

تأثیر گونادوتروپین جفتی انسانی (hCG) بر بلوغ سلول‌های ژرمینال و ترشح تستوسترون در بیضه موش نابالغ

رضا اکبرزاده نجار (B.Sc.)^۱، محمد مهدی آخوندی (Ph.D.)^۲، کاظم پریور (Ph.D.)^۳، محمود جدی تهرانی (Ph.D.)^۴، محمدرضا صادقی (Ph.D.)^۵، ابراهیم جوادی (Ph.D.)^۵

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
- ۲- مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی تولید مثل، پژوهشکده فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی-ابن‌سینا، تهران، ایران.
- ۳- گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
- ۴- مرکز تحقیقات آنتی‌بادی منوکлонаل، پژوهشکده فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی-ابن‌سینا، تهران، ایران.
- ۵- مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، بیمارستان شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی تهران، تهران، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: هورمون گونادوتروپین جفتی انسانی (hCG) به عنوان آگونیست هورمون LH بر روند اسپرماتوژنز و تعداد سلول‌های ژرمینال در مردان مؤثر است و کاربرد وسیعی در درمان ناباروری دارد. لذا هدف از این مطالعه بررسی اثرات دوزهای مختلف هورمون hCG بر تعداد سلول‌های ژرمینال و وضعیت آندروژنی در موش بود.

روش بررسی: در این مطالعه hCG با دوزهای مختلفی از ۵۰-۵۰ IU به ۱۸ موش در سه گروه آزمایشی تزریق و ۶ موش نیز به عنوان گروه کنترل انتخاب شد. این موشها به ترتیب ۵، ۱۰ و ۵۰ IU از hCG به صورت زیرپوستی در روزهای ۱۵ و ۲۵ از عمرشان دریافت کردند. سطح تستوسترون سرمی در روز ۲۸ و ۶۵ اندازه‌گیری گردید. در روز ۶۵، یک بیضه از هر موش جهت آنالیز DNA به روش فلوسایتومتری (DNA Flow Cytometry) برداشته شد.

نتایج: در روز ۲۸ از عمر موشها، میزان تستوسترون در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل با افزایش دوز hCG افزایش یافته بود که بیشترین میزان افزایش در گروه چهارم (۵۰ IU) مشاهده شد. برخلاف این حالت، در روز ۶۵ میزان تستوسترون در گروه‌های آزمایشی که hCG بیشتری دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل و گروه‌های آزمایشی در روز ۶۵ وجود نداشت. در روز ۶۵، موش‌های گروه ۳ و ۴ کاهش معنی‌داری در تعداد سلول‌های هاپلوئید در مقایسه با گروه‌های دیگر نشان دادند.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که تولید تستوسترون در بیضه موش‌های نابالغ به دنبال تزریق hCG افزایش می‌یابد و میزان آن با افزایش میزان hCG تزریقی نسبت مستقیم دارد. همچنین، با گذشت زمان و کاهش سطح hCG تحریک سلول‌های لایدیگ متوقف شده و در نتیجه سطح تستوسترون کاهش می‌یابد که این کاهش در موش‌هایی که قبلاً دوز بالاتری از hCG را دریافت کرده‌اند بیشتر است. بدین ترتیب برای تولید تستوسترون توسط بیضه موش‌های نابالغ، تحریک مداوم سلول‌های لایدیگ توسط هورمون hCG ضروری است.

کلیدواژگان: گونادوتروپین جفتی انسان، سلول‌های ژرمینال، مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده، فلوسایتومتری، تستوسترون، بیضه، هورمون.

مسئول مکاتبه: دکتر محمد مهدی آخوندی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی تولید مثل، پژوهشکده فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی-ابن‌سینا، تهران، ایران.

پست الکترونیک: Akhondi@avesina.ac.ir

زمینه و هدف

هورمون hCG متعلق به خانواده هورمون‌های گلیکوپروتئینی شامل TSH, LH, FSH و β -hCG است (۱). این هورمون‌ها از دو زنجیره α و β تشکیل یافته‌است که زنجیره α در هر چهار هورمون ۱۰۰٪ مشابه بوده و زنجیره β هورمون hCG نیز شباهت زیادی با این هورمون‌ها دارد؛ به‌طوری‌که میزان تشابه زنجیره β بین hCG و LH بیش از ۹۰٪ است (۱). بدلیل این تشابه و سهولت تخلیص و جداسازی هورمون hCG از ادرار زنان باردار، امروزه hCG به فرم دارویی به عنوان جایگزین مناسبی برای LH در دسترس می‌باشد (۱،۲). بنابراین hCG در موارد متعددی از جمله جهت ایجاد LH Surge مصنوعی و آزاد شدن تخمکها در روش‌های ART توسط پزشکان تجویز می‌شود (۳). همچنین این هورمون برای تحریک ترشح تستوسترون توسط سلول‌های لایدیگ مردان مبتلا به اختلالات اسپرماتوژنز تجویز می‌گردد. علاوه بر این، این هورمون در بیماران مبتلا به کم‌کاری هیپوتالاموسی و هیپوگنادی هیپوتالاموسی به همراه داروی hMG برای تحریک تولید هورمون‌های جنسی و قدرت باروری مورد استفاده قرار می‌گیرد.

با توجه به شیوع زیاد ۱/۵-۱٪ نهان‌بیضی در کودکان تازه متولد شده (۴)؛ پس از انتقال بیضه از حفره شکم به داخل کیسه بیضه، برای تحریک تولید تستوسترون و روند اسپرماتوژنز نیز از هورمون hCG به میزان زیادی استفاده می‌شود. در این راستا هورمون گونادوتروپین جفتی انسانی (hCG) به تنهایی (۸-۵) یا به صورت ترکیب با دیگر هورمون‌ها (۹،۱۰) کاربرد دارد. در افراد دچار نهان‌بیضی با توجه به سن پایین زمان انجام عمل جراحی و عدم وجود هورمون hCG به طور فیزیولوژیک در بدن بیمار، احتمالاً این هورمون بیش از حد مصرف می‌شود که می‌تواند اثرات گسترده‌ای در تحریک یا مهار رشد سلول‌های ژرمینال

یا سایر سلول‌های بافت بیضه و یا فعال نمودن روند آپوپتوز در این سلول‌ها داشته باشد و پرداختن به آنها و آگاهی از این اثرات می‌تواند در کاربرد آگاهانه‌تر این هورمون در بیماران مؤثر باشد.

بررسی مولکولی روند آپوپتوز در بیضه موش صحرایی^۱ نشان دهنده وجود مرگ سلول‌های ژرمینال طی فرآیند مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌باشد (۱۱،۱۲). علاوه بر این، در بیضه آپوپتوز تحت تأثیر هورمون‌های آندروژنی و گونادوتروپین‌ها تنظیم می‌شود (۱۱-۱۲). از دیدگاه هستولوژیکی، واکنش‌های التهابی و تغییرات عروقی در بیوپسی بیضه انسان پس از تزریق hCG و نیز در حیوانات گزارش شده است (۱۷-۱۴). افزایش آپوپتوز سلول‌های ژرمینال یک تا چهار هفته پس از درمان با hCG در پسران نهان بیضه گزارش شده است (۱۸،۱۹)، که در بزرگسالی بر عملکرد تولیدمثلی آنها تأثیر منفی خواهد داشت (۱۹). در این مطالعه، تأثیر طولانی مدت دوزهای مختلف hCG بر سطح تستوسترون و تعداد سلول‌های ژرمینال هاپلوئید بیضه در موش مورد بررسی قرار گرفته است. در سال ۲۰۰۳ مطالعه‌ای در رابطه با اثر hCG روی سطح تستوسترون و تعداد سلول‌های ژرمینال در موش صحرایی انجام شده است (۲۰)؛ اما اثرات کوتاه و بلند مدت ناشی از قطع تزریق hCG بر وضعیت سلول‌های ژرمینال، تکثیر و بلوغ سلولی و ترشح تستوسترون در موش مطالعه نشده است و لذا مطالعه حاضر این هدف را در موش مورد بررسی قرار می‌دهد. علاوه بر این، اثرات طولانی مدت این هورمون روی تکثیر سلول‌های ژرمینال نسبت به دوزهای مختلف از hCG در بیضه موش بررسی شده است.

روش بررسی

گروه‌بندی حیوانات: ۲۴ موش از نژاد C57BL/6 با سن

1- Rat

سلولی، دو بار با PBS شسته شد. پس از سانتریفیوژ و دور ریختن مایع فوقانی، رسوب حاصل در $0.2 \mu\text{ml}$ PBS به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس گردید. ضمن ورتکس نمودن، حدود 1 ml اتانول ۷۰٪ بسیار سرد به صورت قطره قطره به رسوب اضافه شد و در نهایت به مدت یک شب در دمای 4°C تثبیت شد. سپس نمونه‌ها مدت کوتاهی (۳۰ ثانیه) ورتکس شدند و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت 3000 rpm سانتریفیوژ و محلول فوقانی دور ریخته شد. از آنجا که مقداری اتانول باقی‌مانده در میکروتیوب نباید بیشتر از 0.2 ml باشد، سلول‌های رسوب کرده مجدداً در محلول باقی‌مانده از اتانول ورتکس شدند. حدود $1-0.5 \text{ ml}$ محلول رنگ آمیزی پروپیدیوم آیویداید (PI)° (Sigma, USA) به هر میکروتیوب اضافه و ورتکس شد. این محلول شامل 8 ng/ml بافر رنگ‌آمیزی (BSA ۱٪ در PBS)، 1 ml RNAase ۱٪ و 0.5 ml محلول ذخیره PI (1 mg/ml) بود. میکروتیوبها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی انکوبه شد. پس از انتقال حدود 1 ml از سوسپانسیون حاصل در لوله‌های مخصوص دستگاه فلوسایتومتر، هیستوگرام‌های DNA با استفاده از دستگاه فلوسایتومتر^۱ (Becton-Dickinson, USA) بدست آمد. سپس داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار Cell Quest آنالیز گردید.

ارزیابی آماری: آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۱/۵ انجام شد. آزمون کروسکال-والیس جهت مقایسه همزمان گروهها با یکدیگر و منویتنی جهت مقایسه هر گروه با گروه کنترل به کار گرفته شد و میزان $p < 0.05$ از لحاظ آماری معنی‌دار فرض شد.

نتایج

براساس نتایج حاصل از این تحقیق، سطح تستوسترون در روز ۲۸ در گروه‌های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل، با افزایش دوز hCG افزایش یافت که بیشترین

روز انتخاب و به چهار گروه (یک گروه کنترل و سه گروه آزمایشی) مساوی تقسیم شدند. این حیوانات از مؤسسه پاستور (تهران، ایران) تهیه شده و در شرایط مناسب در حیوانخانه پژوهشکده ابن‌سینا تحت شرایط بدون محدودیت آب و غذا نگهداری شدند. به گروه‌های ۲، ۳ و ۴، دوزهای مختلف hCG به ترتیب ۵ IU، ۱۰ و ۵۰ به صورت زیرپوستی در روزهای ۱۵ و ۲۵ از عمر موشها تزریق گردید. در این تحقیق، با توجه به دوزهایی از hCG که برای درمان کودکان نهنان بیضه استفاده می‌شود (۸-۵)، براساس وزن نمونه، معادل دوز مورد استفاده در درمان نهنان بیضگی، دوز مورد نیاز ۴ گروه موشها محاسبه و تزریق شد. جهت تشابه روش تحقیق به تزریق چند مرحله‌ای در روش‌های بالینی، در این مطالعه دو تزریق به فاصله زمانی ۱۰ روز (در روزهای ۱۵ و ۲۵ عمر موش) مورد استفاده قرار گرفت.

برای اندازه‌گیری سطح تستوسترون سرمی در روز ۲۸ و ۶۵، موشها با زایلازین^۱ (0.164 mg/kg) (Alfasan, Netherland) و کتامین^۲ (20 mg/kg) (Alfasan, Netherland) بیهوش شده و سلول‌های بیضه برای آنالیز DNA به روش فلوسایتومتری آماده گردید.

اندازه‌گیری سطح تستوسترون و ارزیابی فلوسایتومتری: سطح تستوسترون سرمی با استفاده از کیت رادیوایمونواسی (RIA)^۳ (Immunotech, France) اندازه‌گیری شد. جهت آنالیز DNA به روش فلوسایتومتری، بافت بیضه تازه برداشت شده و از تونیکا آلبوژینه^۴ جدا گردید و سپس در بافر فسفات ایزواسمولار (PBS) قرار داده شد. به روش مکانیکی با استفاده از تیغ جراحی تا حد ممکن قطعات بافتی و لوله‌های منی‌ساز خرد گردید و جهت حذف بقایای

- 1- Xylazine
- 2- Ketamine
- 3- Radio Immuno Assay
- 4- Tunica albuginea

5- Propidium Iodide
6- FACS calibur

بحث

مطالعات گذشته روی تغییرات هیستولوژیکی بیضه نشان می‌دهد پس از تزریق hCG به فرد نهان بیضه، واکنش التهابی در بیضه به وقوع می‌پیوندد. اگرچه این تغییرات برگشت پذیر است، برخی تغییرات مانند افزایش تراکم عروقی پابرجا خواهند ماند (۵،۶). برخی محققان اعلام کرده‌اند که درمان با hCG تغییرات محسوس و گاهی مضر را در بخش‌های مختلف بیضه بوجود می‌آورد (۱۴). با این حال هنوز صدمات برگشت‌ناپذیر به خوبی شناخته نشده‌اند. برخی مطالعات تأثیر درمان با hCG روی باروری آینده را بررسی نموده‌اند. افزایش آپوپتوز سلول‌های ژرمینال در بیضه انسان نهان بیضه پس از درمان با hCG مشاهده شده است (۱۸،۱۹) و بیماران نهان بیضه درمان شده با hCG پس از بلوغ حجم بیضه کوچکتری دارند (۱۹،۲۰). همچنین در یکی از این مطالعات مشخص شده است که اسپرم بیماران درمان شده با hCG نسبت به بیماران درمان نشده از کیفیت پایین‌تری برخوردار است (۱۹). به جز این گزارشات، اطلاعات کمی در مورد تأثیر طولانی مدت پس از قطع تزریق hCG بر تعداد سلول‌های ژرمینال بیضه و تولید آندروژنها وجود دارد. فاکتورهای مختلفی (نظیر سن در زمان جراحی و موقعیت بیضه) که بر تکامل سلول‌های ژرمینال در افراد نهان بیضه تأثیر دارند و همچنین مدت زمان طولانی لازم جهت پیگیری این اثرات، بررسی تأثیر طولانی مدت hCG در افراد نهان بیضه را مشکل نموده است.

در مطالعه حاضر از مدل موشی استفاده و نشان داده شد که به دنبال تزریق hCG با دوزهایی قابل قیاس با دوزهای بالینی و سپس قطع این تزریق، تعداد سلول‌های ژرمینال و تولید آندروژن ابتدا افزایش و در مدت طولانی‌تر (۴۰ روز پس از آخرین تزریق) کاهش می‌یابد. بنابراین تا چند روز پس از تزریق hCG رابطه

میزان مربوط به گروه ۴ بود (جدول ۱). تنها تفاوت بین گروه ۴ (بالاترین دوز) و گروه کنترل از لحاظ آماری معنی‌دار بود. برخلاف روز ۲۸، نتایج حاصل از روز ۶۵ نشان داد که سطح تستوسترون با افزایش دوز hCG در گروه‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل کاهش می‌یابد. بنابراین گروه ۴ حداقل سطح تستوسترون را دارا بود (جدول ۱). تفاوت بین هر گروه با گروه کنترل در روز ۶۵ از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

مقایسه چهار گروه با یکدیگر در روز ۲۸ و ۶۵ از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را نشان داد. آنالیز DNA به روش فلوسایتومتری نشان داد که سلول‌های ژرمینال در گروه‌های آزمایش در مقایسه با گروه کنترل در روز ۶۵ به طور مشخصی کاهش می‌یابد و گروه‌های ۳ و ۴ کاهش چشمگیری نسبت به گروه کنترل در تعداد سلول‌های هاپلوئید خود نشان می‌دهند (جدول ۲) و چهار گروه با هم از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری را دارا می‌باشند. این نتایج نشان می‌دهد که تزریق پی‌درپی hCG در زمان قبل از بلوغ به موشها، حتی در دوزهای بسیار کم، باعث کاهش سطح تستوسترون در زمان بلوغ می‌شود. علاوه بر این، تعداد سلول‌های هاپلوئید بیضه نیز بوسیله دوزهای زیاد hCG، به همین گونه تحت تأثیر قرار گرفته و کاهش می‌یابند. واژه‌های «زیاد» و «کم» به دوزهای مورد استفاده در این مطالعه اشاره دارد.

جدول ۱- سطح تستوسترون سرمی در روز ۲۸ و ۶۵ به دنبال تزریق دوزهای مختلف hCG در موش‌های نابالغ

شماره گروه	گروه‌های مورد آزمایش	سطح تستوسترون در روز ۲۸ (M±SD)	سطح تستوسترون در روز ۶۵ (M±SD)
۱	کنترل	۰/۶۱±۰/۰۲	۲/۷۸±۷/۷۴
۲	۵ IU (hCG)	*۱/۶۴±۱/۱۸	*۱/۰۰±۰/۸۱
۳	۱۰ IU (hCG)	*۲/۶۲±۱/۳	*۲/۱۴±۳/۸
۴	۵۰ IU (hCG)	**۴/۷۵±۳/۵۶	*۰/۷۳±۰/۵۷

*Not significant

** P<0.05

مستقیم بین تزریق hCG و افزایش تستوسترون به چشم می‌خورد. با گذشت زمان و کاهش سطح hCG، تحریک سلول‌های لایدیگ متوقف و در نتیجه سطح تستوسترون کاهش می‌یابد که این کاهش در موش‌های دریافت‌کننده دوز بالاتری از hCG بیشتر است. بدین ترتیب برای تولید تستوسترون توسط بیضه موش‌های نابالغ، تحریک مداوم سلول‌های لایدیگ توسط هورمون hCG ضروری است. از اینرو تزریق hCG به موش نابالغ اثرات دوگانه‌ای دارد. بدین ترتیب در مدت کوتاهی پس از تزریق hCG به دلیل تحریک سلول‌های لایدیگ و ترشح مضاعف تستوسترون، سطح تستوسترون سرمی افزایش می‌یابد اما در مدت طولانی‌تر پس از تزریق hCG، سطح تستوسترون کاهش می‌یابد، چرا که افزایش تستوسترون فیدبک منفی بوجود آورده و تأثیر مهاری بر محور هیپوفیز-هیپوتالاموس دارد و باعث کاهش سطح آندروژنی شده و در نهایت تعداد سلول‌های ژرمینال را نیز کاهش می‌دهد. تزریق hCG تولید آندروژن را در بیضه نابالغ تحریک می‌کند. با حذف تزریق hCG، عامل تحریکی برای سلول‌های لایدیگ وجود ندارد؛ لذا تولید آندروژن متوقف شده و باعث کاهش شدید آندروژن می‌شود که در نهایت این کاهش احتمالاً میزان آپوپتوز سلول‌های ژرمینال را افزایش می‌دهد (۲۲).

در این مطالعه همچنین نشان داده شد که کاهش ترشح تستوسترون به دنبال حذف اثر تزریق hCG در سطوح قابل مقایسه با دوزهای بالینی، اثرات معکوسی بر جمعیت سلول‌های ژرمینال بیضه دارد. آنالیز DNA به روش فلوسایتومتری تکنیکی سریع و حساس بوده که می‌توان بدینوسیله بلوغ سلول‌های ژرمینال را بررسی نمود (۳۴). در مطالعه حاضر ضمن بلوغ موشها، تعداد سلول‌های هاپلوئید افزایش یافته که با کاهش همزمان در سلول‌های دیپلوئید همراه بود. بنابراین کاهش معنی‌داری در جمعیت سلول‌های

هاپلوئیدی پس از بلوغ موشها در گروه ۳ و ۴ نسبت به گروه کنترل به چشم می‌خورد که احتمالاً معرف از بین رفتن سلول‌های ژرمینال است.

اثراتی را که hCG در مدت کوتاهی پس از تزریق بر سطح تستوسترون اعمال می‌کند قبلاً در موش صحرائی و انسان گزارش شده است (۳۳-۳۱). افزایش وابسته به دوز میزان تستوسترون سرمی، سه روز پس از آخرین تزریق hCG که در این مطالعه مشاهده شد این گزارشات را تأیید می‌کند. اما اطلاعات چندانی در مورد اثرات hCG در مدت طولانی‌تر پس از قطع تزریق قبل از بلوغ بر تولید آندروژن در دسترس نیست. در مطالعات انجام شده روی انسان، مشاهده شد که با افزایش میزان هورمون FSH در افراد بالغی که در زمان کودکی تحت درمان با hCG جهت رفع نهان بیضگی قرار گرفته‌اند سطح تستوسترون طبیعی باقی می‌ماند (۱۹). در این مطالعه علیرغم اینکه از لحاظ آماری اختلاف بین گروهها در روز ۶۵ معنی‌دار نبود، اما نتایج حاصل از آنالیز DNA به روش فلوسایتومتری کاهش تعداد سلول‌های ژرمینال هاپلوئید را نشان می‌دهد، که اثرات کاهش‌دهنده سطح تستوسترونی ناشی از تزریق hCG را اثبات می‌کند. این اثر وابسته به دوز بوده که بالاترین دوز، تأثیر کاهش‌دهنده بیشتری دارد. این یافته، کارایی تزریق hCG در کودکان مبتلا به نهان بیضگی را زیر سؤال می‌برد. بررسی بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد.

بر اساس آنالیزهای مورفولوژیک، کاهش سلول‌های ژرمینال در طی اسپرماتوژنز تقریباً از یک قرن پیش شناسایی شده است (۲۳). این کاهش در طی اسپرماتوژنز طبیعی باعث کاهش در حدود ۷۵٪ تعداد سلول‌های بنیادی در بیضه بالغ می‌شود (۲۶-۲۴). در موش صحرائی، بیشترین کاهش سلول‌های ژرمینال در سه مرحله مجزای اسپرماتوژنز یعنی در طی تقسیمات میتوزی اسپرماتوگونی‌های تیپ A، در طی

تقسیمات میوزی اسپرماتوسیتها و در طی اسپرمیوژن دیده می‌شود (۲۵).

عملکرد ایده آل بیضه بوسیله FSH و آندروژن‌های درون بیضه‌ای که در اثر تحریک هورمون لوتئینیزه‌کننده می‌شوند، حمایت می‌شود. برداشتن هیپوفیز^۱ یا خنثی‌سازی گونادوتروپین‌های در گردش، تخریب سلول‌های اسپرماتوژنیک را افزایش می‌دهد (۲۹-۲۷). علاوه بر این، برخی از یافته‌ها نشان می‌دهند که کاهش سطح تستوسترون سرمی باعث ایجاد آپوپتوز در سلول‌های ژرمینال بیضه خصوصاً سلول‌های هاپلوئید می‌شود (۳۰). از آنجا که سطح تستوسترون سرمی طی دو بار تزریق hCG افزایش یافته و به دنبال آن پس از گذشت چند هفته به شدت کاهش می‌یابد (۳۱)، می‌توان گفت که احتمالاً این کاهش باعث افزایش آپوپتوز در سلول‌های ژرمینال پس از تزریق hCG شده که عمدتاً به دلیل حذف اثر آندروژنی است.

نتیجه‌گیری

در انسان تغییرات ناشی از تزریق hCG حین نزول طبیعی بیضه به داخل اسکروتوم نیز نشان داده شده است. در این مطالعه، موشها بیضه‌های طبیعی داشته و نهان بیضه نبودند که نشان‌دهنده تأثیر منفی تزریقات hCG است. این نکته باید هنگام استفاده از hCG جهت نهان بیضگی مورد توجه واقع شود؛ چرا که ممکن است باروری را در کودکانی که از قدرت باروری خوبی برخوردارند تحت تأثیر نامطلوب قرار دهد. اثرات تزریق hCG قبل از بلوغ بر تعداد سلول‌های ژرمینال و تولید

آندروژن در بیضه موش بالغ وابسته به دوز است. حتی تزریق دوزهای پایین از hCG قبل از بلوغ باعث کاهش تولید آندروژنی پس از بلوغ می‌شود. دوز بالای hCG به طور مشخص درصد سلول‌های ژرمینال هاپلوئید در بیضه موش را کاهش می‌دهد. از آنجا که به موش hCG انسانی تزریق گردیده است، به دلیل اینکه ممکن است سیستم ایمنی موش را نسبت به این ترکیب فعال نماید، تحقیقات بعدی نیز در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد. همچنین نحوه اثر و تکامل سیستم هیپوفیز-هیپوتالاموسی بر سلول‌های لایدیگ و ترشح تستوسترون نیز باید مشخص گردد. در تحقیقات آینده می‌توان تزریق LH را جایگزین hCG کرد و نحوه اثرات آن را نیز بررسی نمود. همراه نمودن تزریق hCG و یا LH با FSH^۲ یا استرادیول نیز می‌تواند بر تسریع روند اسپرماتوژن بدون افزایش آپوپتوز مورد بررسی قرار گیرد. در نهایت اینکه با توجه به اطلاعات قبلی و نتایج این تحقیق، پیشنهاد می‌شود استفاده از hCG در کودکان نهان بیضه خصوصاً در مورد میزان دوز آن مورد ارزیابی‌های مجدد قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در قالب طرحی پژوهشی توسط پژوهشکده فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی-ابن سینا تأمین اعتبار گردید. از کلیه همکارانی که به نوعی با همکاری خود در تداوم این طرح یاری‌رسان ما بودند، خصوصاً سرکار خانم صالح‌خو و سرکار خانم عینی، تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

- 1- Berkowitz R, Ozturk M, Goldstein D, Bernstein M, Hill L, Wands JR. Human chorionic gonadotropin and free

subunits' serum levels in patients with partial and complete hydatidiform moles. *Obstet Gynecol.* 1989;

2- Follicle Stimulating Hormone

1- Hypophysectomy

- 74(2):212-6.
- 2- Ozturk M, Bellet D, Manil L, Hennen G, Frydman R, Wands J. Physiological studies of human chorionic gonadotropin (hCG), alpha hCG, and beta hCG as measured by specific monoclonal immunoradiometric assays. *Endocrinology*. 1987;120(2):549-58.
 - 3- Al-Hamood MH, Gilmore DP, Wilson CA. Evidence for a stimulatory beta-adrenergic component of the pre-ovulatory LH surge in proestrus rats. *J Endocrinol*. 1985;106(2):143-51.
 - 4- John Radcliffe. Cryptorchidism: a prospective study of 7500 consecutive male births, 1984-8. Hospital Cryptorchidism Study Group. *Arch Dis Child*. 1992;67:892-899.
 - 5- Hjertkvist M, Lackgren G, Ploen L, Bergh A. Does hCG treatment induce inflammation-like changes in undescended testes in boys?. *J Pediatr Surg*. 1993;28(2):254-258.
 - 6- Demirbilek S, Atayurt HF, Cilek N, Aydin G. Does treatment with human chorionic gonadotropin induce reversible changes in undescended testes in boys?. *Pediatr Surg Int*. 1997;12(8):591-594.
 - 7- Polascik TJ, Chan-Tack KM, Jeffs RD, Gearhart JP. Reappraisal of the role of human chorionic gonadotropin in the diagnosis and treatment of the non-palpable testis: a 10-year experience. *J Urol*. 1996;156:804-806.
 - 8- Bukowski TP, Sedberry S, Richardson B. Is human chorionic gonadotropin useful for identifying and treating nonpalpable testis?. *J Urol*. 2001;165:221-223.
 - 9- Fedder J, Boesen M. Effect of a combined GnRH/ hCG therapy in boys with undescended testicles: evaluated in relation to testicular localization within the first week after birth. *Arch Androl*. 1998;40:181-186.
 - 10- Giannopoulos MF, Vlachakis IG, and Charissis GC. 13 years experience with the combined hormonal therapy of cryptorchidism. *Horm Res*. 2001;55:33-37.
 - 11- Tapanainen JS, Tilly JL, Vihkon KK, Hsueh AJ. Hormonal control of apoptotic cell death in the testis: gonadotropins and androgens as testicular cell survival factors. *Mol Endocrinol*. 1993;7:643-650.
 - 12- Billig H, Furuta I, Rivier C, Tapanainen J, Parvinen M, Hsueh AJ. Apoptosis in testis germ cells: developmental changes in gonadotropin dependence and localization to selective tubule stages. *Endocrinology*. 1995;136:5-12.
 - 13- Hikim AP, Wang C, Leung A, Swerdloff RS. Involvement of apoptosis in the induction of germ cell degeneration in adult rats after gonadotropin-releasing hormone antagonist treatment. *Endocrinology*. 1995;136:2770-2775.
 - 14- Kaleva M, Arsalo A, Louhimo I, Rapola J, Perheentupa J, Henriksen K, Toppari J. Treatment with human chorionic gonadotropin for cryptorchidism: clinical and histological effects. *Int J Androl*. 1996;19:293-298.
 - 15- Bergh A, Widmark A, Damber JE, Kajander S. Are leukocytes involved in the human chorionic gonadotropin-induced increase in testicular vascular permeability?. *Endocrinology*. 1986;119:586-590.
 - 16- Bergh A, Rooth P, Widmark A, Damber JE. Treatment of rats with hCG induces inflammation-like changes in the testicular microcirculation. *J Reprod Fertil*. 1987;79:135-143.
 - 17- Widmark A, Bergh A, Damber J-E. Leukocytes mediate the hCG-induced increase in testicular venular permeability. *Mol Cell Endocrinol*. 1987;53:25-31.
 - 18- Heiskanen P, Billig H, Toppari J, Kaleva M, Arsalo A, Rapola J, Dunkel L. Apoptotic cell death in the normal and cryptorchid human testis: the effect of human chorionic gonadotropin on testicular cell survival. *Pediatr Res*. 1996;40:351-356.
 - 19- Dunkel L, Taskinen S, Hovatta O. Germ cell apoptosis after treatment with human chorionic gonadotropin is associated with impaired reproductive function in the adult. *J Clin Invest*. 1997;100:2341-2346.
 - 20- Taskinen S, Wikstrom S. Effect of age at operation, location of testis and preoperative hormonal treatment on testicular growth after cryptorchidism. *J Urol*. 1997;158:471-473.
 - 21- Chandrasekharam VV, Srinivas M, Das SN, Jha P, Bajpai M, Chaki SP, Misro MM. Prepubertal human chorionic gonadotropin injection affects postpubertal germ cell maturation and androgen production in rat testis. *Urology*. 2003;62:571-574.
 - 22- Troiano L, Fustini MF, Lovato E, Frasoldati A, Malorni W, Capri M, Grassilli E, Marrama P, Franceschi C. Apoptosis and spermatogenesis: evidence from an in vivo model of testosterone withdrawal in the adult rat. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994;202:1315-1321.
 - 23- Oakland E. A description of spermatogenesis in the mouse and its use in analysis of the cycle of seminiferous epithelium and germ cell renewal. *Am J Anat*. 1956;99:391-413.
 - 24- Huckins C. The morphology and kinetics of spermatogonial degeneration in normal adult rats: an analysis using a simplified classification of germinal epithelium. *Anat Rec*. 1978;190:905-926.
 - 25- De Rooij DG, Lok D. Regulation of the density of spermatogonia in the seminiferous epithelium of the Chinese hamster: II. Differentiating spermatogonia. *Anat Rec*. 1987;217:131-136.
 - 26- Russel LD, Alger LE, Nequin LG. Hormonal control of pubertal spermatogenesis. *Endocrinology*. 1987;120:1615-1632.

- 27- Clermont Y, Morgentaler H. Quantitative study of spermatogenesis in the hypophysectomized rats. *Endocrinology*. 1955;57:369-382.
- 28- Raj LD, Dym M. The effects of selective withdrawal of FSH and LH on spermiogenesis in the immature rat. *Biol Reprod*. 1976;14:489-494.
- 29- Troiano L, Fustini M, Lovato E, Frasoldati A, Malorni W, Capri M, Grassilli E, Marrama P, Franceschi C. Apoptosis and spermatogenesis: evidence from an in vivo model of testosterone withdrawal in the adult rat. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994;202:1315-1321.
- 30- Dunkel L, Perheentupa J, Apter D. Kinetics of the steroidogenic response to single versus repeated doses of human chorionic gonadotropin in boys in prepuberty and early puberty. *Pediatr Res*. 1985;19:1-4.
- 31- Veijola M, Kellokumpu S, Rajaniemi H. The effect of varying doses of hCG on the in vivo uptake by rat testis and serum testosterone response. *Horm Res*. 1984;19:191-199.
- 32- Hodgson YM, de Kretser DM. Serum testosterone response to single injection of hCG, ovine-LH and LHRH in male rats. *Int J Androl*. 1982;5:81-91.
- 33- Giwercman A, Clausen OP, Brunn E. The value of quantitative DNA flowcytometry of testicular fine-needle aspirates in assessment of spermatogenesis: a study of 137 previously maldescended human testes. *Int J Androl*. 1994;17:35-42.