بررسی آزمایشی آپوپتوزیس متعاقب عمل اخته در بافت پروستات در سگ

یوسف دوستار[1*]، علی رضائی[2] و صابر آتش‌بناب[3]

۱. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
۲. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
۳. دانش آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
* نویسنده مسئول مکاتبات: vetdoustar@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۸٦/٤/۵، پذیرش نهایی: ۸۷/۲/۳۰)

چکیده

غدهٔ پروستات یکی از غدد ضمیمهٔ جنسی است که عمل فیزیولوژیک آن برای تولید مثل موفق حائز اهمیت می‌باشد. این غده به شدت برای عملکرد طبیعی و رشد و نمو خود نیازمند حضور هورمون‌های جنسی از جمله آندروژن‌ها می‌باشد. به همین دلیل در مواقع هیپرپلازی و هیپرتروفی پروستات و بسیاری دیگر از بیماری‌های با منشاء پروستات، کنترل آندروژنیکی بهترین و کارآمدترین روش درمانی موجود می‌باشد که در برخی موارد نیز ضرورت پیدا می‌کند. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر کاهش اثرات هورمون‌های آندروژنی، بواسطه عمل اخته در القاء آپوپتوزیس سلول‌های اپی‌تلیال غددی بافت پروستات می‌باشد. در مطالعه حاضر از دو گروه ۵ تایی سگ‌های نر استفاده شد. این سگ‌ها به‌مدت یک‌ماه تحت نظر و مراقبت قرار گرفته و در این مدت از نظر وجود بیماری‌ها و نارسایی‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته و بعد از این مدت سگ‌های گروه تیمار به منظور کاهش سطح هورمون‌های آندروژنی، به‌روش باز اخته شده و یک هفته پس از اخته، نمونه‌هایی از پروستات سگ‌های گروه شاهد و تیمار اخذ شده که پس از تهیهٔ مقاطع میکروسکوپی و رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین-ائوزین و تکنیک تانل مورد بررسی قرار گرفتند. مطالعات هیستوپاتولوژیکی نشان‌گر اشکال متعدد سلول‌های آپوپتوتیک در اپی‌تلیال غددی گروه تیمار بود. تعداد متوسط سلول‌های آپوپتوتیک به‌دست آمده از شمارش آن‌ها در ده میدان میکروسکوپی نیز در گروه تیمار به‌طور معنی‌دار بیشتر از گروه کنترل بود ($p<۰/۰۵$). نتایج این تحقیق نشان داد که مرگ سلولی ناشی از فقدان آندروژن‌ها اغلب از نوع آپوپتوز می‌باشد که منجر به کاهش حجم غده پروستات می‌گردد.

مجله علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳۸٦، دوره ۱، شماره ٤، ۲۳۳-۲۲۷.
کلمات کلیدی: آپوپتوزیس، پروستات، اخته

مقدمه

غدهٔ پروستات منشاء بسیاری از بیماری‌ها و ناهنجاری‌های دستگاه تناسلی می‌باشد که تعدادی از این بیماری‌ها مثل هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات شیوع بسیار بالایی در بین جمعیت انسانی داشته و برخی از این بیماری‌ها حتی می‌توانند در نهایت به مرگ منتهی شوند. از سوی دیگر، امکان بررسی و تحقیقات بیماری در مورد علل وقوع و درمان این بیماری‌ها بر روی انسان مشکل می‌باشد. بنابراین در این مطالعه سگ به‌عنوان مدلی برای بررسی اثرات القائی اخته در تحلیل بافت پروستات ایفای نقش می‌کند. با توجّه به این مطالب و با در نظر

گرفتن میزان شیوع بالای بیماری‌های پروستات و استفاده از عمل اخته در درمان بسیاری از این اختلالات، بررسی نحوهٔ عمل این روش درمانی و میزان موفقیّت آن حائز اهمیّت می‌باشد (۱). غدهٔ پروستات اصلی‌ترین اندام هدف هورمون‌های آندروژنی است. وجود میزان طبیعی آندروژن‌ها در جریان خون و بر روی رسپتورهای موجود در پروستات برای تکامل و بقای این عضو در طول عمر فرد ضروری می‌باشد. آندروژن عمده موجود در گردش خون سیستمیک تستوسترون می‌باشد که توسط سلول‌های لیدیک ترشح می‌شود که به صورت یک پروهورمون بوده و در پروستات توسط آنزیم ۵-آلفا ردوکتاز به دی‌هیدروتستوسترون تبدیل می‌شود. در نتیجه، لیگاند اصلی گیرنده‌های آندروژنی در غدهٔ پروستات، دی‌هیدروتستوسترون است. رسپتورهای آندروژنی فاکتورهای ترجمه بر روی ژنوم هستند که جزو گیرنده‌های استروئیدی محسوب می‌شوند. تولید استروئیدهای غیرطبیعی یا بروز موتاسیون‌هایی که باعث غیرفعال شدن گیرنده‌های آندروژنی در طول دوران جنینی می‌شوند، منجر به فقدان تکامل و یا تکامل ناقص پروستات می‌شود. فقدان تستوسترون در دوران رشد منجر به عدم رشد غده می‌گردد و در دوران بلوغ این نقایص منجر به بروز تغییرات وسیعی در غدهٔ پروستات می‌گردد. بنابراین عملکرد صحیح محور آندروژن ـ گیرندهٔ آندروژن، برای توسعه و عملکرد طبیعی پروستات ضروری می‌باشد (۱ و ٤). آندروژن‌ها علاوه بر تنظیم تکثیر و تمایز سلول‌های پروستات، باعث جلوگیری از وقوع آپوپتوز در این سلول‌ها می‌شوند. بنابراین با توجّه به اهمیّت این بیماری و نقش هورمون‌های آندروژنی در عملکرد و رشد غده پروستات، تصمیم گرفته شد که نقش عمل اخته به روش تجربی روی آپوپتوزیس سلول‌های اپی‌تلیومی پروستات مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌کار

مطالعه حاضر به‌روش تجربی مداخله‌گر انجام پذیرفته شده است. تعداد ده قلاده سگ با جنسیت نر و سن تقریبی ۱۰-۸ ساله و با میانگین وزنی۲۷-۲۳ کیلوگرم انتخاب شده و به‌طور تصادفی در دو گروه تیمار و شاهد توزیع گردیدند. این سگ‌ها به‌مدّت یک‌ماه تحت نظر و مراقبت ویژه قرار گرفته و در این مدت از نظر وجود بیماری‌ها و نارسایی‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفتند. در این مدّت از داروهای ضد انگل علیه انگل‌های داخلی و خارجی استفاده شد و پس از اطمینان از سلامتی آن‌ها گروه تیمار تحت عمل جراحی اختهٔ باز و گروه شاهد فقط تحت عمل جراحی باز روی بیضه بدون عمل اخته قرار گرفتند تا شرایط جراحی برای دو گروه مذکور یکسان باشد. پس از گذشت ۷ روز، از ناحیهٔ پروستات هر دو گروه تیمار و کنترل نمونه‌های بیوپسی تهیّه و پس از پایدارسازی در فرمالین بافری ۱۰ درصد برش‌های پارافینی به ضخامت ۵-٤ میکرون تهیه و با روش رنگ‌آمیزی معمولی هماتوکسیلین-ائوزین و تکنیک تانل رنگ‌آمیزی شدند (۲ و ۳).

روش عملیات جراحی:

ابتدا داروی پیش‌بیهوشی آسپرومازین با دوز ۰/۱ mg/kg به‌صورت عضلانی به حیوان تزریق گردید. سپس موهای موضع و اطراف عمل، از پشت اسکروتوم تا روی غلاف به‌طور کامل تراشیده شد و القاء بیهوشی با تزریق داخل وریدی تیوپنتال سدیم ۲/۵٪ با دوز ۱۰ mg/kg (تولید شرکت رش ساخت کشور آلمان) صورت گرفته و حیوان برای انجام عمل به‌صورت خوابیده به پشت حالت‌گماری شد. سرم قندی نمکی در طول عمل تزریق شده و بیهوشی با هالوتان ۲٪ کنترل گردید. پس از ضدعفونی و شانگذاری موضع عمل، اسکروتوم با استفاده از اسکالپل به اندازهٔ مورد نیاز برش داده شد. پس از بریدن لایه‌های دارتوس و تونیکا واژینالیس با فشار مختصری بیضه‌ها خارج شدند. چون عمل باید به‌صورت اختهٔ باز انجام می‌گرفت، تونیکاواژینالیس هم برش داده شد و بعد از قطع کردن لیگامنت پروپر(Proper ligament of testis)، بیضه آزاد گردید. بند بیضه و کانال دفران را به‌طور جداگانه با استفاده از نخ بخیهٔ غیرقابل جذب سیلک شمارهٔ صفر لیگاتور زده و

سپس بند بیضه و کانال دفران بریده شده و بیضه خارج گردید. برای خارج کردن بیضهٔ بعدی نیز به‌همین روش عمل شد تا هر دو بیضه خارج شوند. پس از خارج ساختن هر دو بیضه، بافت‌های زیرجلد را با نخ قابل جذب کاتگوت شمارهٔ صفر به‌صورت بخیهٔ زیرجلدی و پوست با استفاده از نخ سیلک شمارهٔ یک به‌صورت سادهٔ تکی بخیه شد. قبل از آغاز عمل سفازولین با دوز ٤٠ mg/kg (تولید شرکت داروپخش رازی- ایران) به‌صورت وریدی و پس از پایان عمل نیز کتوپروفن با دوز ۱ mg/10kg (تولید شرکت دارویی نصر فریمان) به‌صورت عضلانی و به‌مدت چهار روز به حیوان تزریق گردید.

تکنیک تانل جهت تشخیصی آپوپتوز با استفاده از کیت (insitu cell death detection kit, POD، کمپانی Roche، ساخت کشور آلمان) به شرح زیر انجام گردید.

اجرای تکنیک تانل:

۱- ابتدا مقاطع تهیّه شده پس از پارافین‌زدائی و آب‌دهی، با پروتئیناز K مجاور و پس از انکوباسیون به‌مدّت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با محلول فسفات بافر شستشو گردیدند.

۲- مقاطع بافتی با محلول واکنش‌گر تانل به میزان ۵۰ میکرولیتر به‌مدّت ٦۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مجاور گردید، سپس با محلول فسفات بافر شستشوداده شدند.

۳-در این مرحله مقاطع بافتی پس از انکوباسیون با محلول کانورتر (۵۰ میکرولیتر) به‌مدّت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با محلول فسفات بافر شستشو و سپس با محلول دی آمینو بنزیدین تتراکلراید نیز مجاور گشته و به‌مدّت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مجدداً انکوبه گردیدند.

٤- برش‌ها با فسفات بافر شستشو و با تولوئیدین بلو رنگ‌آمیزی شدند. (۳).

آنالیزآماری داده‌ها:

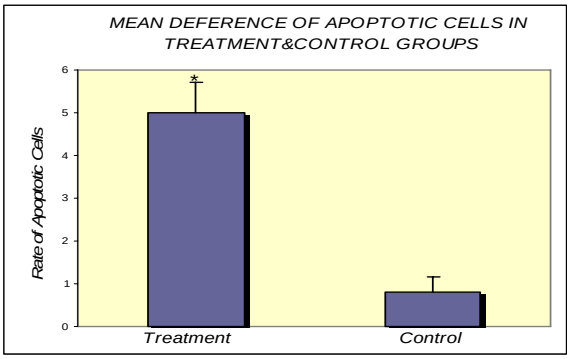
آنالیز آماری داده‌ها با استفاده ازآزمون یو من ویتنی[1] انجام و نتایج مطالعات به‌صورت Mean±SEM بیان گردید.

شمارش سلول‌های آپوپتوتیک:

برای شمارش تعداد سلول‌های آپوپتوتیک در مقاطع میکروسکوپی، سلول‌های آپوپتوتیک در ۱۰ میدان میکروسکوپی با بزرگ‌نمائی٤۰ به‌طور تصادفی شمارش گردیدند.

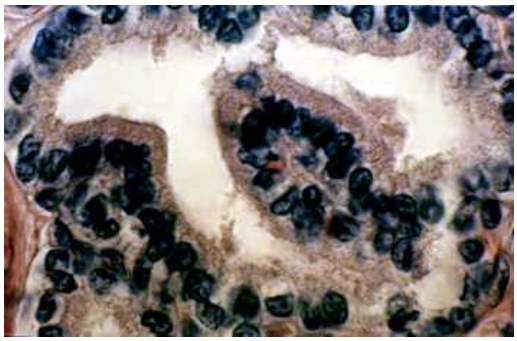
نتایج

بررسی‌های میکروسکوپی بافت پروستات نشان‌گر حضور اشکال متعدد سلول‌های آپوپتوتیک در گروه تیمار بود. در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین کروماتین هسته سلول‌های آپوپتوتیک متراکم و در بعضی از میدان‌های میکروسکوپی فراگمانته بودند (نگاره‌های ۱ و ۲). همچنین با مشاهده مقاطع بافتی که به‌روش تانل رنگ‌آمیزی شده بودند، سلول‌های آپوپتوتیک با اشکال متعدد و به رنگ قهوه‌ای در اپی‌تلیوم غددی بافت پروستات قابل رؤیت بودند(نگاره‌های ۳ و ٤). آنالیز داده‌های گردآوری شده گروه‌های تیمار و شاهد نشان‌گر اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) بین گروه‌ها بود. مقایسه اختلاف میانگین تعداد سلول‌های آپوپتوتیک در گروه‌های تیمار و شاهد در نمودار ۱ آورده شده است.

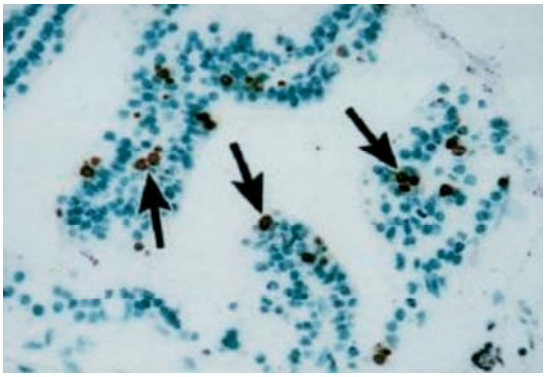


نمودار۱- میانگین تعداد سلول‌های آپوپتوتیک در ۱۰ میدان میکروسکوپی از اپی‌تلیوم غددی پروستات (n=۵). داده‌ها به صورت Mean±SEM نمایش داده شده‌اند. $p<۰/۰۵$ *در مقایسه با گروه شاهد.

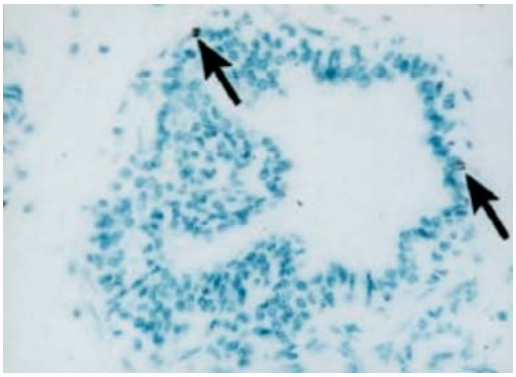
نگـاره ۱- نمـای ریزبینـی از بافـت پروسـتات گـروه تیمـار. بـه قطعـات هسـته‌ای که به رنگ بازوفیلی تیـره قابـل مـشاهده هـستند، توجـه نماییـد. سـایر سـلول‌هـای مجاور طبیعـی مـی‌باشـند. (رنـگ‌آمیـزی هماتوکـسیلین ائـوزین، بـا بـزرگ‌نمـایی × ۱۰۰)



نگاره ۲- نمای ریزبینی از بافـت پروسـتات گـروه شـاهد کـه در آن سـلول‌هـای اپـی‌تلیـال غـددی دارای سـاختار طبیعـی مـی‌باشـند (رنـگ‌آمیـزی هماتوکـسیلین ائوزین با بزرگ‌نمایی ×۱۰۰).



نگـاره ۳- نمـای ریزبینـی از بافـت پروسـتات گـروه تیمـار کـه در آن سـلول‌هـای تانـل مثبـت متعـدد، بـه رنـگ قهـوه‌ای (فلـش‌هـا) قابـل مـشاهده مـی‌باشـد (رنگ‌آمیزی تانل، بزرگ‌نمایی ٤۰×)



نگـاره ٤- نمـای ریزبینـی از بافـت پروسـتات گـروه شـاهد کـه در آن تعـداد بسیار معـدودی از سـلول‌هـای تانـل مثبـت (فلـش‌هـا)، قابـل رویـت مـی‌باشـد. (رنگ‌آمیزی تانل، بزرگ‌نمائی ×٤۰).

بحث و نتیجه‌گیری

عمل کلاسیک استروئیدهای آندروژنی و رسپتورهای آن‌ها در سطح مولکولی حدود یک دهه قبل از تولید گیرنده‌های آندروژنی به‌روش ژنتیکی، مشخص شده است. با توجّه به این‌که غدهٔ پروستات اصلی‌ترین اندام هدف هورمون‌های آندروژنی است، وجود میزان طبیعی آندروژن‌ها در جریان خون و پروستات برای تکامل و بقای این عضو در طول عمر انسان ضروری می‌باشد .هورمون‌های آندروژنی علاوه بر تنظیم تکثیر و تمایز سلول‌های پروستات، باعث جلوگیری از وقوع آپوپتوز در این سلول‌ها می‌شوند که این موضوع اساس رهیافت‌های درمانی در علوم طب گردیده است. یکی از روش‌های درمانی سرطان پروستات حذف عوامل آندروژنی می‌باشد. چنین به‌نظر می‌رسد که این روش باعث بروز آپوپتوز در سلول‌های سرطانی وابسته به آندروژن می‌شود. عمل اخته از طریق حذف عوامل آندروژنی با القای آپوپتوز باعث پسرفت رشد تومور در موارد هیپرپلازی خوش‌خیم و سرطان پروستات می‌گردد. در مطالعات Zhang و همکاران در سال ۲۰۰۲ ایشان سلول‌های اپی‌تلیالی با چهرهٔ آپوپتوتیک ۲٤ ساعت بعد از عمل اخته ظاهر و تعداد آن‌ها پس از ۷۲–٤۸ ساعت بعد از عمل به بیشترین حد می‌رسد (۱۵). Nickerson در سال ۱۹۹۸ و Wong و

همکاران در سال ۱۹۹۳ بیان نمودند که پس از عمل اخته به‌علّت تغییرات در میزان بیان و بروز عواملی نظیر TRPM-2 (Testosterone Repressed Prostate Massage-2)، فاکتور تغییردهندهٔ رشد بتا TGF-β (Transforming Growth Factor Beta)، C-fos، C-myc، Heat shock 70-kDa protein، Fas/Fasl، RVP-1 (Rat ventral prostate gene-1)، اسید کربوکسی گلوتامیک ماتریکس، گلوتاتیون S ترانسفراز و Nur77/TR3 وIGF (Insuline Growth Factor-1)، آپوپتوزیس سلولی در اپی‌تلیوم و حتی سلول‌های استرومای پروستات اتفاق می‌افتد. آن‌ها نتایج معنی‌داری را از مطالعات خودشان کسب نموده و نتایج مطالعه حاضر نیز از حیث حضور تغییرات آپوپتوتیک با نتایج آن‌ها مشابه بوده است. شاید در مطالعه حاضر نیز با آغاز آبشاری یک‌سری از فرآیندهای درون‌زاد سلولی نظیر موارد مطرح شده فوق آپوپتوزیس اتفاق افتاده است (۱۰ و ۱٤). Perlman و همکاران ایشان در مطالعات خود به بیان نقش ژن‌های پیش‌آپوپتوزی و ضدآپوپتوزی ژن‌های خانوادهٔ Bcl-2 پرداخته و اهمیّت نسبت فعالیت Bax/BCL-2 را در بروز آپوپتوز نشان دادند. وقتی که نسبت Bax بیشتر است، (که به‌طور معمول بعد از اخته این حالت پیش می‌آید) سلول‌ها دچار آپوپتوز می‌شوند. در مقایسه با این حالت، بعد از فاصله‌های زمانی بیشتر و با غالبیت Bcl-2 آپوپتوز در این سلول‌ها دیده نمی‌شود. نتایج حاصل از افزایش نسبت Bax/BCL-2 این فرضیه را که اخته باعث القای آپوپتوز از مسیر میتوکندریائی می‌شود را تقویت می‌کند، زیرا که ژن Bax یکی از قویترین القاء کننده‌های این مسیر به شمار می‌رود (۱۱). Wong و همکارانش ثابت نمودند که در حالت عادی آندروژن باعث تحریک تولید کالریتیکولین شده و با این اثر باعث به حداکثر رسیدن خاصیت بافری سلول نسبت به کلسیم داخل سلولی و پیشگیری از آپوپتوز می‌شود. پس از عمل اخته میزان کالریتیکولین در داخل سلول کاهش می‌یابد که متعاقب آن توانائی سلول در عمل بافری نسبت به یون کلسیم کاهش یافته و سلول بیشتر در معرض خطر بروز آپوپتوز قرار می‌گیرد (۵، ۹ و ۱٤).

تغییر مهم دیگری که در پروستات موش‌های صحرایی اخته شده دیده می‌شود، کاهش قابل ملاحظهٔ خونرسانی به این بافت است (۵۰٪ در ۲٤ ساعت اول پس از اخته). جالب این‌که عمل اخته باعث بروز هیچ‌گونه تغییری در خون‌رسانی سایر بافت‌های وابسته به آندروژن نمی‌شود و تجویز تستوسترون در حیوانات اخته شده باعث جلوگیری از بروز تغییرات خونرسانی در پروستات می‌شود. به‌دلیل این‌که تغییرات جریان خون با آپوپتوز همراه است و چون این تغییرات زودتر از آپوپتوز سلول‌های ترشحی رخ می‌دهند، برخی محققین عقیده دارند که صدمات اپی‌تلیوم پروستات ناشی از شرایط هیپوکسیک و ایسکمیک ایجاد شده بعد از عمل اخته می‌باشد (۷). شاید این پدیده در نتایج بررسی حاضر نیز مؤثر بوده است، زیرا که میزان تغییرات آپوپتوتیک در بافت پروستات گروه تیمار نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد که حذف اثرات هورمون‌های آندروژنی در بافت پروستات می‌تواند در مرگ سلول‌های حساس به کاهش میزان هورمون آندروژنی مؤثر واقع گردد به‌طوری‌که در عمل اخته کاهش بروز ژن فاکتور رشد اپی‌تلیالی EGF (Epithelial Growth Factor) و افزایش بیان ژن TGF-β (Transforming Growth Factor) احتمالاً یکی از مکانیسم‌های وابسته به اخته در پروستات می‌باشد. در کنار عوامل یاد شده بیان ژن‌های Bax و Bcl-2 که در ارتباط با تشکیل کانال‌های غشای میتوکندری سلول‌های اپی‌تلیالی پروستات می‌باشند، از دیگر موارد مهم در مکانیسم القای آپوپتوز در موارد اخته می‌باشد (٦). با توجه به نتایج بررسی حاضر تعداد سلول‌های آپوپتوتیک ارتباط معنی‌داری با عمل اخته دارد که این افزایش تعداد سلول‌های آپوپتوتیک با گذشت زمان قاعدتاً همراه با کاهش اندازه کلی غده خواهد بود که هدف اصلی در درمان بیماری‌هایی از جمله هیپرپلازی

خوش‌خیم پروستات می‌باشد. با توجّه به تحقیق انجام گرفته توسط Tara و همکاران در سال ۲۰۰۲ بر روی موش‌های اخته شده، مشخص شد که پس از حدود ٢٤ ساعت از عمل اخته، سلول‌های آپوپتوتیک در بافت پروستات ظاهر می‌شوند و پس از حدود ۲ هفته حدود ۸۵٪ از سلول‌های اپی‌تلیوم ترشحی پروستات دچار آپوپتوز می‌شوند و در نتیجه اندازهٔ غدهٔ پروستات به میزان زیادی کاهش می‌یابد (۱۳). که این نتایج با یافته‌های بررسی حاضر نیز مطابقت دارد. تحقیقات در این زمینه هنوز ادامه دارد و امید است در آیندهٔ نه چندان دور دانشمندان با یافته‌های جدید در مورد مرگ سلولی روش‌های درمانی مؤثری را معرفی نمایند. ولی این موضوع نبایستی فراموش گردد که این روند غیر ژنوتروپیکی دارای اهمّیت بیولوژیکی در پروستات است یا نه، هنوز مشخص نشده است. روش اصلی در درمان سرطان پروستات، حذف آندروژن می‌باشد. چنین به‌نظر می‌رسد که این روش باعث بروز آپوپتوزیس در سلول‌های سرطانی وابسته به آندروژن می‌شود. متأسفانه این روش درمانی باعث ابقای سلول‌های سرطانی غیروابسته به آندروژن شده و این سلول‌ها در شرایط فقدان آندروژن به تکثیر خود ادامه داده و منجر به تشدید بیماری و نهایتاً مرگ می‌شوند. این فرم از بیماری که پس از شکست در درمان با آندروژن‌ها رخ می‌دهد، به نام فرم غیروابسته به آندروژن (Androgen independent) خوانده می‌شود. کلاً سرطان پروستات غیروابسته به آندروژن نسبت به آپوپتوز القا شده در نتیجهٔ دست‌کاری هورمونی یا سایر درمان‌های سیتوتوکسیک، مقاوم می‌باشد. این فرم از بیماری شدیداً تهاجمی می‌باشد. بروز آدنوکارسینومای پروستات در تمامی موارد تجربی همراه با بروز مقاومت بر علیه آپوپتوز القا شده توسط حذف آندروژن بوده است. در هر صورت کاملاً مشخص نیست که کدامیک از مسیرهای داخلی و خارجی پس از اخته کردن باعث القاء آپوپتوز در پروستات می‌شود اگرچه نتایج بررسی‌ها قویاً حاکی از دخالت راه میتوکندریایی است (۱۲ و ۱۳).

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به انجام رسیده است.

با تشکر از زنده یاد پروفسور رضا نقشینه.

فهرست منابع

۱. باقرزاده اسکویی، ف. (۱۳۸۰): بررسی پاتولوژیکی بیماری‌های پروستات در سگ‌های ولگرد شهرستان تبریز، پایان‌نامه جهت دریافت دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز. صفحات: ۳۵-۲۰.

۲. پوستی، ا. (۱۳۷۳): بافت‌شناسی مقایسه‌ای، انتشارات دانشگاه تهران، صفحات: ٤٧٨-٤٧٠.

۳. دوستار، ی. (۱۳۸۳): مطالعهٔ آپوپتوزیس القاء شده توسط ویروس عامل بیماری بورس عفونی جوجه‌ها با استفاده از متد تشخیصی تانل و میکروسکوپ الکترونی، دکترای تخصصی آسیب‌شناسی دامپزشکی، دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاه تهران، صفحات: ١٨٤-١٨٠.

٤. گایتون، آ.، ترجمهٔ شادان، ف. (۱۳۸۱): انتشارات چهر، تجدید نظر دهم، صفحات: ۹٦۵-۸۷۹.

5. Catz, S.D., and Johnson, J.L. (2003): BCL-2 in prostate cancer. Apoptosis, 36: 29-37.
6. Colombel, M.C. and Buttyan, R. (1995): Hormonal control of apoptosis. Methods in Cell Biology, 46: 369-85.

7. John ston, S.D. (2000): Prostatic disorders in the dog. Animal Reproduction Science, 24: 405-515.
8. Kothakota, S. (1997): The role of caspase-3 and apoptosis. Molecullar and Cellular Science, Westerin Endocrinology, pp: 278, 294-298.
9. Martikainen, P. and Isaacs J. (1999): Role of calcium in the programmed death of rat prostatic glandular cells. Urogenital Journal, 17: 175-187.
10. Nickerson, T., Pollak, M. and Huynh, H. (1998): Castration-induced apoptosis in the rat ventral prostate is associated with increased expression of genes encoding insulin-like growth factor binding proteins 2, 3, 4 and 5. Endocrinology, 139: 807-810.
11. Perlman, H., Zhang, X., Chen, M.W., Walsh, K. and Buttyan, R. (1999): An elevated bax/bcl2 ratio corresponds with the onset of prostate epithelial cell apoptosis. Cell Death Diffier., 1: 48-54.
12. Pierre A. and Bater, Z. (1997): Estardiol activates P60, P53/56 and renatured P50/55 protein tyrosine kinases in the dog prostate. Molecular and Cellular Endocrinology, 7: 25-34.
13. Tara, N. Michael, P. and Hung, H. (1998): Castration-induced apoptosis in the rat ventral prostate is associated with increased expression of genes encoding insulin-like growth factor binding proteins 2, 3, 4 and 5. Endocrinology. 139: 2, 807-810
14. Wong, P., Pineault, J., Lakins, J. and Taillefer, D. (1993): Genomic organization and expression of the rat TRPM-2 gene, a gene implicated in apoptosis. J. Biol. Chem., 268: 5021-5031
15. Zhang, Y. and Acad, N. (2002): Castration induced apoptosis of prostatic epithelium to the use of apoptotic genes in the treatment of prostate cancer. New York Academy of Sciences, 963: 191-203.