مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره سوم ـ شماره ٤ ـ زمستان ۸۸
صفحات ۱۰-۳

مقاله پژوهشی
(Original Article)

اثر اگزامات بر فعالیت آنزیم LDH-C4 اسپرم در موش صحرایی

جواد ساکی[۱]، منیژه کدخدایی الیادرانی[۲]، فاخر رحیم[۳]، قاسم ساکی[٤]، سید رشیدالدین کلانتر مهدوی[٥]

[۱]کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران.

[۲]دانشیار بیوشیمی، مرکز تحقیقات تالاسمی و هموگلوبینوپاتی‌ها، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران.

[۳]کارشناس ارشد بیوانفورماتیک، مرکز تحقیقات بالینی آپادانا، بیمارستان فوق تخصصی آپادانا، اهواز، ایران.

[۴]دانشیار آناتومی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران.

[۵]کارشناس ارشد آناتومی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: LDH-C4 به عنوان یکی از ایزوآنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز، در بیضه‌ی بالغ و اسپرماتوزوییدهای بسیاری از گونه‌ها مشاهده شده است. عملکرد فیزیولوژیک این ایزوآنزیم نشان‌دهنده‌ی نقش آن در ایجاد انرژی جهت تحرک و بقای اسپرم می‌باشد. در این مطالعه، اثر اگزامات به عنوان مهارکننده‌ی اختصاصی ایزوآنزیم LDH-C4 به صورت In Vivo در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: ابتدا ۲۰ سر موش صحرایی بالغ به چهار گروه مساوی تقسیم گردید. یک گروه به عنوان گروه کنترل فقط سالین دریافت کردند؛ و به سه گروه دیگر مقادیر مختلف اگزامات (۶۰۰، ۳۰۰، ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) روزانه به مدت ۴۵ روز به روش داخل صفاقی تزریق شد. در ادامه موش‌ها را با استفاده از کلروفرم کُشته و دم اپی‌دیدیم آن‌ها جدا گردید. سپس در دم اپی‌دیدیم چند برش ایجاد نموده و جهت خروج اسپرم قطعات اپی‌دیدیم در محیط کشت T6 در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و CO_2 ۵٪ به مدت یک‌ساعت قرار داده شد، استخراج آنزیم LDH-C4 بر اساس روش اروین گلدبرگ انجام گرفت، و مقدار پروتئین با روش لوری اندازه‌گیری شد. عمل خالص‌سازی نسبی طی ۲ مرحله شامل رسوب دادن آنزیم به کمک سولفات آمونیوم و کروماتوگرافی روی ستون حاوی DEAE-SEPHADEX-A50 صورت گرفت. در تمام مراحل استخراج، مقدار پروتئین و فعالیت آنزیم LDH توتال در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی دارو مشخص شده، و سپس با گروه کنترل مقایسه گردید.

یافته‌ها: در این مطالعه فعالیت کل آنزیم LDH-C4 در گروه کنترل ۱۱/۸±۰/۳Unit و در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی اگزامات به ترتیب با افزایش غلظت اگزامات (۱۵۰، ۳۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ۸/۳±۰/۳، ۶/۹±۰/۲ و ۳/۲±۰/۱ واحد (Unit) مشاهده شد. هم‌چنین در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اگزامات، فعالیت آنزیم در حدود ۶۳٪ نسبت به گروه کنترل مهار گردید.

نتیجه‌گیری: این پژوهش نشان داد که اگزامات به طریق In vivo فعالیت آنزیم LDH-C4 را کاهش می‌دهد و این تأثیر با افزایش غلظت متناسب می‌باشد. لذا با توجه به اثر بازدارنده‌ی رقابتی اگزامات بر LDH-C4 این ماده می‌تواند به عنوان ماده‌ی ضد بارداری در مردان مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژه‌ها: لاکتات دهیدروژنز c4؛ اگزامات؛ اسپرم؛ موش.

نویسنده مسئول مکاتبات: دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران؛
تلفن: ۰۹۱۶۶۱۸۱۶۸۵ آدرس پست الکترونیکی: ghasemsaki@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۸/۲/۲۶ تاریخ پذیرش: ۸۸/۷/۴

مقدمه

طبق گزارش سازمان ملل، جمعیت دنیا در سال ۲۰۵۰ به ۱۰/۹ بیلیون نفر خواهد رسید (۱). بنابراین تحقیق در روش‌های مؤثر جهت جلوگیری از باروری، امری ضروری به نظر می‌رسد. با پیشرفت دانش فیزیولوژی تولیدمثل در مردان، امروزه تحقیقات زیادی در ارتباط با Male–Contraceptive در حال انجام می‌باشد (۲،۳). لاکتات دهیدروژناز (EC1.1.1.27) آنزیمی است که واکنش نهایی گلیکولیز یعنی تبدیل پیروات به لاکتات را کاتالیز نموده و در گلوکونئوژنز در سنتز گلوکز از لاکتات شرکت می‌کند (۴). LDH به ارگانیسم‌ها اجازه می‌دهد، تا بر کمبود موقت اکسیژن غلبه کنند (۵). Blanco و Zinkham در سال ۱۹۶۳، فرم خاصی از LDH مشاهده شده در بیضه‌های بالغ و اسپرم گونه‌های مختلف را ایزوآنزیم X نامیدند (۶). اما امروزه بیشتر محققین ترجیح می‌دهند این فرم خاص LDH، به دلیل شکل مولکولی منحصر به فرد در بیضه‌ها، و اسپرم متشکل از چهار زنجیره‌ی C، LDH-C4 نامیده شود. LDH-C4 ۸۰ تا ۱۰۰٪ انرژی لازم برای فعالیت اسپرم خرگوش و انسان را فراهم می‌کند. حضور این ایزوآنزیم منحصر به فرد LDH در سلول‌های اسپرماتوگونی با عملکرد خیلی اختصاصی و مناسب تطابق یافته است (۷). حضور LDH-C4 در میتوکندری یک سیستم ترانسپورت را ایجاد می‌کند. که قادر است اکی‌والان‌های احیا را به داخل میتوکندری اسپرم رها سازد (۸). بنابراین واضح است که LDH-C4 با وابستگی به فرآیندهای متابولیکی انرژی لازم را جهت حرکت و زنده بودن اسپرم فراهم می‌سازد (۹). به دلیل وجود اختصاصی LDH-C4 در اسپرم و سلول‌های اسپرماتوگونی، از آن به عنوان آنزیم هدف در مطالعات ضد بارداری استفاده شده است (۱۰). LDH-C4 به عنوان جایگاه غشای پلاسمایی برای پیشرفت و توسعه‌ی ایمونوکنتراسپتیوها نیز به کار برده می‌شود. هم‌چنین مهار این آنزیم باعث مهار باروری در پستانداران مختلف گردیده، و به همین دلیل مؤثرترین ایمینوژن ضد بارداری شناخته شده است (۱۱). هدف از انجام مطالعات ایمونولوژیکی و غیره روی اپی‌توپ‌ها و محل‌های آنتی‌ژنی LDH-C4، پیشرفت در یافتن واکسن ضد بارداری بوده است (۱۲). یکی از مهارکننده‌های آنزیم LDH-C4 گاسیپول نام دارد، که به طور طبیعی در پنبه دانه‌ی تصفیه نشده وجود دارد. در تحقیقی که در چین انجام شد، ارتباط بین میزان باروری پایین در زوج‌ها و استفاده از روغن پنبه دانه‌ی خام برای پخت و پز را نشان داد. ادامه‌ی تحقیقات مشخص نمود که روغن پنبه دانه به طور اختصاصی، فقط بر باروری مردان مؤثر است. سرانجام محققین، ترکیب مؤثر در جلوگیری از باروری مردان را از روغن پنبه دانه استخراج نمودند (۱۳). مشخص شده است که خصوصیات ضد باروری محصول طبیعی گاسیپول، به علت مهار آنزیم LDH-C4 می‌باشد. گاسیپول گلیکولیز و حرکت اسپرم را نیز مهار می‌کند. مطالعات نشان داده است که گاسیپول توسط مهار LDH-C4 داخل سلولی روی متابولیسم انرژی مؤثر می‌باشد. در تحقیقات انجام شده در کشور چین، تعدادی از مردان گاسیپول را به صورت قرص دریافت نمودند. اما بعد از استفاده‌ی طولانی‌مدت از گاسیپول آزوسپرمیک شده، و بیشتر آن‌ها قدرت باروری را از دست دادند. به همین دلیل در سال ۱۹۸۶ به علت نگرانی از عوارض جانبی گاسیپول، استفاده از آن متوقف گردید. اخیراً پژوهش‌گران در تعیین مقدار مؤثر این ترکیب با اثر ضد باروری و بدون اثرات جانبی، تلاش می‌کنند (۱۴). یکی دیگر از مهارکننده‌های LDH-C4، اگزامات و مشتقات آن می‌باشد. اگزامات یکی از آنالوگ‌های پیروات بوده، که در محیط آزمایشگاهی به عنوان مهارکننده‌ی رقابتی LDH-C4 در واکنش احیای پیروات به لاکتات مشاهده شده است. تحقیقات نشان می‌دهد، که این ماده و مشتقات آن می‌توانند از طریق مهار فعالیت LDH-C4 بر روی حرکت اسپرم و فرآیندهای ظرفیت‌گیری و واکنش آکروزمی که هر دو جهت انجام عمل لقاح ضروری هستند، اثر بازدارندگی داشته باشند (۱۵). با در نظر گرفتن این‌که در تحقیقات قبلی اثر مهارکنندگی اگزامات و مشتقات آن به طور In Vivo بر روی فعالیت LDH-C4 به اثبات رسیده است، لذا این مطالعه با هدف تعیین اثر اگزامات بر فعالیت LDH-C4 در موش صحرایی به روش In Vivo انجام گرفت.

روش بررسی

۲۰ سر موش صحرایی نر بالغ به چهار گروه ۵تایی تقسیم، و به طور جداگانه تحت شرایط نور طبیعی و رژیم غذایی یکسان نگهداری شدند. یک گروه به عنوان گروه کنترل، فقط سالین دریافت نمودند و به سه گروه دیگر مقادیر مختلف اگزامات (۶۰۰،۳۰۰،۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) روزانه به مدت ۴۵ روز به روش داخل صفاقی تزریق گردید. پس از پایان دوره‌ی تزریق، برای استخراج اسپرم، موش‌های هر گروه را با کلروفرم کشته و دم اپی‌دیدیم استخراج و در یک ظرف حاوی بافر فسفات پتاسیم سرد ۰/۵۰ مولار و pH۷/۴ قرار داده شد. سپس با ایجاد چند برش در دم اپی‌دیدیم، قطعات آن جهت خروج اسپرم‌ها در محیط کشت T6 به مدت یک‌ساعت در انکوباتور تحت شرایط دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و CO_2 ۵٪ گذاشته شد. استخراج و جداسازی آنزیم LDH-C4 بر اساس روش اروین گلدبرگ صورت گرفت (۱۶). هم‌چنین عمل خالص‌سازی نسبی در ۲ مرحله شامل رسوب دادن آنزیم به کمک سولفات آمونیوم و کروماتوگرافی روی ستون حاوی DEAE-SEPHADEX-A50 انجام شد. مقدار پروتئین محلول‌ها با استفاده از روش لوری اندازه‌گیری گردید (۱۷). فعالیت آنزیم LDH نیز بر اساس واکنش معکوس کاتالیز پیروات به لاکتات ارزیابی شد، در این واکنش هم‌زمان یک مقدار معادلی از NADH اکسید شده و به NAD^+ تبدیل می‌شود. میزان تغییر در جذب NADH در ۳۴۰ نانومتر متناسب با فعالیت آنزیم می‌باشد (۱۸). صحیح‌ترین روش برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم LDH روش کینتیک است که در آن مقدار ۲ میلی‌لیتر از محلول سوبسترا (NADH، پیروات) را در یک لوله‌ی آزمایش ریخته و سپس همراه با لوله‌ی حاوی آنزیم به مدت چند دقیقه در حمام آب گرم با درجه حرارت ثابت ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری می‌شود. سپس با اضافه نمودن ۲۰ میکرولیتر از محلول آنزیم به لوله‌ی حاوی سوبسترا، بلافاصله لوله را مخلوط کرده و در داخل کوت دستگاه اسپکتروفتومتر Perkin Elmer UV/VIS ریخته و دکمه‌ی شروع زده می‌شود. دستگاه اسپکتروفتومتر مجهز به برنامه Time Drive جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم به روش کینتیک می‌باشد که به طور اتوماتیک با تنظیم برنامه‌ی آن، تغییرات کاهش جذب نوری NADH در ۳۴۰ نانومتر در هر ۱۵ ثانیه به مدت ۴ دقیقه ثبت شده و نمودار نیز رسم می‌شود. (فعالیت آنزیم بر اساس واحد بین‌المللی IU (International Unit) عبارت است از مقدار آنزیمی که یک میکرومول سوبسترا را در شرایط pH اپتیمم و حرارت ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد مناسب در مدت یک دقیقه به محصول تبدیل کند). در اینجا منظور از یک واحد (IU) آنزیم LDH-C4، مقدار آنزیمی است که یک میکرومول NADH را در مدت یک دقیقه در شرایط مناسب اکسید نموده و تبدیل به NAD^+ کند (۱۹). در این آزمایش در تمام مراحل برای تعیین فعالیت آنزیم از رابطه‌ی زیر استفاده شده است.

$$IU/ml = \frac{\Delta E340 / Min \times Dilution\ Coefficent}{0.02 \times 3.08}$$

پس از جمع‌آوری داده‌ها، تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از برنامه‌ی آماری SPSS انجام و نتایج به صورت Mean±SD نشان داده شد. به منظور مقایسه‌ی گروه‌ها با هم از آزمون‌های تی و آنالیز واریانس یک‌طرفه استفاده گردید. P<۰/۰۵ سطح معنی‌داری اختلاف‌ها در نظر گرفته شد.

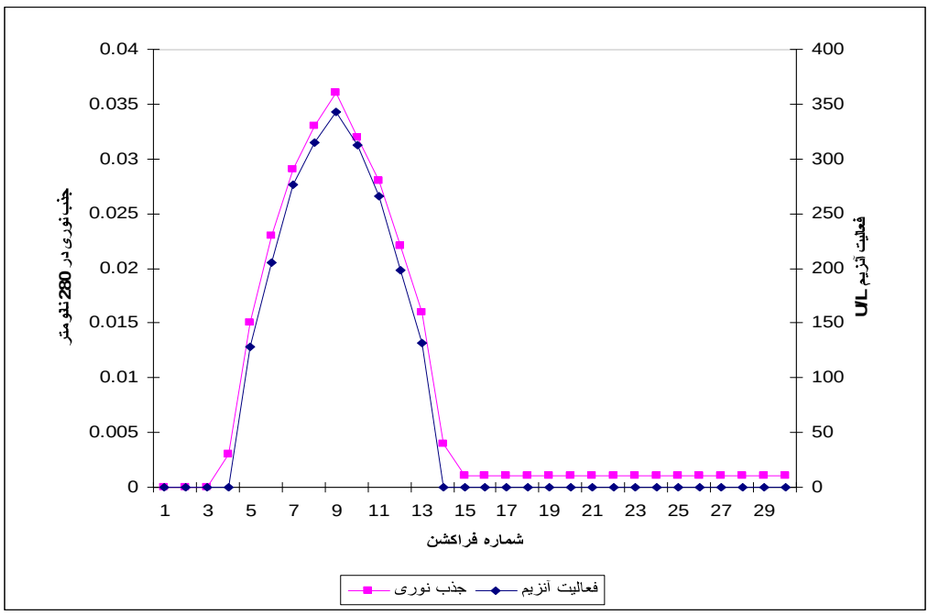
یافته‌ها

نتایج حاصل از اندازه‌گیری فعالیت آنزیم LDH-C4 نشان می‌دهد ارزیابی فعالیت آنزیم ۳ بار تکرار شده و اعداد به دست آمده میانگین هر ۳ بار آزمایش می‌باشد. بازیافت از معادله

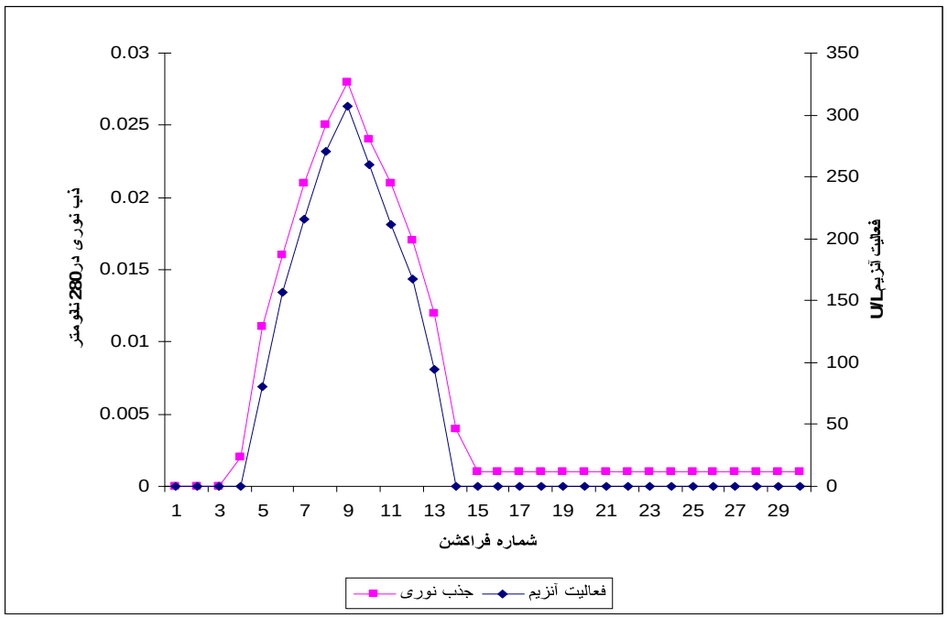
۱۰۰× فعالیت آنزیم در اولین مرحله/فعالیت آنزیم در هر مرحله= بازیافت و خلوص نسبی از معادله

فعالیت مخصوص آنزیم مرحله‌ی اول/فعالیت مخصوص آنزیم در هر مرحله= خلوص نسبی محاسبه شد.

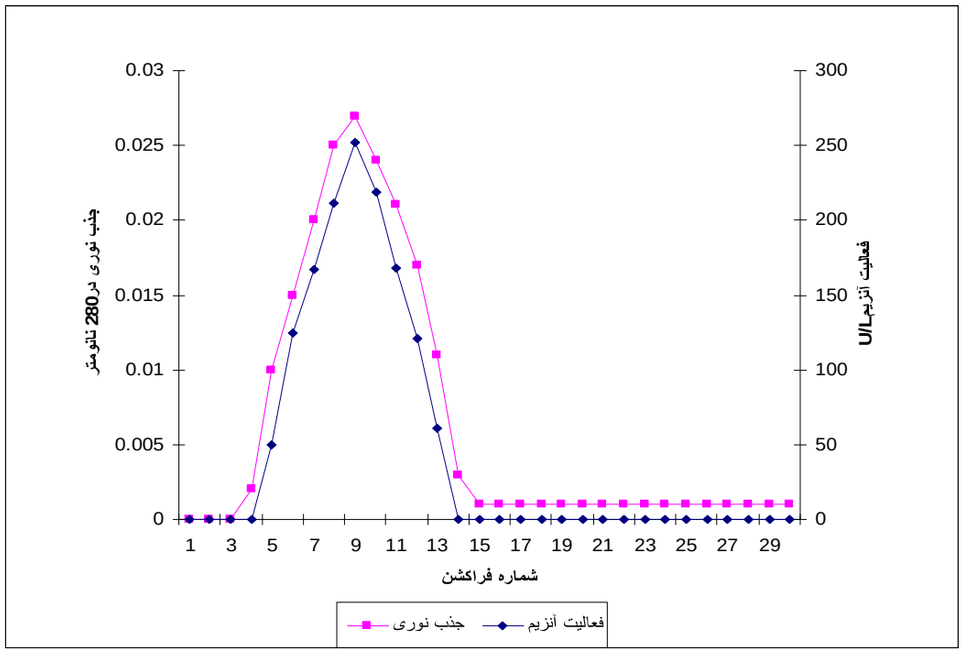
با اندازه‌گیری فعالیت آنزیم در فراکسیون‌های حاوی پروتئین، مشاهده گردید که فراکسیون‌های ۵ تا ۱۳ حاوی آنزیم بوده و فراکسیون ۹ دارای ماکزیمم فعالیت می‌باشد (نمودارهای ۵-۱).



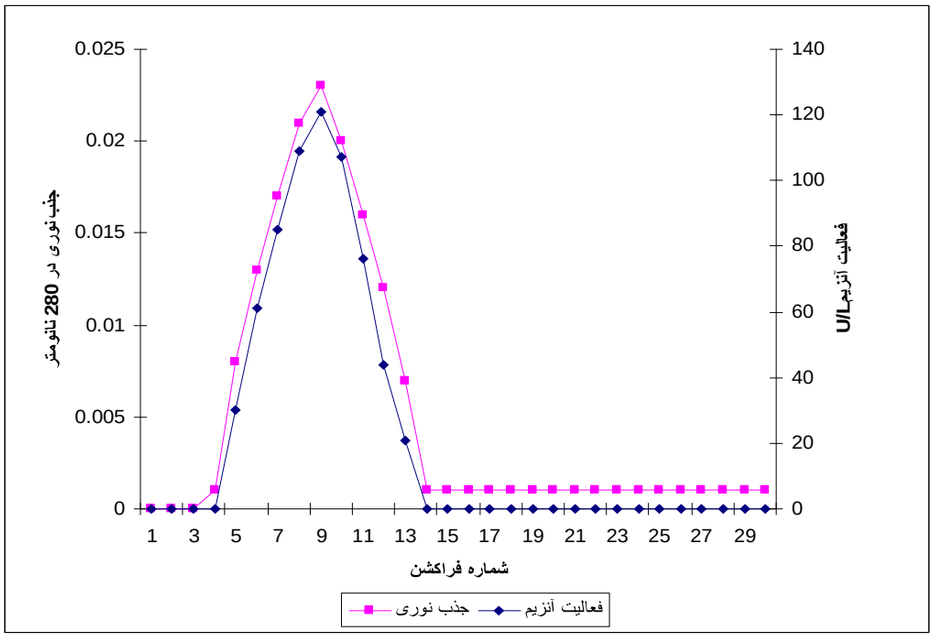
نمودار شماره‌ی ۱: جداسازی آنزیم LDH-C4 در گروه کنترل با کروماتوگرافی ستونی تعویض آنیونی DEAE-SEPHADEX-A50 را نشان می‌دهد.



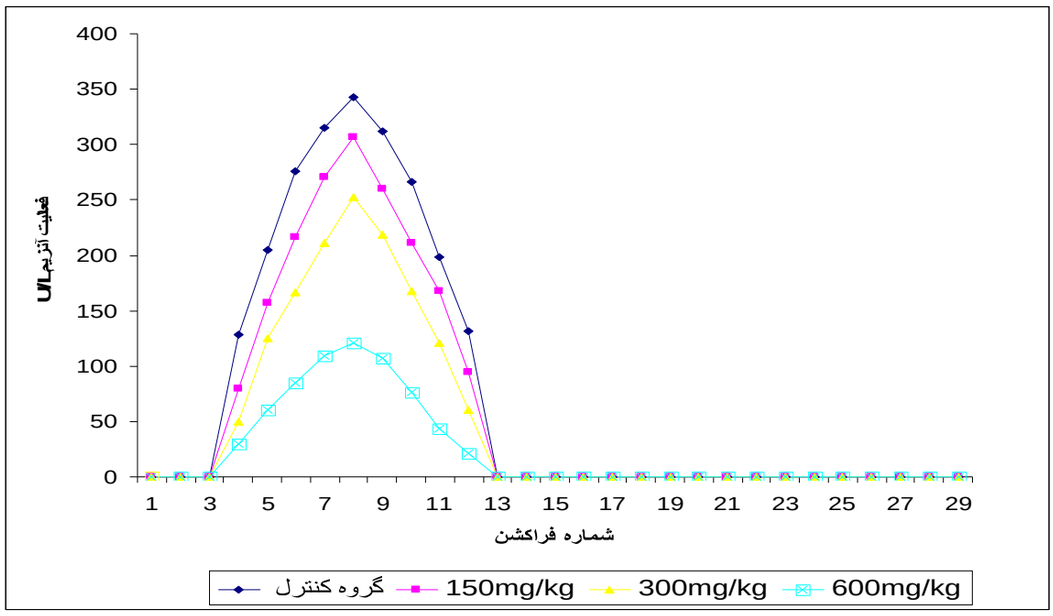
نمودار شماره‌ی ۲: جداسازی آنزیم LDH-C4 با کروماتوگرافی ستونی تعویض آنیونی DEAE-SEPHADEX-A50 در گروهی که غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اگزامات دریافت نمودند.



نمودار شماره‌ی۳: جداسازی آنزیم LDH-C4 با کروماتوگرافی ستونی تعویض آنیونی DEAE-SEPHADEX-A50 در گروهی که غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اگزامات دریافت نمودند.



نمودارشماره‌ی٤: جداسازی آنزیم LDH-C4 با کروماتوگرافی ستونی تعویض آنیونی DEAE-SEPHADEX-A50 در گروهی که غلظت ٦۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اگزامات دریافت نمودند.



نمودار شماره‌ی ۵: جداسازی آنزیم LDH-C4 از دم اپی‌دیدیم موش‌های صحرایی گروه کنترل و گروه‌هایی که غلظت‌های مختلف اگزامات را (۶۰۰، ۳۰۰، ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز) دریافت کرده‌اند، روی کروماتوگرافی ستونی تعویض آنیونی DEAE-SEPHADEX-A50 نشان می‌دهد.

میانگین و انحراف معیار فعالیت کل آنزیم در فراکشن‌های کروماتوگرافی در گروه کنترل ۰/۳±۱۱/۸، گروه اول ۰/۳±۸/۲، گروه دوم ۰/۲±۶/۹ و گروه سوم ۰/۱±۳/۲ واحد بین المللی در میلی‌لیتر بود. اختلاف بین گروه کنترل و اول (P<۰/۰۱)، گروه اول و سوم (P<۰/۰۰۱) و گروه دوم و سوم (P<۰/۰۰۱) به لحاظ آماری معنی‌دار بود.

بحث

در مطالعه‌ی حاضر، مشاهده گردید که اگزامات با غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، فعالیت آنزیم LDH-C4 را به میزان ۶۳٪ کاهش می‌دهد. در مطالعه‌ای که Goldberg و همکاران بر روی اثر مهارکنندگی اگزامات بر ظرفیت‌پذیری (Capacitation) اسپرم موش در شرایط آزمایشگاه انجام دادند، نشان داده شد، که اگزامات در روشی وابسته به مقدار، موجب کاهش حرکت رو به جلو و فعالیت آنزیم LDH-C4 می‌شود (۲۰). کدخدایی و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش نمودند که پس از تزریق غلظت‌های مختلف اگزامات (۶۰۰، ۳۰۰ و ۱۵۰میلی‌گرم در کیلوگرم)، با افزایش غلظت حرکت اسپرم به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. مقدار این کاهش وابسته به مقدار اگزامات مصرف شده، می‌باشد. به طوری‌که در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اگزامات، حرکت رو به جلوی اسپرم در حدود ۶۹٪ نسبت به گروه کنترل کم می‌شود (۲۱). در پژوهش دیگری که توسط Wong و همکاران در سال ۲۰۰۳، بر روی اثر N- ایزوپروپیل اگزامات در حرکت اسپرم و لقاح موش سفید آزمایشگاهی انجام شد؛ مشاهده گردید که N- ایزوپروپیل اگزامات به عنوان یک مهارکننده‌ی اختصاصی آنزیم LDH-C4، موجب کاهش حرکت اسپرم و لقاح می‌شود، به نحوی که در غلظت ۴۵ میلی‌مولار تحرک اسپرم ۶۷٪ کم شده بود (۲۲). در تحقیق دیگری که رحیم و همکاران اخیراً انجام دادند، نشان داده شد که اگزامات در محیط آزمایشگاهی (In Vitro) باعث کاهش معنی‌دار حرکت رو به جلوی اسپرم و قدرت باروری آن در موش سفید آزمایشگاهی می‌گردد (۲۳). در تحقیق Flaherty در سال ۲۰۰۵ بر روی اسپرم‌های گاوی، مشخص شد که با اضافه کردن سدیم اگزامات به محیط مناسب جهت واکنش اکروزمی، می‌توان با مهار فعالیت LDH-C4، از واکنش اکروزمی جلوگیری نمود (۱۵). مهار LDH-C4، به صورت رقابتی توسط اگزامات، با جایگاه اتصال NADH صورت می‌گیرد. هم‌چنین مشتقات از ته اگزامیک اسید مهارکننده‌ی جایگاه اتصال پیروات به LDH-C4 می‌باشند. که به صورت

انتخابی عمل می‌کنند. نتیجه‌ای که از این تحقیقات حاصل می‌شود این است که این مواد، ترکیبات خوبی برای توسعه و پیشرفت مهارکننده‌های LDH هستند. مهارکننده‌های انتخابی LDH-C4 ممکن است نویدی برای داروهای ضد باروری مردانه باشند. در این تحقیق پس از تزریق غلظت‌های مختلف اگزامات (۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مشاهده گردید، که با افزایش غلظت اگزامات، فعالیت LDH-C4 به طور معنی‌دار در فراکشن‌های کروماتوگرافی به ترتیب ۰/۳±۸/۲۸، ۰/۲±۶/۹۸ و ۰/۱±۳/۲۲ Unit در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی اگزامات به ازای هر کیلو وزن بدن، کاهش می‌یابد. به طوری که در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اگزامات، فعالیت آنزیم در حدود ۶۳٪ نسبت به گروه کنترل مهار گردید.

نتیجه‌گیری

اگزامات در محیط In Vivo باعث مهار فعالیت LDH-C4 اسپرم می‌شود و ترکیب مناسبی برای توسعه و پیشرفت مهارکننده‌های انتخابی LDH-C4 می‌باشد، و در صورت عدم وجود عوارض جانبی بر سایر بافت‌های بدن، می‌تواند به عنوان داروی ضد باروری مردانه مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از پایان‌نامه‌ی (به شماره‌ی ۲۹/الف/پ) جواد ساکی کارشناس ارشد گروه بیوشیمی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه جندی شاپور اهواز است. نویسندگان این مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه به دلیل تأمین مالی این طرح اعلام می‌دارند.

References:

1. Odr?guez-P?ez L, Guzm?n-Ibarra R, Acu?a-Gonz?lez C, Santill?n-B?ez A, Moreno-Rodr?guez R, Wong C. The Study of N-Isopropyl Oxamate on Sperm Motility, in Mice. Pros West Pharmacol Soc 2002;45:171-173.

2. Von Hertzen H, Godfrey EM. Emergency Contraception: The State of the Art. Reprod Biomed Online 2009;18 Suppl1:28-31. Review.

3. Cheng L, Gülmezoglu AM, Piaggio G, Ezcurra E, Van Look PF. Interventions for Emergency Contraception. Cochrane Database Syst Rev 2008 Apr 16;(2):CD001324. Review.

4. Evers J, Kaplan NO. Lactate Dehydrogenases: Structure and Function. Adv Enzymol Relat Mol Biol 1973;37:61-133.

5. Yue Yu, Janson A. Selective Active Sit Inhibitors of Human Lactacte Dehydrogenases A4, B4, C4. Biochem Pharacol 2001;62:81-89.

6. Blanco A, Zinkham WH. Lactate Dehydrogenate in Human Testis. Science 1963;139:601-602.

7. Zinkham WH, Isensee H. Linkage of Lactate Dehydrogenate B and C Loci in Pigeons. Science 1969;164:185-187.

8. Galina FG, Gerez de Burgos NM, Burgos C, Coronel CE, Blanco A. The Lactate Pyruvate Shuttle in Spermatozoa: Opration in Vitro. Arch Biochem Biophys 1994;308:515.

9. Goldberg E. Isoenzymesin Testes and Spermatozoa, In: Isoenzymes: Current Topics in Biological and Medical Research. New York: Alan R Liss; 1977. p. 79-124.

10. Goldberg E. Lactate Dehydrogenase C4 as an Immunocontraceptive Model. In: NJ. Alexander, et al. Gamete Interaction: Prospects for Immunocontraception. New York: Wiley-Liss; 1990. p. 63–73.

11. Erickson RP, Friend DS. Localization of Mouse LDH-X on the Surface of Mouse Spermatozoa. EXP Cell Res 1975;91:1-5.

12. Ohern PA, Bambra CS, Isahaki M. Reversible Contraception in Female Baboon Immunized with a Synthetic Epitope of Sperm-Specific Lactate Dehydrogenase. Biol Reprod 1995;52:331-339.

13. Xue S. A Beam of Dawn Light of Study on Gossypol as a Safe, Effective, and Reversible Male Antifertility Contraceptive-Evaluation of the Studies by Using Low Dose Gossypol Combined with Steroid Hormone for Male Contraception. Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao 2000;22(3):211-3.

14. Gu ZP, Mao BY, Wang YX, Zhang RA, Tan YZ, Chen ZX, et al. Low Dose Gossypol for Male Contraception. Asian J Androl 2000;2:283-287.

15. Flaherty CO, Breininger E, Beorlegui N, Beconi MT. Acrosome Reaction in Bovine Spermatozoa: Role of Reactive Oxygen Species and Lactate Dehydrogenate C4. Biochem Biophysica Acta 2005;1726:96-101.

16. Goldberg E. Amino Acid Composition and Properties of Crystalline Lactate Dehydrogenase X From Mouse Testes. J Biol Chem 1972;247(7):2044-2048.

17. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein Measurement with Folin Phenol Reagent. J Biol Chem 1951;193:256-275.

18. Blanco A, Burgos C. Properties of the Testicular Lactate Dehydro Genases Isoenzyme. Biochem J 1976;153:165-172.

19. Velasco JA, Tovarzapata T. Lactate Dehydrogenases-C4 Activity in Seminal Plasma and Male Fertility. Fertil Stril 1993;60:331-333.

20. Goldberg E, Duan C. Inhibition of Lactate Dehydrogenase C4 (LDH-C4) Blocks Capacitation of Mouse Sperm in Vitro. Cytogenet Genome Res 2003;103(3-4):352-9.

21. Kadkhodaei Elyaderani M, Saki G, Saki J. Study the Effect of Oxamate on Rat Sperm Motility in Vivo. Scientific Medical Journal of Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences 2009;8:169-175. [Full Text in Persian]

22. Wong C, Rodr?guez-P?ez L, Nogueda B, Pérez A, Baeza I. Selective Inhibition of the Sperm-Specific Lactate Dehydrogenase Isozyme-C4 by N-Isopropyl Oxamate. Biochim Biophys Acta 1997;1343:16-22.

23. Rahim F, Saki G, Ghavamizadeh B, Jafaee A, Kadkhodaee M. The Effect of Oxamate on Fertilization Capacity of Mouse Sperm in Vitro. Int J of Pharmaco 2009;5(2):178-180.

This document was created with Win2PDF available at http://www.daneprairie.com.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.