فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی 25، جلد 7، شماره 2، بهار93، صفحه 23 تا 30

بررسی اثرات دگزامتازون در دوران بارداری بر تکوین و عملکرد بافت تخمدان فرزندان بالغ نسل اول موش های صحرایی

مریم مشفقی[1]، **سید ابراهیم حسینی**[1]، اکبر وحدتی[1]، زینب مشفقی[2]
1- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات فارس، گروه زیست شناسی، فارس.ایران. **Ebrahim.hossini@yahoo.com**
2- دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز،بخش مامایی، شیراز. ایران.

تاریخ دریافت: 92/12/28 **تاریخ پذیرش: 93/2/27**

چکیده

زمینه و هدف: دگزامتازون یکی از گلوکوکورتیکوئیدهای صناعی است که از آن در پزشکی برای درمان بسیاری از اختلالات از جمله مشکلات تخمک‌گذاری استفاده می‌شود. لذا این تحقیق با هدف بررسی اثر تجویز دگزامتازون در دوران بارداری بر عملکرد محور هیپوفیز-گناد و بر تعداد فولیکول‌های تخمدانی فرزندان بالغ ماده موش‌های صحرایی انجام گرفت.

روش کار: در این مطالعه تجربی از 40 سر موش صحرایی باردار که به گروه‌های کنترل، شاهد و سه دسته تجربی دریافت‌کننده دوز های 0/5mg/kg، 1 و2 دگزامتازون را از روز هشتم بارداری تا زمان زایمان به صورت یک روز در میان دریافت داشتند، استفاده شد. پس از زایمان نوزادان و مادران تحت هیچ تیماری قرارگرفتند و پس از بلوغ فرزندان ماده، با خون‌گیری از قلب و جداسازی تخمدان آن‌ها اقدام به تهیه مقاطع بافتی و اندازه‌گیری میزان پلاسمایی هورمون‌های استروژن، پروژسترون، LH و FSH و تعداد فولیکول‌های تخمدانی گردید. نتایج با استفاده ازنرم افزار SPSS20 و با کمک آزمون‌های آماریANOVA و دانکن تحلیل آماری در سطح $P \leq 0/05$ انجام شد.

یافته‌ها: نتایج تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که دگزامتازون به صورت وابسته به دوز باعث کاهش استروژ ن و LH و افزایش FSH و پروژسترون و کاهش تعداد برخی از انواع فولیکول‌های تخمدانی می‌شود.

بحث و نتیجه گیری: دگزامتازون از طریق مهار ترشح LH واختلال در تکوین تخمدان جنین باعث بروز اختلالات پایداری در دستگاه تولید مثل موش های صحرایی ماده می شود.

واژه‌های کلیدی: دگزامتازون، LH، FSH، استروژن، پروژسترون، سلول های جنسی.

مقدمه

دگزامتازون یکی از قوی‌ترین داروهای استروئیدی از رده گلوکوکورتیکوئیدهای صنعتی است که به عنوان یک داروی ضدالتهابی و تضعیف‌کننده سیستم ایمنی شناخته می‌شود(23). در موش‌های صحرایی دگزامتازون میل ترکیبی بالایی به گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی دارند(3). دگزامتازون از طریق گیرنده‌های حد واسط درون سلولی تقریباً در تمام سلول‌های بدن اثرات خود را اعمال می‌نماید و دارای قدرت بیشتری نسبت به کورتیزول انسانی می‌باشد(14، 9). گلوکوکورتیکوئیدها نقش سرنوشت‌سازی را در تمام مراحل تکوین اندام‌های جنین بازی می‌کنند(20، 19). از دگزامتازون برای کاهش عوارض زایمان زودرس از جمله نشانگان زجر تنفسی استفاده می‌شود(21). از این دارو می‌توان برای القاء تخمک‌گذاری در زنانی که دارای مشکل عدم تخمک-گذاری و تخمدان پلی کیستیک می‌باشند، استفاده نمود(1). در پزشکی از کورتیکوستروئیدها در درمان اختلالات تخمک‌گذاری استفاده می‌شوند وتجویز دگزامتازون در طی فاز فولیکولار با کمترین عوارض جدی همراه است(۲۴،۱۱). در یک بررسی نشان داده شده است که تجویز دگزامتازون در پنج روز اول

بارداری در موش‌های صحرایی باعث ایجاد تغییراتی در وزن، قد و یا ناهنجاری‌های دیگر در فرزندانشان نمی-گردد(23). نتایج حاصل از یک مطالعه بیان‌گر آن بود که استفاده از گلوکوکورتیکوئیدهایی نظیر بتامتازون درحیواناتی مانند خوک، علاوه بر کاهش سطح باروری باعث کاهش تعداد جنین‌های نر نسبت به ماده می-شود(6). اگرچه گلوکوکورتیکوئیدها برای ارگانوژنز ضروری هستند اما افزایش بیش از حد آن‌ها باعث اختلال در روند رشد و نمو بسیاری از اندام‌ها از جمله محورهای هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال و هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد می‌گردد (17). در شرایط طبیعی و از طریق یک آنزیم جفتی به نام 11 بتا دهیدروکسی استروئید دهیدروژناز اثر گلوکوکورتیکوئیدهای مادری برجنین کنترل و محدود می‌شود(26). با عنایت به آن که میلیون‌ها نفر در سراسر دنیا چه در دوران بارداری و چه در زمان‌های دیگر برای درمان بسیاری از بیماری‌های خود از دگزامتازون استفاده می نمایند و یا تحت تاثیر استرس‌های مزمن با افزایش بیش از حد گلوکوکورتیکوئیدهای طبیعی روبرو هستند، لذا این پژوهش با هدف بررسی اثر تجویز دگزامتازون به موش‌های صحرایی باردار، بر عملکرد محورهیپوفیز-گناد و تعداد سلول‌های دودمانی جنسی فرزندان ماده در زمان بلوغ انجام گردید.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر یک مطالعه‌ی تجربی است که در سال 1392 در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات فارس، انجام شد. در این پژوهش از 40 سر موش صحرایی ماده بالغ و باکره و 14 سر موش صحرایی نر بالغ، از نژاد ویستاردر محدوده‌ی وزنی 2±189 گرم و سن 75 تا 80 روز استفاده شد. در طول دوره تجویز، همه حیوانات از آب و غذای یکسان و بدون محدودیت برخوردار بوده و در یک اتاق مخصوص در دمای 2±22 درجه سانتی¬گراد و در شرایط 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی و به دور از استرس نگه‌داری شدند و آب و غذا به میزان کافی در اختیار آن‌ها قرار گرفت. نمونه‌ها به 5 گروه 8تایی شامل گروه‌های کنترل، شاهد و تجربی 1 تا 3 تقسیم شدند. در این تحقیق گروه کنترل تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند و گروه شاهد نیز روزانه 0/2 میلی‌لیتر نرمال سالین را به عنوان حلال دارو دریافت داشتند. سه گروه تجربی نیز هم‌زمان با عنایت به دوز کشنده دارو از روز هشتم بارداری به صورت یک روز در میان تا پایان بارداری به ترتیب مقادیر 0/5، 1 و 2 میلی‌گرم بر کیلوگرم دگزامتازون تهیه شده از شرکت سیگما را به صورت درون صفاقی دریافت داشتند(18). پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی تنظیم و در کمیته اخلاق دانشگاه به تصویب رسید.

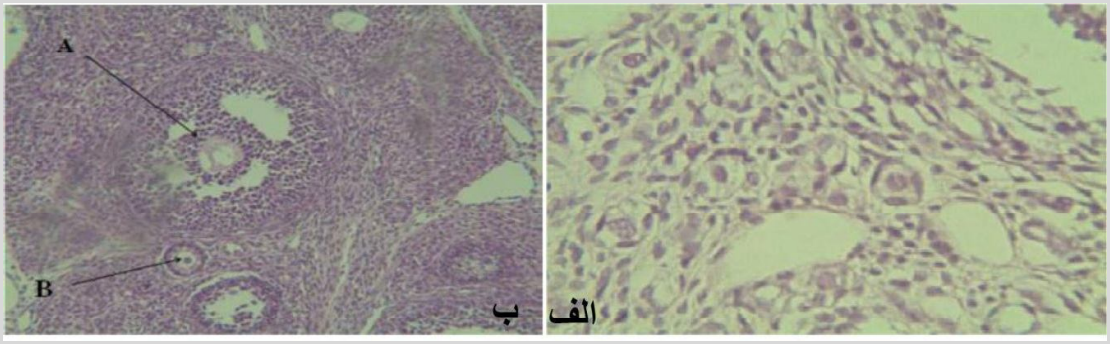
اجرای پژوهش

در این پژوهش جهت هم سیکل نمودن موش‌ها، ابتدا 100 میکروگرم استرادیول والرات را در 0/2 میلی‌لیتر روغن زیتون حل نموده و سپس به هر موش به صورت عضلانی با سرنگ انسولین تزریق صورت پذیرفت(8). پس از گذشت 42 ساعت 50 میکروگرم پروژسترون نیز به صورت عضلانی تزریق گردید. 6 ساعت بعد از تزریق، از موش‌ها اسمیر واژنی تهیه و مقداری از آن بر روی لام ریخته و به مدت 3 ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد تا اسمیر خشک شود. سپس لام‌های محتوی اسمیر خشک شده به مدت 2 دقیقه با اتانول تثبیت و با استفاده از رنگ گیمسا (BBDHE, England) با رقت 1 به 20 به مدت 15 دقیقه رنگ آمیزی نموده و با استفاده از آب مقطر شسته شدند. پس از خشک شدن نمونه‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری Nikon مورد بررسی قرار گرفتند. جهت تشخیص مراحل سیکل استروس از روش Ristic استفاده گردید(18). در این روش هر مرحله از سیکل

استروس بر اساس نسبت میان سه نوع جمعیت سلولی (سلول‌های اپی تلیال، سلول‌های شاخی و لوکوسیت‌ها) مشاهده شده در اسمیر واژنی تشخیص داده می‌شود. مشاهدات میکروسکوپی نشان دهنده‌ی این مساله بودند که همه‌ی موش‌ها در مرحله‌ی استروس هم سیکل شدند و سپس برای باردار نمودن موش‌ها هر 3 موش ماده را با یک موش نر هم قفس نموده تا جفت گیری نمایند ودر صورت مشاهده پلاک واژنی روز صفر حاملگی تعیین گردید و موش های نر را از مادهها جدا نموده و هر 8 سرموش ماده در یک گروه قرار گرفتند. پس از زایمان موش‌ها، فرزندان ماده از روز 25 پس از تولد که پایان شیرخوارگی است از سایرین جدا و بدون هیچ تیماری تا سن دو ماهگی ویا زمان بلوغ نگه‌داری شدند و آن گاه با اتر بی‌هوش و از قلب آن‌ها خون‌گیری به عمل آمد. نمونه‌های خونی به مدت 5 دقیقه در دور 3000 سانتریفیوژ گردید وپلاسمای تهیه شده تا قبل از سنجش میزان هورمون‌ها در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگه-داری و برای اندازه‌گیری تعداد سلول‌های دودمانی جنسی نیز پس از جداسازی تحمدان وتهیه مقاطع بافتی و رنگ‌آمیزی آن‌ها اقدام به شمارش سلول‌های فوق گردید(7). میزان هورمون‌های LH، FSH و استرادیول به روش الیزا(ELISA) و پروژسترون به روش رادیوایمونواسی (RIA) با استفاده از دستگاه الیزا ریدر مدل (Eliza Reader Hiperion NP4 plus) اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری هورمون‌های LH و FSH از کیت‌های مارک Cusabio ساخت کشور آمریکا و برای هورمون‌های استرادیول و پروژسترون نیز از کیت‌های مارک IBL,GmbH ساخت کشور آلمان استفاده شد. پس از جمع‌آوری اطلاعات، داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS-20 و از طریق آزمون‌های آماری تجزیه و تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و دانکن در سطح معناداری $P\leq 0/05$، مورد تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج

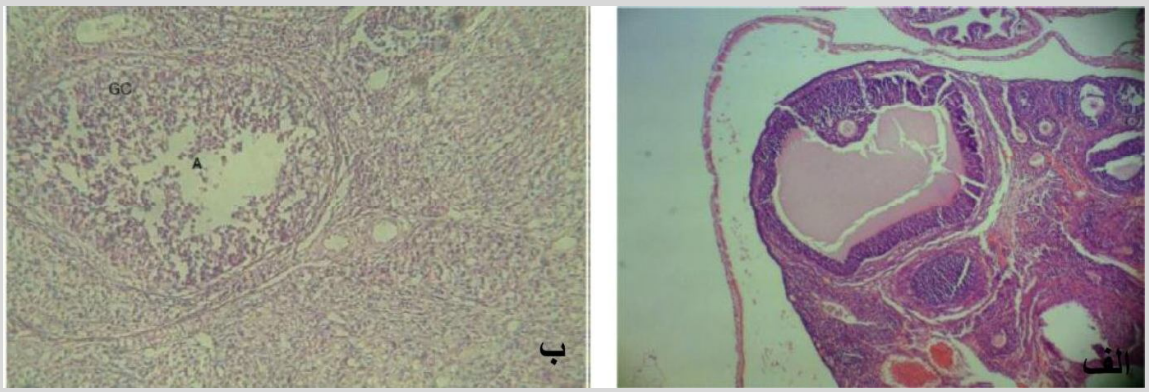
نتایج این مطالعه نشان داد در فرزندان ماده مادرانی که در دوران بارداری تحت تیمار دگزامتازون بوده‌اند در میزان پلاسمایی LH نسبت به گروه کنترل اختلاف معناداری مشاهده نمی‌شود ودر میزان پلاسمایی FSH تنها در گروه دریافت‌کننده دوزهای 2 mg/kg دگزامتازون افزایش معناداری در سطح$p\leq 0/01$ نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید. هم چنین نتایج این مطالعه بیان‌گر کاهش معناداری در سطح $p\leq 0/01$ در میزان پلاسمایی هورمون استروژن در گروه دریافت کننده دگزامتازون با دوز 2mg/kg نسبت به گروه کنترل می‌باشد، به علاوه نتایج این مطالعه بیان‌گر افزایش معناداری در سطح $p\leq 0/05$ در میزان پلاسمایی هورمون پروژسترون در گروه دریافت کننده دگزامتازون با دوز 0/5mg/kg نسبت به گروه کنترل می باشد(جدول1). نتایج حاصل از تحلیل آماری داده‌های این بررسی بیان‌گر آن است که در گروه‌های دریافت‌کننده دوزهای 2mg/kg و1 دگزامتازون در میانگین تعداد فولیکول‌های پره آنتریک کاهش معناداری در سطح $p\leq 0/01$ و در گروه دریافت-کننده دوز 0/5mg/kg کاهش معناداری در سطح $p\leq 0/05$ نسبت به گروه کنترل وجود دارد، هم چنین نتایج این مطالعه بیان‌گر کاهش معناداری در سطح $p\leq 0/001$ در میانگین تعداد فولیکول‌های آنترال و گراف و افزایش معنا داری درسطح $p\leq 0/01$ در میانگین تعداد فولیکول‌های آترتیک در گروه‌های دریافت‌کننده دگزامتازون نسبت به گروه کنترل می باشد به علاوه نتایج این پژوهش نشان داد که دگزامتازون تاثیر معناداری در میانگین تعدادفولیکول‌های بدوی و جسم زرد ندارد(جدول 2 و اشکال1 تا3).



شکل 1- برش عرضی تخمدان بزرگ نمایی400×

الف)فولیکول بدوی درگروه کنترل، ب) فولیکول پری آنترال

فولیکول ثانوی :A ، فولیکول پری آنترال:B



شکل 2- فولیکول گراف تخمدان الف- با بزرگ نمایی400× ب-فولیکول آترتیک با بزرگ نمایی100×

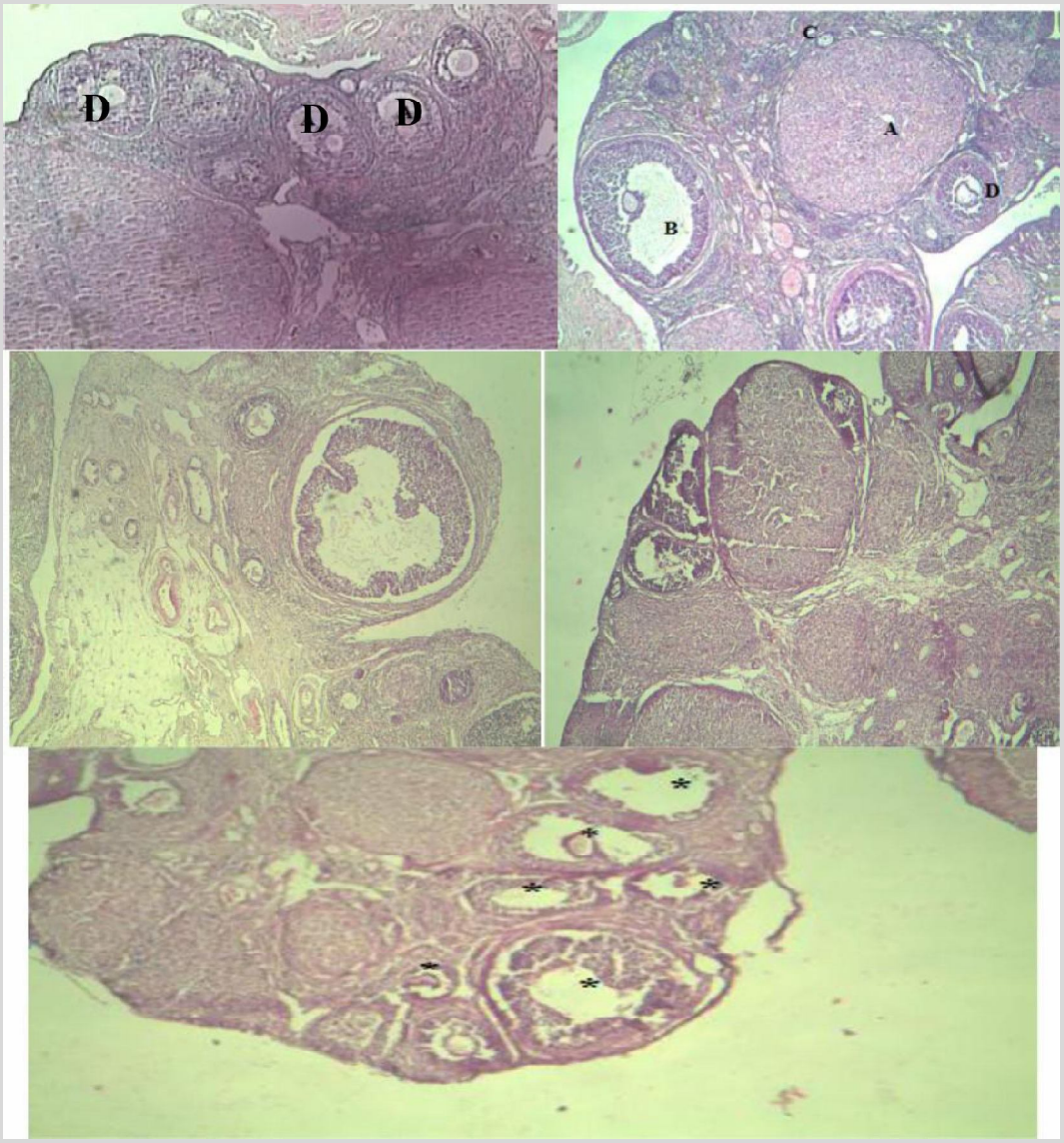
ژرمینال اپی تلیوم:GC

جدول1-میزان اثر دوزهای مختلف دگزامتازون بر میانگین پلاسمایی هورمون‌های جنسی موش ماده

هورمون / گروه	LH ng/ml	FSH ng/ml	استروژن ng/ml	پروژسترون ng/ml
کنترل	0/400±0/019	1/15±0/11	50/16±2/98	**13/72±0/55**
شم	0/395±0/016	1/17±0/10	52/18±4/75	**12/98±0/44**
تجربی1(0/5mg/kg)	0/365±0/012	1/36±0/08	45/48±1/10	**17/28±1/22***
تجربی2(1mg/kg)	0/377±0/019	1/38±0/03	48/66±4/81	**13/98±0/57**
تجربی 3(2mg/kg)	0/365±0/015	1/34±0/28**	32/40±3/41**	**11/36±1/33**

* نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح$p\leq 0/05$

** نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح $p\leq 0/01$



شکل 3- مقایسه اثر دگزا متازون بر روی بافت تخمدان

الف- کنترل ، ب-شم ، ج- تجربی 1، د-تجربی2، ه-تجربی3 بزرگنمایی40×

A :جسم زرد، B:فولیکول گرافC: فولیکول پره آنترال، D: فولیکول آنترال،*:فولیکول آترتیک

جدول2- مقایسه اثر دوزهای مختلف دگزامتازون بر میانگین تعداد سلول‌های دودمانی جنسی

سلول‌های دودمانی / گروه	فولیکول بدوی	فولیکول پره آنترال	فولیکول آنترال	فولیکول گراف	جسم زرد	فولیکول آترتیک
کنترل	19/81±1/56	24/67±3/27	27/41±3/52	2/40±0/50	16/32±2/02	**11/40±2/35**
شم	20/60±1/75	24/37±3/57	25/64±3/45	1/89±0/70	15/05±2/48	**11/24±2/84**
تجربی1(0/5mg/kg)	15/51±3/31	14/14±4/05*	10/68±2/94***	0±0 ***	17/27±3/24	**40/41±4/68*** **
تجربی 2(1mg/kg)	16/96±3/55	11/81±2/45**	11/10±3/15***	0±0***	20/28±4/05	**37/9±7/27*** **
تجربی3(2mg/kg)	17/97±3/70	13/20±2/05**	3/91±1/02***	0±0***	18/05±3/97	**46/77±3/07*** **

* نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح p≤0/05،**نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p≤ 0/01،***نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح p≤0/001 .

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که دگزامتازون به صورت وابسته به دوز باعث افزایش معنادار LH ، استروژن و هم چنین افزایش تعداد فولیکول‌های آترتیک و کاهش فولیکول‌های گرآف، آنترال و پره آنترال می‌گردد، در حالی که تاثیری بر تعداد فولیکول‌های بدوی و جسم زرد ندارد. گلوکوکورتیکوئیدها در طول دوره بارداری آزادانه از جفت عبور می‌نمایند بنابراین جنین‌ها نیاز به محافظت در برابر غلظت‌های بالای گلوکوکورتیکوئیدها دارند(4). در موش‌های صحرایی غلظت گلوکو-کورتیکوئیدهای جنینی 100 تا 1000 بار کمتر از گلوکوکورتیکوئیدهای مادری هستند(5). در یک بررسی نشان داده شده است که درمان با دگزامتازون باعث افزایش تعداد سلول‌های ترشح کننده FSH از طریق تمایز سلول‌های بنیادی در هیپوفیز می‌گردد(22، 13). مشخص شده است که اگر سطوح بالایی از استروئیدهای مادری نظیر زمانی که مادر تحت تجویز دگزامتازون قرار گرفته باشد به جنین برسد، رشد و نمو جنین به تاخیر افتاده (15) و یا افزایش استروئیدها در بلوغ زود هنگام بافت‌های جنینی موثر بوده و در این شرایط استعداد بروز برخی از ناهنجاری‌های جنینی وجود دارد(2). هم‌سو با نتایج مطالعه حاضر در یک بررسی نشان داده شد که به دنبال ایجاد استرس که منجر به افزایش ترشح گلوکوکورتیکوئیدها می‌شود و یا به دنبال تجویز گلوکوکورتیکوئیدهای صناعی نظیر دگزامتازون غلظت FSH افزایش و غلظت LH کاهش می‌یابد که در نتیجه آن تخمک گذاری بلوکه می‌شود(16). در بررسی دیگر نشان داده شده است که گلوکوکورتیکوئیدها از طریق اتصال به رسپتورهای اختصاصی خود در سلول‌های ترشح کننده LH ترشح این هورمون را از هیپوفیز به داخل خون متوقف می‌نمایند(25). در طول تکوین تخمدان در پستانداران، سلول‌های زاینده اولیه و اووگونی‌ها به وسیله تقسیم میتوز افزایش می‌یابند و درموش‌های صحرایی در روز هفدهم جنینی وارد چرخه‌های میوزی می‌شوند و به اووسیت‌ها تکوین می-یابند(13). دگزامتازون که یک مهارکننده قدرتمند افزایش انواع سلول‌ها می‌باشد موجب کاهش همه جانبه تعداد فولیکول‌های تخمدانی وآسیب جدی در روند تکوین سیستم تولید مثلی می‌شود(13). هم‌سو با بخشی ازنتایج تحقیق حاضر حجم تخمدان در موش‌های صحرایی که مادرانشان در زمان جنینی آن‌ها در معرض درمان با دگزامتازون قرار داشته‌اند تا 44/4 درصد کاهش می‌یابد و تعداد فولیکول‌های بدوی تا 38/8درصد و تعداد فولیکول های اولیه و آنترال به ترتیب 53/4 و 41/8 درصد کاهش می‌یابند(18). نتایج حاصل از یک بررسی نشان داد که در شرایط invivo، دگزامتازون باعث مهار عملکرد تخمدان می‌شود(23). در موش‌های صحرایی در بعد از ظهر مرحله‌ی دی استروس، فولیکول‌های تخمدانی تقریباً به طور کامل رشد نموده‌اند(10) و با افزایش میزان LH ترشح اینهیبین کاهش یافته تا با فراهم شدن امکان ترشح شدید FSH و آغاز مرحله استروس روند فولیکوژنز آغاز گردد(12)، لذا با توجه به آن که در مطالعه حاضر میزان LH کاهش یافته است، کاهش تعداد فولیکول‌های تخمدانی قابل انتظار است. با توجه به نتایج این مطالعه مشخص گردید که افزایش گلوکو-کورتیکوئیدها در دوران بارداری باعث بروز تاثیرات پایداری بر تکوین و عملکرد دستگاه تولید مثل فرزندان ماده می‌گردد و لذا پیشنهاد می‌شود در جهت تجویز داروهای فوق از جمله دگزامتازون و یا قرار گرفتن در معرض استرس‌هایی که باعث افزایش ترکیبات فوق در زمان بارداری می‌شوند، احتیاط لازم به عمل آید.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود واجب می‌دانند که از زحمات کارکنان حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی

واحد علوم و تحقیقات فارس که امکانات این تحقیق را فراهم نمودند تقدیر و تشکر نمایند.

منابع

1.Aboubakr, E., Emad, A., Mahmod, F., Magdy S. (2006). Clomiphene citrate and dexamethazone in treatment of clomiphene citrate-resistant polycystic ovary syndrome: a prospective placebo-controlled study. Hum. Reprod, 21 (7); 1805-1808.

2.Austin, R.M. (2010). The effects of undernutrition and dexamethasone treatment on cultured rat neonatal cardiomyocytes. Thesis submitted to the University of Nottingham for a Masters of Research degree in Biosciences Sciences, 30-33.

3.De Blasio, M. J., Dodic, M., Jefferies, A. J., Moritz, K. M., Wintour, E.M., Owens, J. A. (2007). Maternal exposure to dexamethasone or cortisol in early pregnancy differentially alters insulin secretion and glucose homeostasis in adult male sheep offspring. Am J Physiol Endocrinol Metab, 293(1); E75-82.

4.de Vries, W. B., van der Leij, F. R., Bakker, J. M., Kamphuis, P. J., van Oosterhout, M. F., Schipper, M. E. (2002). Alterations in adult rat heart after neonatal dexamethasone therapy. Pediatr Res, 52(6); 900-906.

5.Drake, A. J., Seckl, J. R. (2004). Impact of intrauterine exposure to glucocorticoids upon fetal development and adult pathophysiology. pp 381-417. In: Fetal Nutrition andAdult Disease: Programming of Chronic Disease through Fetal Exposure toUndernutrition. Langley-Evans S.C. (Ed). CABI, Oxfordshire, UK.

6.Dunn, E., Kapoor, A., Leen, J., Matthews, S. G. (2010). Prenatal synthetic glucocorticoid exposure alters hypothalamic-pituitary-adrenal regulation and pregnancy outcomes in mature female guinea pigs. J Physiol, 588(Pt 5); 887-899.

7.Hojati, V., Parivar, K., Rastegar-Poyani, E., Shiravi, A. (2012). The ovarian Anatomy and Histology of the Lizard Cyrtopodion caspium. Journal of Animal Biology, 4(3); 21-32.

8.Hosseini, S. E., Forazanfar, M., Payhdar, A. (2013). The effect of hydroalcolic extract of purslane (*Portulaca oleracea* L) on serum concentration of esterogen, progesterone, prolactin and gonadotropins in mature rats. J Shahrekod Univ Med Sci, 15(5); 34-41.

9.Kamphuis, P. J., de Vries, W. B., Bakker, J. M., Kavelaars, A., van Dijk, J. E., Schipper, M. E. (2007). Reduced life expectancy in rats after neonatal dexamethasone treatment. Pediatr Res, 61(1); 72-76.

10. Miller, B. H., Core, A. C. (2002). N-methyl – D-Aspartate receptor subunit expression in GnRH Neurons changes during rapoductive senescence in the female rat. Endocrinology, 143(9); 3568-3574.

11. Moradan, S., Ghorbani, R. (2009). Dexamethasone in unexplained infertility. Saudi Med J, 30(8); 1034-1036.

12. Mukherjee, A., Urban, J., Sassone-Corsi, P., Mayo, K. E. (1998). Gonadotropins regulate inducible cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate early repressor in the rat ovary: implications for inhibin alpha subunit gene expression. Mol Endocrinol, 12(6); 785-800.

13. Negić, N., Nestorović, N., Manojlović-Stojanoski, M., Filipović, B., Soić-Jurjević, B., Milosević, V. (2006). Multiple dexamethasone treatment affects morphometric parameters of gonadotrophic cells in adult female rats. Folia Histochem Cytobiol, 44(2); 87-92.

14. Newton, R. (2000). Molecular mechanisms of glucocorticoid action: what is important? Thorax, 55(7); 603-613.

15. Nyirenda, M. J., Lindsay, R. S., Kenyon, C. J., Burchell, A. (1998). Seckl JR. Glucocorticoid exposure in late gestation permanently programs rat hepatic phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucocorticoid receptor expression and causes glucose intolerance in adult offspring. J Clin Invest, 101(10); 2174–2181.

16. Ozawa, H., Ito, T., Ochiai, I., Kawata, M. (1999). Cellular localization and distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and the expression of glucocorticoid receptor message RNA in rat pituitary gland. A combined double immunohistochemistry study and in situ hybridization histochemical analysis. Cell Tissue Res, 295(2); 207-214.

17. Page, K. C., Sottas, C. M., Hardy, M. P. (2001). Prenatal exposure to dexamethasone alters Leydig cell steroidogenic capacity in immature and adult rats.J Androl, 22(6); 973-980.

18. Ristić, N., Nestorović, N., Manojlović-Stojanoski, M., Filipović, B., Sosić-Jurjević, B., Milosević, V. (2008). Maternal dexamethasone treatment reduces ovarian follicle number in neonatal rat offspring. J Microsc, 232(3); 549-557.

19. Seckl, J. R., Meaney, M. J. (2004). Glucocorticoid programming. Ann N Y Acad Sci, 1032; 63-84.
20. Seckl, J. R. (2001). Glucocorticoid programming of the fetus; adult phenotypes and molecular mechanisms. Mol Cell Endocrinol, 185(1-2); 61-71.
21. Swolin-Eide, D., Dahlgren, J., Nilsson, C., Albertsson Wikland, K, Holmäng, A., Ohlsson, C. (2002). Affected skeletal growth but normal bone mineralization in rat offspring after prenatal dexamethasone exposure. J Endocrinol, 174(3); 411-418.
22. Taniguchi, Y., Yasutaka, S., Kominami, R., Shinohara, H. (2002). Proliferation and differentiation of rat anterior pituitary cells. Anat Embryol (Berl), 206(1-2); 1-11.
23. Teixeira, V. W., Histología, Á. (2008). Morphological analysis of neonates of rats treated with dexamethasone in the initial phase of pregnancy. Int. J. Morphol, 26(3); 523-527.
24. Till, J. (2011). Paramedic Clinical Training. .Aid. Available at: http//paramedicinfo.com / PDA/index.html.
25. Tohei, A., Kogo, H. (1999). Dexamethasone increases folliclestimulating hormone secretion via suppresion of inhibin in rats. Eur Pharmacol, 386(1); 69-74.
26. Yang, K. (1997). Placental 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase: barrier to maternal glucocorticoids. Rev Reprod, 2(3); 129-132.

.

.