اثر استات دسموپرسین در زمان تکوین پریناتال و نئوناتال محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد (HPG) بر سطوح سرمی هورمون‌های جنسی موش صحرایی نر در زمان بلوغ

سید ابراهیم حسینی*، مختار مختاری و گلشید ساکی
دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست شناسی، فارس، ایران.
مسئول مکاتبات: ebrahim.hossini@yahoo.com

چکیده

استات دسموپرسین (DA) یکی آگونیست‌های وازوپرسین است که با اتصال به گیرنده‌های خود در بیضه بر روی سلول‌های لیدیگ تأثیر مستقیم می‌گذارد. در تحقیق حاضر تأثیر این دارو در زمان تکوین پریناتال و نئوناتال محور هورمونی هیپوتالاموس هیپوفیز گناد (HPG) بر سطوح استروئیدهای جنسی موش صحرائی نر در زمان بلوغ مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه تجربی از ۵۰ سر موش صحرایی ماده بالغ و ۲۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار استفاده شد. بعد از باردار شدن موش‌ها به ۵ گروه ۱۰ تایی شامل گروه کنترل (فاقد تیمار)، گروه شاهد ۱ و تجربی ۱ که به ترتیب دریافت کننده آب مقطر و ۶ µg/kg DA به صورت پریناتال، گروه‌های شاهد ۲ و تجربی ۲ (فاقد تیمار) که نوزادان آن‌ها بعد از تولد به ترتیب آب مقطر و ۶ µg/kg DA را در دوران نئوناتال دریافت نمودند، تقسیم شدند. تزریق‌ها به صورت درون صفاقی انجام شد. در ابتدای هفته نهم بعد از تولد، سطوح سرمی هورمون‌های جنسی با استفاده از روش الکتروشیمی لومینانس اندازه‌گیری شد. نتایج با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. نتایج نشان داد سطوح سرمی استروئیدهای جنسی موش صحرائی نر در زمان بلوغ به دنبال دریافت DA در زمان تکوین پریناتال و نئوناتال محور HPG نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت، لذا احتمالاً DA با دوز فوق در دوران بارداری از جفت عبور نکرده و بر تکوین پریناتال محور HPG موثر نبوده است. همچنین با توجه به این‌که در اولین هفته پس از تولد تکوین سلول‌های لیدیگ انجام نمی‌شود و گیرنده‌های موجود بر آن فعال نمی‌باشند، فرآیند استروئیدوژنز آنها در زمان بلوغ به دنبال دریافت DA در فاز نئوناتال دستخوش تغییر نخواهد شد.

کلمات کلیدی: استات دسموپرسین، HPG، نئوناتال، پریناتال، هورمون‌های جنسی

مقدمه

آرژنین وازوپرسین (AVP) یک هورمون نوروهیپوفیزی است که در اغلب پستانداران از جمله انسان یافت می‌شود [۳]. مهمترین عملکرد این هورمون حفظ تعادل آب بدن می‌باشد، به طوری که در هنگام دهیدراته شدن بدن باعث ذخیره‌سازی آب توسط کلیه‌ها می‌شود [۱۵]. AVP که از لحاظ تکاملی بسیار حفاظت شده می‌باشد، دارای اثرات نورولوژیکی بسیاری بر مغز می‌باشد که از نمونه‌های آن می‌توان به تأثیر این هورمون بر رفتارهای مربوط به جفت‌گیری در انواعی از موش‌ها اشاره نمود [۱۵ و ۱۲]. هورمون AVP دارای سه گیرنده AVPR1a، AVPR1b و AVPR2 می‌باشد که گیرنده AVPR1a به طور عمده در کبد، کلیه‌ها و عروق، گیرنده AVPR1b در هیپوفیز قدامی و سلول‌های سازنده‌ی هورمون آدرنوکورتیکوتروپین و گیرنده‌ی AVPR2 به طور عمده در کلیه‌ها قرار

دارد و عملکرد ضدترشح ادراری AVP نیز به این گیرنده وابسته است [۱۶].

بر طبق تحقیقات انجام شده بین استروئیدهای گنادی و هورمون وازوپرسین ارتباطات متقابلی وجود دارد [۱ و ۲۸]، به طوری که گیرنده‌های AVPR1a موجود در هسته پری اپتیک میانی توسط آندروژن‌ها تنظیم می‌شوند [۲۶].

سایر مطالعات نیز حاکی از نقش تستوسترون و اثرات واسطه‌ای دی هیدروتستوسترون در افزایش تجمع mRNAی وازوپرسین در هسته سوپرااپتیک موش‌های صحرائی نر هایپر اسمتیک می‌باشند [۱۹]. همچنین استروژن نیز موجب افزایش بیان mRNAی گیرنده‌ی AVPR1a در ناحیه پری-اپتیک موش‌های صحرائی اوارکتومی شده می‌شود [۷]. داروی استات دسموپرسین (DA) ساختار تغییرشکل یافته‌ی هورمون طبیعی انسانی یعنی آرژنین وازوپرسین است که پپتیدی با ۹ اسید آمینه می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهند استفاده از دوز کم این دارو باعث کاهش سطوح پلاسمائی هورمون تستوسترون، تغییر عملکرد بیضه‌ها و نیز مشکلاتی در فرآیند اسپرماتوژنز در موش صحرائی نر می‌شود [۹ و۱۰]. DA به عنوان یکی از مواد شیمیایی موثر بر سیستم اندوکرین در نظر گرفته می‌شود و می‌تواند مانند سایر عوامل اندوکرینی بر هومئوستاز، تولیدمثل، رفتار، سنتز، متابولیسم و عملکرد هورمون-های دیگر و نیز بر فرایندهای تکوینی تأثیر داشته باشد [۴، ۱۴ و ۱۷].

از آن‌جا که بعضی از عوارض ناشی از قرار گرفتن در معرض عوامل موثر بر سیستم تولیدمثلی تا قبل رسیدن به سن بلوغ قابل بررسی نمی‌باشند (۲۲) و با توجه به احتمال تأثیر استات دسموپرسین بر روند تکوین محور هیپوتالاموس هیپوفیز گناد (HPG)، در تحقیق حاضر اثر داروی استات دسموپرسین در زمان تکوین پریناتال و نئوناتال محور هورمونی HPG بر میزان سطوح سرمی هورمون‌های جنسی استروژن، پروژسترون و تستوسترون موش صحرائی نر در زمان بلوغ مورد بررسی قرارگرفته است.

مواد و روش کار

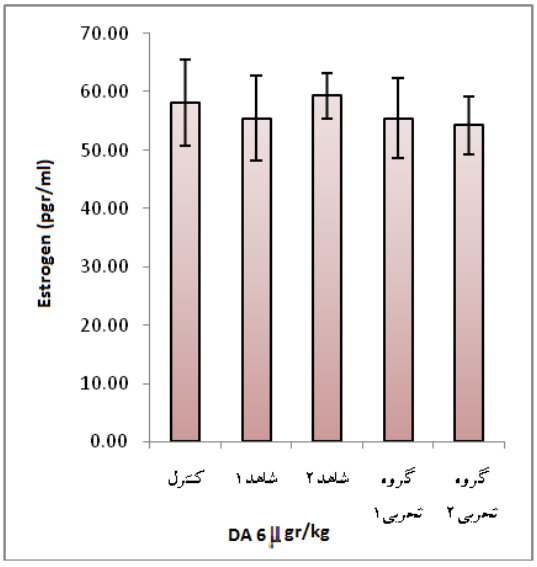
این تحقیق یک مطالعه تجربی است که در سال ۱۳۸۹ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات فارس انجام پذیرفت. در این تحقیق از ۵۰ سر موش صحرائی ماده بالغ و ۲۰ سر موش صحرائی نر بالغ از نژاد ویستار که تماماً با وزن تقریبی ۳۰۰ –۲۵۰ گرم که در محدوده سنی ۹۰ تا ۱۰۰ روزه قرار داشتند، استفاده شد. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنائی و در دمای ۲۲ درجه سلسیوس نگهداری شدند و به آب و غذای مخصوص بدون هیچ محدودیتی دسترسی داشتند و به منظور سازش آن‌ها با محیط جدید یک هفته قبل از شروع تجربیات به حیوان‌خانه منتقل شدند. پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام گردید و در کمیته اخلاق دانشگاه به تصویب رسید. در روز شروع آزمایش، موش‌های صحرائی ماده بالغ به گروه‌های ۳ تایی تقسیم و به همراه یک موش نر بالغ برای انجام عمل جفت‌گیری به مدت یک شب در قفس‌های جداگانه نگه‌داری شدند. سپس برای

اطمینان از جفت‌گیری و باردار شدن موش‌های ماده از آن‌ها گسترش واژنی تهیه شد و با مشاهده اسپرماتوزوآ در نمونه تهیه شده در زیر میکروسکوپ بارداری آن‌ها مسجل و آن روز به عنوان اولین روز بارداری موش‌ها در نظر گرفته شد. سپس در روز ۱۶ بارداری موش‌های صحرائی ماده باردار به ۵ گروه ۱۰ تایی تقسیم شده که شامل این گروه‌ها بودند: گروه کنترل که تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند؛ گروه شاهد ۱ که از روز شانزدهم بارداری تا روز آخر بارداری روزانه ۰/۵ میلی لیتر آب مقطر (حلال دارو) را به صورت تزریق درون صفاقی دریافت داشتند؛ گروه تجربی ۱ با توجه به دوز کشنده استات دسموپرسین از روز شانزدهم تا آخرین روز بارداری روزانه ۶ میکروگرم بر کیلوگرم داروی فوق را به صورت تزریق درون صفاقی دریافت داشتند. گروه شاهد ۲ که در دوران بارداری تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند ولی نوزادان آن‌ها از روز دوم تولد به مدت ۵ روز و در هر روز به میزان ۰/۲ میلی لیتر آب مقطر (حلال دارو) را به صورت تزریق درون صفاقی دریافت داشتند و گروه تجربی ۲ نیز که در دوران بارداری تحت هیچ تیماری قرار نداشتند، نوزادان آن‌ها از روز دوم تولد برای مدت ۵ روز و در هر روز به میزان ۶ میکروگرم بر کیلوگرم داروی استات دسموپرسین دریافت داشتند. در ابتدای هفته ششم نوزادان تعیین جنسیت شده و نوزادان نر از ماده جدا گردیدند. مدت زمان تزریق به این دلیل ۵ روز انتخاب شد که اولاً ۵ روز مدت زمانی است که عمده‌ی تمایز محور HPG در این برهه اتفاق می‌افتد و همچنین اکثر مطالعات انجام شده طول دوره‌ی درمان را نیز بین ۵ تا ۷ روز در نظر گرفته‌اند. سپس در ابتدای هفته نهم بعد از تولد از هر گروه اعم از کنترل، شاهد ۱ و ۲ و تجربی ۱ و ۲ تعداد ۱۰ سر موش نر انتخاب و پس از بیهوش نمودن آن‌ها توسط اتر و خون‌گیری از قلب آن‌ها توسط سرنگ ۵ میلی لیتری، به منظور انجام انعقاد، نمونه‌های خونی تهیه شده برای مدت ۱۵ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شد و سپس جهت جداسازی سرم، نمونه‌های خونی تهیه شده به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس به میزان نیاز از سرم تهیه شده برداشته و تا روز انجام سنجش‌های هورمونی در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. سپس با استفاده از کیت‌های سنجش هورمونی تهیه شده از شرکت Monobind و از طریق روش الکتروشیمی لومینانس (ECL) میزان هورمون‌های استروژن، پروژسترون و تستوسترون در هر نمونه اندازه‌گیری شد. بررسی آماری نتایج توسط نرم افزار SPSS 18 و آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه ANOVA با آزمون پیگیری توکی صورت پذیرفت. $P\leq$ ۰/۰۵ مرز استنتاج آماری در نظر گرفته شد.

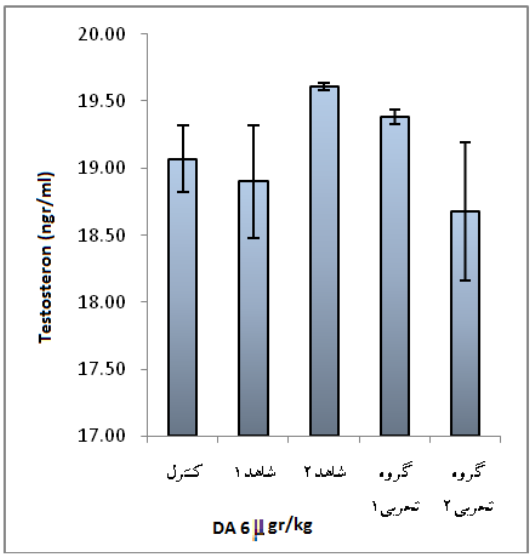
نتایج

نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که تزریق درون صفاقی استات دسموپرسین به موش‌های ماده باردار (تجربی ۱ یا پری‌ناتال)، بر میانگین سطوح سرمی هورمون‌های استروژن، تستوسترون و پروژسترون در فرزندان نر آن‌ها در زمان بلوغ نسبت

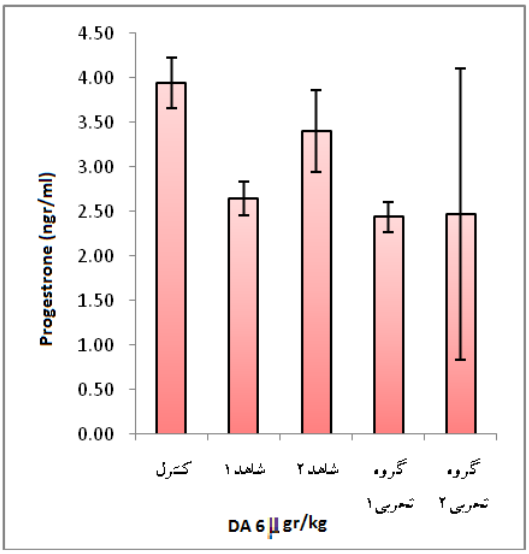
به گروه های شاهد ۱ و کنترل تأثیر معناداری ندارد، همچنین نتایج حاصل از این پژوهش نیز نشان داد که تزریق درون صفاقی داروی استات دسموپرسین در نوزادان نر موش‌های صحرایی در هفته اول بعد از تولد (تجربی ۲ یا نئوناتال)، تأثیر معناداری بر سطوح سرمی هورمون‌های استروژن، تستوسترون و پروژسترون در زمان بلوغ آن‌ها نسبت به گروه‌های شاهد ۲ و کنترل ندارد (نمودارهای ۱، ۲ و ۳).



نمودار ۱: اثر DA بر غلظت سرمی هورمون استروژن در گروه‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل در رت نر. مقادیر نشان دهنده‌ی میانگین ± خطای معیار است.* نشان دهنده‌ی اختلاف معنادار در سطح P≤ ۰/۰۵ است.



نمودار ۲: اثر DA بر غلظت سرمی هورمون تستوسترون در گروه‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل در رت نر. مقادیر نشان دهنده‌ی میانگین ± خطای معیار است. * نشان دهنده‌ی اختلاف معنادار در سطح P≤ ۰/۰۵ است.



نمودار ۳: اثر DA بر غلظت سرمی هورمون پروژسترون در گروه‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل در رت نر. مقادیر نشان دهنده میانگین ± خطای معیار است.* نشان دهنده‌ی اختلاف معنادار در سطح P≤ ۰/۰۵ است.

بحث

امروزه استفاده از مواد شیمیایی موثر بر سیستم‌های اندوکرینی رو به افزایش گذاشته است و بسیاری از جوانب مربوط به سلامت سیستم تولید مثلی انسان در اثر استفاده روز افزون از مواد شیمیایی تحت بررسی است. با توجه به آن‌که بسیاری از آسیب‌های وارد شده به سیستم تولیدمثلی مانند مشکلات باروری تا قبل از رسیدن به سن بلوغ قابل تشخیص نمی‌باشند، هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر استات دسموپرسین به عنوان یکی از عوامل اندوکرینی، در زمان تکوین جنینی و نئوناتال محور هورمونی HPG بر فرآیند استروئیدوژنز موش صحرائی نر در زمان بلوغ می‌باشد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد مصرف داروی استات دسموپرسین با دوز ۶ میکروگرم بر کیلوگرم بر تکوین و عملکرد محور هورمونی HPG در دوران جنینی و نئوناتال و نیز سنتز و ترشح هورمون‌های استروژن، پروژسترون و تستوسترون موش صحرائی نر در زمان بلوغ تأثیر معنی‌داری ندارد. داروی استات دسموپرسین در دوزهای متداول درمانی قابلیت عبور از طریق جفت را ندارد و تنها در دوزهای بسیار بالا به میزان جزئی با گذر از جفت به جنین می‌رسد [۲۰].

بنابراین عدم تأثیر دوز ۶ میکروگرم بر کیلوگرم استات دسموپرسین بر تکوین محور HPG در دوران جنینی، احتمالاً به علت عدم عبور این دارو از طریق جفت می باشد. تحقیقات نشان می‌دهند گیرنده‌های وازوپرسین موجود در بیضه تحت کنترل و تنظیم هورمون LH و هورمون رشد (GH) هیپوفیز می‌باشند، اما هورمون‌های FSH و PRL (پرولاکتین) بر آن اثری ندارند [۱۳].

بر طبق مطالعات دانشمندان استات دسموپرسین بر میزان ترشح LH و GH در جنس نر، اثری ندارد [۲۵].

سایر مطالعات نشان می‌دهند تزریق استات دسموپرسین به موش صحرائی بالغ ۸۰ روزه موجب کاهش تستوسترون موجود در سرم، کاهش تعداد و حرکات اسپرماتوزوآ و تغییر عملکرد بیضه می‌شود [۱۰]، اما این اثر از طریق تغییر در میزان LH انجام نمی‌شود، بلکه این دارو به طور مستقیم به گیرنده-های خود در بیضه اتصال یافته و با اعمال اثر مستقیم خود بر روی سلول‌های لیدیگ موجب کاهش ترشح تستوسترون می‌شود [۹].

شواهد نشان می‌دهند تکوین سلول‌های لیدیگ در سه مرحله انجام می‌شود: ۱- جنینی، ۲- نوجوانی و ۳- نوجوانی – بلوغ (۲۴). تحقیقات نشان می‌دهند تکوین سلول‌های لیدیگ در فاز بعد از تولد حدوداً از سی امین روز مرحله نوجوانی آغاز می‌شود [۶]. مطالعات سایر محققان نیز نشان می‌دهد تیمار موش صحرائی ۱۷ روزه با استات دسموپرسین بر تکوین بیضه اثری ندارد [۱۰].

بنابراین در پژوهش حاضر، عدم تأثیر داروی استات دسموپرسین در فاز نئوناتال بر تکوین و نیز عملکرد بیضه در دوران بلوغ احتمالاً به علت عدم تکوین سلول‌های لیدیگ و نیز عدم پاسخ گیرنده‌های AVP موجود بر این سلول‌ها نسبت به داروی یاد شده در اولین هفته پس از تولد می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند اگرچه mRNAی گیرنده‌ی پرولاکتین

در روز۱۴/۵ جنینی در بیضه موش صحرائی قابل تشخیص می‌باشد [۲۷]، و نیز علیرغم آنکه از روز ۱ تا ۳۴ بعد از تولد اتصال گیرنده‌های موجود در سلول‌های اینتراستشیال بیضه به هورمون پرولاکتین بسیار زیاد می‌باشد [۲۱]، اما این هورمون از روز ۱ تا ۱۰بعد از تولد بر روند تکوین و نیز عملکرد صحیح سیستم تولیدمثلی موش صحرائی نر در دوران بلوغ تأثیری ندارد [۲].

همچنین سایر مطالعات نشان می‌دهند استات دسموپرسین در جنس نر بر میزان ترشح هورمون پرولاکتین اثری ندارد [۲۵].

بنابراین با توجه به عدم تأثیر این دارو بر میزان ترشح پرولاکتین و نیز عدم تأثیر این هورمون بر روند تکوین سیستم تولید مثلی در دوران نئوناتال، احتمالا اثرات غیر مستقیم استات دسموپرسین از طریق القای تغییرات پرولاکتین بر تکوین بیضه در این فاز و استروئیدوژنز آن در زمان بلوغ ظاهر نخواهد شد.

تحقیقات نشان می‌دهند استات دسموپرسین اثرات مهاری وازوپرسین بر فعالیت آنزیم دخیل در سنتز ملاتونین یعنی N–استیل ترنسفراز را تقلید می‌نماید و از طریق تقویت نوراپی‌نفرین باعث کاهش سنتز ملاتونین می‌شود [۲۳].

بر طبق تحقیقات انجام شده از روز اول تا یک هفته پس از تولد، نسخه‌های ژن مربوط به گیرنده‌های MT1 و MT2 ملاتونین موجود در بیضه موش صحرائی به میزان کمی بیان می‌شوند [۸].

سایر مطالعات نشان می‌دهند اتصال ملاتونین به هسته پاراونتریکولار هیپوتالاموس موش صحرائی نر از روز ۲۱ تا ۲۳ بعد از تولد آغاز می‌شود [۱۸].

با توجه به مطالب ذکر شده، تغییرات ملاتونینی ایجاد شده در اثر استات دسموپرسین بر تکوین سطوح مختلف محور HPG در اولین هفته پس از تولد تأثیری ندارد.

بتااندورفین‌ها از پرواپیوملانوکورتین مشتق می‌شوند [۱۱]. بر اساس مطالعات انجام شده اگرچه نسخه‌های مربوط به ژن پرواپیوملانوکورتین (POMC) از روز ۱۷ جنینی تا زمان تولد در بیضه یافت می‌شوند. اما این نسخه‌ها تا روز هفتم و یا هشتم بعد از تولد در بیضه حضور ندارند و مجدداً در سن بلوغ در بیضه پدیدار می‌شوند [۵].

هرچند در مورد اثر استات دسموپرسین بر سطوح بتا اندورفین‌های بیضه‌ای اطلاعات دقیقی در دسترس نمی‌باشد، اما به نظر می‌رسد تغییرات محتمل ایجاد شده در میزان بتا اندورفین‌های بیضه‌ای در اثر داروی یاد شده به زمان بلوغ مربوط می‌باشد و این تغییرات تا قبل از سن بلوغ اثرات جدی را از خود نشان نمی‌دهد.

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان می‌دهد دوز ۶ میکروگرم بر کیلوگرم استات دسموپرسین بر تکوین محور هورمونی HPG و سنتز هورمون‌های جنسی موش صحرائی نر در زمان بلوغ تأثیری ندارد. احتمالاً عدم تأثیر پریناتال استات دسموپرسین به علت عدم عبور این دارو با دوز یاد شده از طریق جفت می‌باشد، در صورتیکه عدم تأثیرات مستقیم و غیرمستقیم تیمار با این دارو در دوران نئوناتال

احتمالاً به علت عدم تکوین سلول‌های لیدیگ و عدم فعالیت گیرنده‌های موجود بر آن در این فاز می‌باشد.

منابع

1- Alves SE. Lopez V. McEwen BS. Weiland NG. (1998), Differential colocalization of estrogen receptor beta (ERbeta) with oxytocin and vasopressin in the paraventricular and supraoptic nuclei of the female rat brain: an immunocytochemical study. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 95: 3281-3286.

2- Bellido C. Pinilla L. Aguilar R. Gaytan F. Aguilar E. (1990). Possible role of changes in post-natal gonadotrophin concentrations on permanent impairment of the reproductive system in neonatally oestrogenized male rats. *Journal of Reproduction and Fertility*, 90: 369-374

3- Caldwell HK. Young WS. (2006), Oxytocin and Vasopressin: Genetics and Behavioral Implications. In Lajtha A, Lim R. *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology: Neuroactive Proteins and Peptides (3rd ed.). Berlin: Springer.* pp. 573–607.

4- Chen J. Ahn KC. Gce NA. Ahmed MI. Lasely BL. (2008), Triclocarbon enhancers testosterone action: a new type of endocrine disrupt.49: 1173-79.

5- Gizang-Ginsberg E. Wolgemuth DJ. (1987), Expression of the proopiomelanocortin gene is developmentally regulated and affected by germ cells in the male mouse reproductive system. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 84(6): 1600–1604.

6- Gaytan F. Lucena MC. Munoz E. Paniagua R. (1986), Morphometric aspects of rat testis development. *J. Anat.,* 145:155-159.

7- Funabashi T. Shinohara K. Mitsushima D. Kimura F. (2000), Estrogen increases arginine-vasopressin V1a receptor mRNA in the preoptic area of young but not of middle-aged female rats. *Neuroscirence Letter*, 285: 205-208.

8- Izzo G. Aniello F. Ferrara D. Campitiello MR. Serino I. Minucci S. d'Istria M. (2010), Expression of melatonin (MT1, MT2) and melatonin-related receptors in the adult rat testes and during development. *Zygote,* 18: 257-264.

9- García-Pascual IJ. Rozán Flores MA. (1996), Low-dose desmopressin (DDAVP) and blood levels of FSH, LH and testosterone in men. *Rev Clin Esp.* 196(3): 167-70.

10- García-Pascual IJ. Sánchez-Yagüe J. Rodríguez Hernández MC. Paniagua Gómez-Alvárez R. (1994), Effects of low doses of desmopressin (DDAPV) on gonadal and adrenal development, and on the testicular function and sperm motility. *An Med Interna.*, 11(4): 177-80.

11- Gerendai I. Shaha C. Gunsalus GL. Bardin CW. (1986), The effects of opioid receptor antagonists suggest that testicular opiates regulate Sertoli and Leydig cell function in the neonatal rat. *Endocrinology*, 118(5): 2039-44.

12- Grimmelikhuijzen CJ. Spencer AN. (1984), FMR Famide

immunoreactivity in the nervous system of the medusa *Polyorchis penicillatus*. *J Comp Neurol. 230:361–371.*

13- Kasson BG. Tuchel TL. (1989), Hormonal regulation of rat testicular arginine vasopressin receptors. *Endocrinology*, 124(6):2777-84.

14- Leo F. Doherty Jason G. Bromer Yuping Zhou, Tamir S. Aldad Hugh S. Taylor. (2010), In utero exposure to Diethylstilbestrol (DES) or Bisphenol-A (BPA) increases EZH2 expression in the mammary gland: An epigenetic mechanism linking endocrine disruptors to breast cancer. *Hormones and Cancer*, DOI: 10.1007/s12672-010-0015-9.

15- Lim MM. Young LJ. (2004), Vasopressin-dependent neural circuits underlying pair bond formation in the monogamous prairie vole. *Neuroscience*, 125 (1): 35–45.

16- Lolait SJ. O'Carroll AM. Mahan LC. Felder CC. Button DC. (1995), Extrapituitary expression of the rat V1b vasopressin receptor gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 92: 6783–6787.

17- Lyons G. (1999), Endocrine disrupting pesticides. *pesticide news*, 46: 16-19.

18- Zitouni M. Pévet P. Masson-Pévet M. (1996), Brain and pituitary melatonin receptors in male rat during post-natal and pubertal development and the effect of pinealectomy and testosterone manipulation. *Journal of Neuroendocrinology*, 8(8): 571–577.

19- O'Keefe JA. Crowley RS. Hrivnak P. Kim NB. Amico JA. (1995), Effect of testosterone and its metabolites upon the level of vasopressin messenger ribonucleic acid in the hypothalamus of the hyperosmotically stimulated male rat. *Neuroendocrinology,* 61: 405–411.

20- Ray JG. Boskovic R. Knie B. Hard M. Portnoi G. Koren G. (2004), In vitro analysis of human transplacental transport of desmopressin. *Clinical Biochemistry*, 37(1): 10-3.

21- Robert P. Shiu C. Paz G. Faiman C. (1982), Prolactin receptors in interstitial cells of testes from rats at different stages of development. *International Journal of Andrology*, 5(5): 525–533.

22- Shanna HS. (2008), Fetal and postnatal environmental exposures and reproductive health effects in the male: recent findings. *Fertility and Sterility, Volume 89, Issue 2, Supplement ,* P: 45.

23- Stehle J. Reuss S. Riemann R. Seidel A. Vollrath L. (1991), The role of arginine-vasopressin for pineal melatonin synthesis in the rat: involvement of vasopressinergic receptors. *Neuroscience Letter*, 11; 123(1): 131-4.

24- Kuopio T. Tapanainen J. Pelliniemi LJ. Huhtaniemi I. (1989), Developmental stages of fetal-type Leydig cells in prepubertal rats. *Development*, 107: 213-220.

25- Williams TD. Lightman SL. Leadbeater MJ. (1986), Hormonal and cardiovascular responses to DDAVP in man. *Clinical Endocrinology (Oxf).* 24(1): 89-96.

26- Young LJ. Wang Z. Cooper TT. Albers HE. (2000), Vasopressin (V1a) receptor binding, mRNA expression and transcriptional

regulation by androgen in the Syrian hamster brain. *Journal of Neuroendocrinology*, 12:1179–1185.

27- Zhang FP. Rannikko A. Toppari J. Bartke A. Huhtaniemi I. (1995), Developmental expression of the prolactin receptor gene in rat gonads. *Journal of Endocrinology*, 147(3): 497-505.

28- Zhou L. Blaustein JD. De Vries GJ. (1994), Distribution of androgen receptor immunoreactivity in vasopressin- and oxytocin-immunoreactive neurons in the male rat brain. *Endocrinology*, 134: 2622–2627.