپیدیدیم) که در داخل انکوباتور قرار داشت، برداشته و بر روی لام نئوبار قرار دادیم و نمونه را زیر میکروسکوپ نوری گذاشته و با دید ۱۰ بررسی کردیم. اسپرمهایی که حرکت نداشتند شمارش شدند سپس نمونه را فیکس کرده و کل تعداد اسپرمها را شمارش نمودیم. سپس تعداد اسپرمهایی را که حرکت نداشتند از کل اسپرمها کم کردیم و از رابطه زیر موتیلیتی اسپرم ها محاسبه گردید:

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 19:55 +0330 on Wednesday November 22nd 2017

$$\text{موتیلیتی اسپرم} = \frac{\text{۱۰۰× تعداد اسپرمهای بیحرکت ـ تعداد کل اسپرمها}}{\text{تعداد کل اسپرمها}}$$

برای بررسی تعداد اسپرمها هم از لام نئوبار استفاده شد به این طریق که نمونه بدست آمده از اپیدیدیم ۴۰ برابر با فرمالدئید ۰/۵٪ رقیق گردید سپس آن را روی لام نئوبار گذاشته و تعداد اسپرمها در چهار مربع بزرگ شمارش شد، عدد بدست آمده در ۵۰۰۰۰۰ ضرب گردید که عدد حاصل نمایانگر تعداد اسپرمها در اپیدیدیم دمی سمت راست بود(۱۶).

برای بررسی مورفولوژی اسپرم ها از همان نمونه ای که برای بررسی موتیلیتی اسپرم تهیه شده بود استفاده گردید بدین صورت که گستره ای بر روی لام تهیه شد، و بعد در مجاورت هوا خشک گردید. سپس یکبار به آرامی با آب مقطر شستشو داده شد و دوباره در مجاورت هوا خشک گردید. سپس زیر میکروسکوپ نوری با دید ۴۰ مورد بررسی قرار گرفت. در هر نمونه تعداد ۳۰۰ اسپرم بطور دقیق بررسی شدند(۱۷). اسپرمها بر اساس شکل ظاهری به ۵ گروه تقسیم شدند: ۱- طبیعی ۲- بدون دم ۳- ناهنجاری سر با دم سالم ۴- ناهنجاری دم با سر سالم ۵- ناهنجاری توام سر و دم.

آنالیز آماری: تمامی مقادیر بصورت میانگین ± خطای انحراف استاندارد نشان داده شده است، ارزیابی آماری داده ها با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه ANOVA انجام گردید و بر همین اساس ارزشP کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

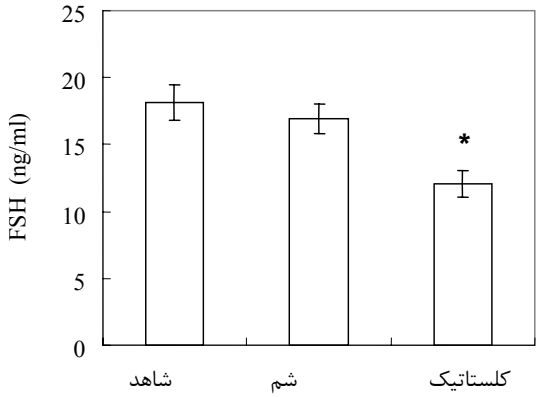
نتایج :

یک روز بعد از لاپاراتومی رتهای کلستاتیک علائم کلستازیس (زردی، ادرار تیره، و استاتوره) را بروز دادند و پس از ۲۱ روز رتها کشته شدند و هورمون های FSH و LH در سرم اندازه گیری گردید و پارامترهای اسپرم نیز بررسی شد.

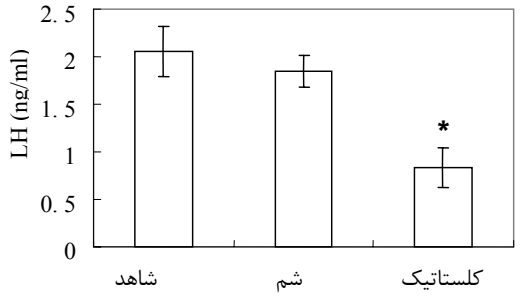
۱) کلستازیس موجب کاهش معنی دار هورمون های FSH و LH میشود.

با توجه به نمودار۱- الف) میانگین غلظت هورمون FSH در موش های کلستاتیک (۱/۰۳۸ ng/ml ± ۱۳/۲۲) نسبت به گروه های شاهد (۱/۲۷ ng/ml ± ۱۸/۱۴) و شم (۱/۰۷ ng/ml ± ۱۶/۹۲) بطور معنی دار کاهش یافت (P= ۰/۰۱۹).

نمودار۱- ب) تاثیر کلستازیس بر روی هورمون LH را نشان می دهد. که در این رابطه میانگین غلظت هورمون LH در موش های کلستاتیک (۰/۲۱ng/ml ±۰/۸۳) نسبت به گروه های شاهد (۰/۲۶ng/ml ± ۲/۰۵۸) وشم(۰/۱۷ng/ml ± ۱/۸۴) بطور معنی دار کاهش داشت(p= ۰/۰۰۲۹).



(الف)



(ب)

نمودار ۱ : تأثیر کلستازیس روی سطح سرمی FSH و LH

علامت (*) نشانگر معنی دار بودن (P<0.05) اختلاف میانگین گروه کلستازیس با گروه های شاهد و شم می باشد.

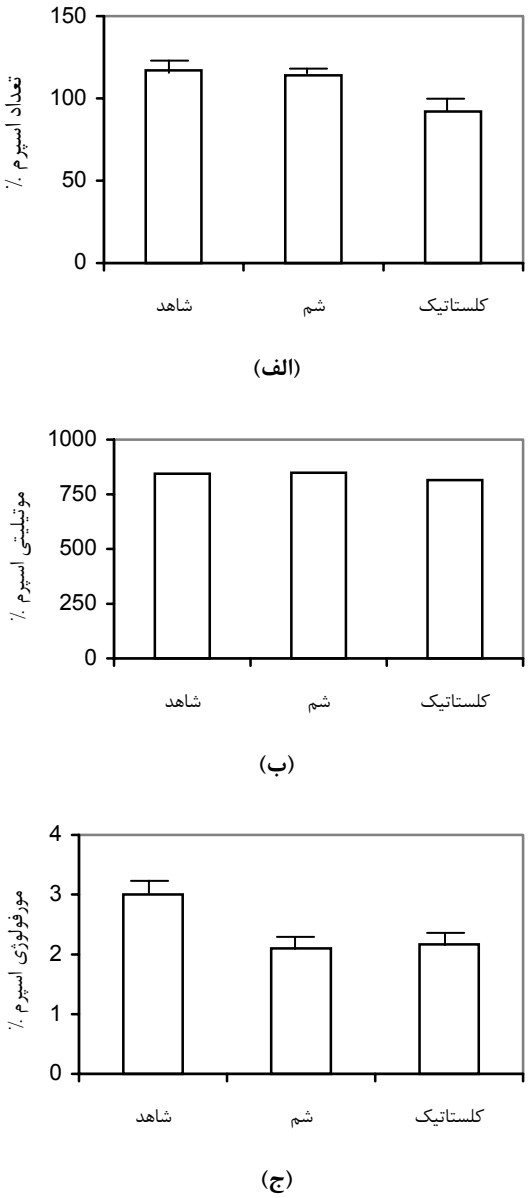
۲) عدم تاثیر کلستاز انسدادی بر روی موتیلیتی، تعداد و مورفولوژی اسپرمها.

تعداد اسپرمها (نمودار۲- الف) در موشهای کلستاتیک (۱۴۱۲ ± ۹۲۶۰۰۰) نسبت به گروه های شاهد (۱۰۶۳ ± ۱۱۷۵۵۵۶) و شم (۵۰۵ ± ۱۱۴۶۰۰۰) تغییرات معنی داری را نشان نداد(P=۰/۲۰۹).

موتیلیتی اسپرمها (نمودار۲- ب) در موشهای کلستاتیک (۴۵۷۸ ± ۸۱۵۰۰) نسبت به گروه های شاهد (۴۷۰۳ ± ۸۴۰۰۰) و شم (۴۷۰۳ ± ۸۴۸۰۰) تغییرات معنی داری را نشان نداد (P=۰/۱۳۹).

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 19:55 +0330 on Wednesday November 22nd 2017

مورفولوژی اسپرمها (نمودار۲- ج) در موشهای کلستاتیک (۰/۳۴ ± ۲/۱۷) نسبت به گروه های شاهد (۰/۵۱ ± ۳/۰۶۷) و شم (۰/۲۷ ± ۲/۱۰) تغییرات معنی داری را نشان نداد (P=۰/۱۵۵).



نمودار ۲: تأثیر کلستازیس روی پارامترهای اسپرم

بحث:

نتایج این بررسی نشان داد که در موش های کلستاتیک، کاهش معنی داری در ترشحFSH و LH در پلاسما ایجاد شده است. از آنجائیکه در کلستاز چندین فاکتور، شامل: اوپیوئیدها، نیتریک اکساید، استرس های اکسیداتیو و سیتوکین ها افزایش می یابند(۵-۱) لذا احتمال می رود که افزایش این فاکتور ها دلیلی برای کاهش میزان FSH و LH در پلاسمای موش های کلستاتیک باشد.

در جریان کلستاز انسدادی افزایش بیش از حد نیتریک اکساید اتفاق می افتد که مقدار زیاد آن برای بسیاری از سلول ها، عوارض سمی (Cytotoxic) دارد(۲۰). در مطالعاتی که با نیتریک اکساید اگزوژن صورت گرفته است، نیتریک اکساید باعث مهار محور هیپوتالاموس ـ هیپوفیز- گناد شده است (۷) و تجویز آزاد کنندهٔ نیتریک اکساید (DETO/NO) باعث مهار فرآیند استروئیدوژنزیس در سلولهای لایدیگ گردیده است(۲۱)، لذا این احتمال وجود دارد که افزایش نیتریک اکساید ناشی از کلستازیس بر کاهش گنادوتروپین ها دخالت داشته باشد.

نیتریک اکساید (در غلظتهای داخل بدن) برای موتیلیتی کافی اسپرم ضروری به نظر می رسد(۲۲). بعضی مطالعات نشان می دهد که غلظت نیتریک اکساید در پلاسمای منوی مردان نابارور افزایش یافته و موتیلیتی اسپرم را کاهش می دهد(۱۲). افزودن نیتروپروسایدسدیم (یک تولید کننده نیتریک اکساید) در محیط آزمایشگاهی (In vitro) درصد اسپرمهای متحرک، سرعت پیشروی و غلظت سلولهای متحرک را بطور قابل توجهی کاهش می دهد. با افزودن اکس هموگلوبین (یک مهار کننده نیتریک اکساید) اثرات آن را کاملا مهار می شود(۱۳). اما اینکه آیا نیتریک اکساید بتواند به طور پایدار موتیلیتی اسپرم را کاهش دهد کاملاً آشکار نیست. در جریان کلستاز، نیتریک اکساید افزایش می یابد و انتظار میرود که افزایش سطح نیتریک اکساید بر موتیلیتی اسپرم ها تأثیر بگذارد و آن را کاهش دهد. در این مطالعه ما در مقایسه گروه های کنترل، شم و کلستاتیک از نظر میزان موتیلیتی، تعداد و مورفولوژی تغییر معنی داری را پیدا نکردیم. ولی احتمالاً این یافته کاملاً این مسئله را که کلستاز باعث کاهش موتیلیتی، تعداد و مورفولوژی می شود، رد نمی کند. چون ما برای گرفتن نمونه اسپرم قطعه دیستال اپیدیدیم را در محیط بافر قرار دادیم، به عبارت دیگر اسپرمها را از محیط طبیعی پلاسمای منوی، که میزان نیتریک اکساید بالاتری دارد، جدا کردیم. علاوه بر این نیمه عمر نیتریک اکساید بسیار کوتاه است و در این مطالعه فاصله بین گرفتن نمونه تا آنالیز حدوداً ۱۵ دقیقه بود.

نتیجه نهائی :

جمع بندی نتایج حاصل از مطالعات فوق نشان

می دهد که کلستاز انسدادی حاد باعث کاهش هورمونهای گنادوتروپین می شود و این کاهش شـاید بخـاطر افـزایش تون اوپیوئیدها، نیتریک اکسـاید و یـا رادیکـال هـای آزاد دیگر در موش های کلستاتیک باشد. کلستاز انسدادی حاد تـأثیری معنـی داری بـر مـوتیلیتی، مورفولـوِی و تعـداد اسپرمهای موش های صحرایی ندارد. لذا بنظر می رسد که فاکتورهای افـزایش یافتـه در جریـان کلسـتاز، علـی رغـم کاهش دادن هورمـون هـای گنـادوتروپینی نتوانسـته انـد منجر به تغییرات پارامترهای اسپرم گـردد. بنـابراین بنظـر میرسد که وجود اخـتلال در محـور هورمـونی هیپـوفیز ــ بیضه ای به تنهائی نمی تواند عامل ایجاد اختلال در رونـد اسپرماتوژنز و پارامترهای اسپرم گردد. احتمالا فاکتورهـای دیگری که هنوز ناشناخته اند همراه بـا اخـتلال هورمـونی روی پارامترهای اسپرم تاثیر دارند. بررسی هـای آینـده در مورد شناخت عوامل دیگـر فاکتورهـای بقـاء سـلول هـای زاینده در جریان کلستاز انسدادی می تواند دانش مـا را در مورد تظاهرات کلستاز کامل تر کند.

منابع :

1. Nahavandi A, Dehpour AR, Mani A, Homayounfar H, Abdoli A, Abdolhoseini AR. The role of nitric oxide in bradycardia of rats with obstructive cholestasis. Eur J Pharmacol 2001; 411:135-41.
2. Dehpour R, Seyyedi A, Rastegar H, Namirania K, Moezi L, Sadeghipour H, et al. The nonadrenergic noncholinergic relaxation of anococcygeus muscles of bile duct-ligated Rats. Eur J Pharmacol 2002;445:31-36.
3. Narimani K, Samini M, Ejtemaei Mehr S, Gaskari SA, Rastegar H, Homayoun H, et al. Mesenteric Vascular bed responsiveness in bile duct-ligated Rats: roles of opioid and nitric oxide systems. Eur J Pharmacol 2001; 423:185-93.
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. Mossad AM, Abou-seif , Abd-Allah Y. 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 Jan;39(8):2551-54.
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. Heinemun A, Stauber RE. The role of inducible nitric oxide synthase in vascular hyperactivity of endotoxine treated and portal hypertensive rats. Eur J Pharmacol 1995; 278:87-90.
9. Niedergerger M, Martin PY, Gines P. Normalization of nitric oxide production corrects arterial vasodilation and hyperdynamic circulation in cirrhotic rats. Gastroentrology 1995; 109:1624-1630.
10. Inan M, Sayek I, Tel BC. Role endotoxine and nitric oxide in the pathogenesis of renal failure in obstructive jaundice. Bri J Surg 1997; 84:943-47.
11. Sader S, Nahavandi A, Mani AR. The role of nitric oxide in stress induced gastric damage in cholestatic rats. Acta Medica Iranica 1999; 37:68-72.
12. Nobunaga T, Tokugawa Y, Hashimoto K. Elevated nitric oxide concentration in the seminal plasma of infertile males: nitric oxide inhibits sperm motility. Am J Report Immunol 1996; 36(4): 193-7.
13. Tomlinson MJ, East SJ, Barratt CL. Preliminary communication: possible role of reactive nitrogen intermediate in leucocyte mediate sperm dysfunction. Am J Reprod Immonol 1992; 27(1-2):89-92.
14. Dehpour AR, Seyyedi A, Rastegar H, Namirania K, Moezi L, Sadeghipour H, et al. The nonadrenergic noncholinergic relaxation of anococcygeus muscles of bile duct-ligated Rats. Eur J Pharmacol 2002;445:31-36.
15. Bradford AK, Stanczyk FZ, Sokol RZ. Serum Inhibin B levels in males with gonadal dysfunction. Fertility and Sterility 2000; 74(2):234-38.
16. Seed J, Chapin RE. Methodes for assessing sperm motility، morphology and counts in the rat، rabbit and dog: a consensus report. Reproductive Toxicology 1990;10(3):237-244.

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 19:55 +0330 on Wednesday November 22nd 2017

17. Gaku I, Xiaozhang Yu, Junjoh K. Reproductive toxicity of 1-Bromopropane a newly introduced alternative to ozone layer deplenting solvents in male rats. Toxicolo Sci 2000; 54:416-423.
18. Cicero TJ, Meyer ER, Wiest WG. Effects of chronic morphine administration on the reproductive system of male rat. J Pharmacol Exp Ther 1975; 192(3):542-8.
19. 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.
20. Marinella R, 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. Hum Reprod 1995;10(7):1786-90.
21. Del Punta K, Charreau EH, Pignataro OP. Nitric oxide inhibits Leydig cell steroidgenesis. Endocrinology 1996; 137(12):5337-43.
22. Lewis SE, Donelly ET, Sterling ES. Nitric oxide synthase and nitrite production in human spermatozoa: evidence that endogenous nitric oxide is beneficial to sperm motility. Mol Hum Reprod 1996; 2(11): 873-8.

Downloaded from sjh.umsha.ac.ir at 19:55 +0330 on Wednesday November 22nd 2017