

اثر محافظتی اپی نفرین در تغییرات فرآیند اسپرماتوژن در اثر تشعشعات گاما در موش صحراایی بالغ

^{١*} جعفر آی ، ^٢ اسدآ... طرفکار ، ^٣ سعید خاتم‌ساز ، ^٤ حسین شهریاری

خلاصه

سابقه و هدف: با توجه به اینکه انسان در معرض تشعشعات گاما ناشی از رادیوتراپی و پرتوهای X تشخیصی قرار می‌گیرد، بررسی اثرات تشعشعات گاما بر بافت‌های مختلف انسان ضروری به نظر می‌رسد. هدف از این تحقیق بررسی اثرات تشعشعات گاما بر فرآیند اسپرماتوژن در موش صحراایی بالغ و نقش اپی نفرین به عنوان محافظت‌کننده است.

مواد و روش‌ها: در این بررسی تجربی دستگاه مولد اشعه گاما با شدت ۲۵ گری به کار گرفته شد و تعداد ۱۲۰ راس موش صحراایی نزاد Wistar به عنوان مدل آزمایشگاهی در ۴ گروه مساوی انتخاب گردیدند. ۱- گروه تیمار با اپی نفرین، ۲- گروه تیمار با سرم نمکی (کترل)، ۳- گروه تیمار با اپی نفرین و تشعشعات گاما، ۴- گروه تیمار با سرم نمکی و تشعشعات گاما با شدت ۲۵ گری. تزریق اپی نفرین به مقدار sub lethal dose (1ml/kg) به صورت زیرجلدی در ناحیه شکم صورت پذیرفته است. تعداد ۶۰ راس موش صحراایی برای به دست آوردن LD50 (Lethal dose) مورد آزمایش قرار گرفت و LD50 اپی نفرین به میزان 2 ml/kg تعیین شد. در پایان پس از تشریح و بیرون آوردن بیشهی حیوانات و عملیات مربوط به آماده‌سازی اسالید و مطالعه‌ی آنها، تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی، تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه، تعداد سلول‌های اسپرماتید، تعداد اسپرماتوزئیدها و تعداد سلول‌های بینایی و سلول‌های سرتولی مورد بررسی و شمارش قرار گرفت.

نتایج: یافته‌ها نشان داد که در گروه تیمار با اشعه گاما با شدت ۲۵ گری لوله‌های اسپرم‌ساز از هم فاصله گرفتند و همچنین تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی و سلول‌های اسپرماتید و اسپرم به صورت معنی دار ($p < 0.05$) کاهش یافت. تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه و میزان ترشحات در لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه تیمار با گاما در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری ($p < 0.05$) مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: در پایان، گروه تیمار با اپی نفرین و تشعشعات گاما این عوارض را نشان نداد و عملکرد اپی نفرین به عنوان یک محافظت‌کننده به خوبی مشخص شد. به نظر می‌رسد اپی نفرین با کاهش جریان خون و ایجاد هیپوکسی، سلول‌ها و بافت‌ها را از اثرات زیان‌بار رادیکال‌های آزاد که تحت تاثیر تشعشعات گاما حاصل می‌شوند، حفظ می‌کند.

وازگان کلیدی: اسپرماتوژن، تشعشعات گاما، اپی نفرین، موش صحراایی

- ۱- دانشیار گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی فسا
- ۲- دانشیار گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز
- ۳- استادیار گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی کازرون
- ۴- مریم گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی کازرون

* نویسنده مسؤول: جعفر آی

آدرس: فسا، دانشکده علوم پزشکی فسا، بخش آناتومی
پست الکترونیک: jafar_ay2000@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۷ ۱۱۸ ۴۷۶۳

دورنويسي: ۰۷۳۱ ۲۲۲ ۷۰۹۱

غیرمستقیم هستند. این پرتوها در حین عبور از ماده‌ی جاذب، انرژی جنبشی خود را از داده و تولید ذرات باردار می‌کنند [۲]. تشعشعات گاما به علت تولید رادیکال‌های آزاد می‌توانند یک اتصال شیمیایی را بشکنند و زنجیره‌ای از وقایع را که تغییرات

مقدمه انسان هر روز در معرض برخورد با میدان‌ها و تشعشعات الکترومغناطیس و گاهی تشعشعات گاما قرار می‌گیرد [۱]. تشعشع-های الکترومغناطیس از جمله اشعه گاما پرتوهای یونیزان

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت تجربی انجام شد و حیوانات مورد آزمایش ۱۲۰ راس، موش‌های صحرایی نژاد Wistar با وزن ۲۲۰-۲۰۰ گرم بودند که از مرکز پرورش حیوانات دانشکده پزشکی شیراز تهیه گردیدند. در شروع انجام آزمایشات سن متوسط موش‌ها ۱۲-۲/۵ ماه بود. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشتابی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. آب آشامیدنی حیوانات از آب لوله‌کشی و تغذیه آنها از خوراک آماده مخصوص موش‌های صحرایی بود. در بررسی حاضر موش صحرایی به ۴ گروه مساوی به صورت تصادفی به شرح زیر تقسیم شدند:

- گروه اول، گروه تیمار با اپی‌نفرین (EPi): در این گروه حیوانات مقدار 1 mL/kg اپی‌نفرین (تهیه شده از شرکت داروپخش) به صورت زیرجلدی در ناحیه شکم دریافت می‌کردند.
- گروه دوم، گروه تیمار با سرم نمکی (Control): گروه فوق مقدار 1 mL/kg سرم نمکی به صورت زیرجلدی در ناحیه شکم دریافت می‌نمودند.
- گروه سوم، گروه تیمار با اپی‌نفرین و اشعه گاما: (EPi+) در این گروه ابتدا به میزان 1 mL/kg اپی‌نفرین به صورت زیرجلدی در ناحیه شکم تزریق می‌شد و سپس بلاخلاصه موش‌ها تحت تاثیر تشتعشات گاما با شدت ۲۵ گری قرار می‌گرفتند.
- گروه چهارم، گروه تیمار با سرم نمکی و اشعه گاما (EPi+γ): در این گروه ابتدا به میزان 1 mL/kg سرم نمکی به صورت زیرجلدی در ناحیه شکم تزریق شده و بلاخلاصه موش‌ها تحت تاثیر تشتعشات گاما به شدت ۲۵ گری قرار می‌گرفتند. در ضمن تعداد ۶۰ راس موش صحرایی نیز برای به دست آوردن LD ۵۰ اپی‌نفرین مورد استفاده قرار گرفت و بعد از به دست آوردن LD ۵۰ آزمایشات مورد نظر با دوز Sub lethal dose انجام گرفت، LD ۵۰ به دست آمده 2 mL/kg بود و dose مورد استفاده 1 mL/kg در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که LD ۵۰ اپی‌نفرین دوزی بود که در آن دوز، تعداد نصف حیوانات مورد آزمایش تلف شدند. در این تحقیق از دستگاه تولید اشعه گاما مدل فونیکس، ساخت شرکت سروترونیک موجود در بخش رادیوتراپی بیمارستان نمازی شیراز استفاده شد. چشمهدی اشعه گاما موجود در این دستگاه ایزوتوپ کالت ^{60}Co باشد و حیوانات در گروه‌های تیمار با اشعه به پشت خوابانیده می‌شدند و ناحیه اینگوینال آنها در معرض اشعه قرار می‌گرفت. پس از گذشت ۵۰ روز از شروع آزمایش حیوانات به وسیله کلروفرم

زیستی از جمله جهش و آسیب در غشاها را شروع نماید [۳]. اکسیژن می‌تواند با رادیکال‌های آزاد ترکیب شده و در تیجه یک پراکسید آلی و غیرقابل برگشت به وجود می‌آید که باعث ثبت آسیب‌ها می‌شود، بدون حضور اکسیژن این واکنش روی نمی‌دهد و بسیاری از مولکول‌های یونیزه شده هدف، می‌توانند خودشان را ترمیم و قابلیت عمل طبیعی خود را نیز بازیابند [۴]. در بررسی نوروبلاست‌های تابش دیده، یک دوره‌ی بحرانی بین مراحل نهایی و ماقبل نهایی پروفاز مشاهده می‌شود. اگر یاخته‌ای پس از پروفاز تحت تابش قرار بگیرد، تقسیم میتوزی ادامه می‌باشد ولی اگر قبل از این مرحله صورت بگیرد تقسیم میتوزی متوقف شده یا یاخته به وهله‌ی اوایل پروفاز یا ایترفالز برمه‌گردد [۵]. در بیشتر یاخته‌هایی که در زمان تابش دهی در حال تقسیم هستند، ممکن است تقسیم یاخته در مرحله G₂ متوقف شود. ساخت DNA نیز ممکن است به طور ناقص یا کامل در یاخته‌ها در مرحله S متوقف گردد. از آنجایی که فرآیند اسپرماتوژن فرآیندی است که تقسیم میتوز به وفور در آن دیده می‌شود، تابش گاما می‌تواند تاثیرات بسیاری در آن داشته باشد [۵]. مطالعات اخیر نیز نشان می‌دهد که تشتعشات می‌تواند بر میزان هورمون‌های جنسی و تعداد اسپرم‌ها اثر داشته باشد [۶] و همچنین می‌تواند باعث کاهش تعداد سلول‌های جنسی در موش‌ها شوند [۷]. داروهایی که ادعا می‌شوند واکنش سلول‌ها به پرتوها را تعديل می‌کنند، محافظت‌کننده نامیده می‌شوند. این داروها بر حساسیت سلول‌ها نسبت به اشعه، اثر نمی‌گذارند، بلکه از کل حیوان محافظت به عمل می‌آورند [۸]. از دهه ۱۹۷۰ به بعد تحقیقات زیادی برای یافتن مواد و محافظت‌کننده‌هایی که بتوانند از بافت‌های طبیعی محافظت بنمایند بدون اینکه اثر مشابهی بر سلول‌های تومور داشته باشد آغاز گردید و از آن زمان تا امروز مواد شیمیایی مختلفی معرفی شده‌اند که یکی از آنها اپی‌نفرین است [۹] که مکانیسم عمل آن کاهش قطر رگ‌های خونی و کاهش اکسیژن در اعضای حساس می‌باشد [۸]. از طرفی برخی محققین اظهار داشته‌اند که اثرات محافظتی اپی‌نفرین به وسیله‌ی کاهش اکسیژن و کاهش قطر رگ‌های خونی نمی‌باشد [۱۰]. لذا با توجه به این مطالب و مضرات احتمالی اشعه گاما در رادیوتراپی بر آن شدیم تا تاثیر تشتعشات گاما با شدت ۲۵ گری را بر بافت بیضه که بافتی پرخون است به عنوان میزان شدتی که بر فرآیند اسپرماتوژن مورد بررسی قرار نگرفته است مورد بررسی قرار داده و نقش اپی‌نفرین را به عنوان یک محافظت‌کننده مورد مطالعه قرار دهیم.

معنی داری مشاهده نشد. تعداد سلول های اسپرماتوسیت اولیه در گروه های مختلف آزمایشی و کنترل نشان داد که تعداد سلول های اسپرماتوسیت اولیه در گروه های گاما و سرم نمکی $97/4 \pm 0/14$ (p<0/05) می باشد که نسبت به گروه کنترل افزایش معنی دار ($p < 0/05$) مشاهده شد. تعداد سلول های اسپرماتوسیت اولیه در سایر گروه ها و گروه اپی نفرین و گاما ($83/9 \pm 0/16$) نسبت به گروه کنترل تغییر معنی دار ($p < 0/05$) مشاهده نشد. تعداد سلول های اسپرماتید در گروه های مختلف آزمایشی و کنترل نشان داد که تعداد سلول های اسپرماتید در گروه های گامای نمکی $211 \pm 14/75$ می باشد که نسبت به گروه کنترل با تعداد $267 \pm 13/51$ کاهش معنی دار ($p < 0/05$) مشاهده شد. تعداد سلول های اسپرماتید در سایر گروه ها و گروه اپی نفرین و گاما ($263 \pm 11/21$) نسبت به گروه کنترل تغییر معنی دار ($p < 0/05$) مشاهده نشد. تعداد سلول های اسپرماتوزوئید در گروه های مختلف آزمایشی و کنترل نشان داد که تعداد سلول های اسپرماتوزوئید در گروه های گامای نمکی $253 \pm 1/6$ می باشد که نسبت به گروه کنترل با تعداد $202 \pm 1/6$ کاهش معنی دار ($p < 0/05$) مشاهده نشد. تعداد سلول های بینایی در گروه گامای نمکی و همچنین در سایر گروه ها و گروه اپی نفرین و گاما نسبت به گروه کنترل تغییر معنی داری ($p < 0/05$) مشاهده نشد. تعداد سلول های سرتولی در گروه گاما و سرم نمکی $32/78 \pm 1/7$ بود که نسبت به گروه کنترل با تعداد $32/44 \pm 3/24$ نظر آماری تغییر معنی دار ($p < 0/05$) مشاهده نشد. تعداد سلول های سرتولی در سایر گروه ها نسبت به گروه کنترل تغییر معنی دار ($p < 0/05$) مشاهده نشد. همچنین ایجاد خیز یا ادم و فاصله گرفتن لوله های اسپرم ساز از هم در بافت بیضه (تصاویر ۱ و ۲ و ۳) و پیدایش بی نظمی در اپی تلیوم زایای لوله های اسپرم ساز در گروه تیمار با اشعه و سرم نمکی نیز مشاهده گردید که این تغییرات در سایر گروه ها همچنین گروه تیمار با اپی نفرین و گاما دیده نشد.

بیهوش شده و سپس حیوان را به پشت بر روی تشتک تشریح خوابانده و دست ها و پاها را بر روی آن سنjac کرده، سپس بیضه و اپیدیدیم را از اسکروتوم خارج کرده و بیضه را در محلول تثیت کننده بوئن قرار دادیم و پس از انجام عملیات آمداده سازی بافت (فیکس کردن، بلوك کردن، برش، رنگ آمیزی با هماتوکسیلین و اوزین)، مقاطع بافتی به صورت مقاطع پشت سر هم (Serial section) به فاصله ۴۰ میکرومتر و به ضخامت ۵ میکرومتر جهت مطالعات بافت شناسی تهیه شده و اپی دیدیم را در ۱ سی سی محلول فرمالین 10° درصد کوپیده و با استفاده از روش شمارش گلبول سفید تعداد اسپرم ها را شمارش کردیم. سپس با استفاده از میکروسکوپ Olympus/3H-2 با بزرگنمایی $400\times$ سلول های موجود در لوله های سمبیتی فر را مورد مطالعه و شمارش قراردادیم و به منظور تهیه فنومیکروگرافها از میکروسکوپ ذکر شده و فیلم فوجی ASA100 استفاده نمودیم. لازم به ذکر این که چون لوله های سمبیتی فر بسته به مرحله ای که در آن قرار دارند ممکن است دارای جمعیت سلولی متفاوتی باشند، لذا سعی شده است تمامی مقاطع از لوله های سمبیتی فر stage 7 انتخاب گردد. در این مرحله اپی تلیوم لوله های سمبیتی فر حاوی اسپرماتوگونیا، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتید، اسپرم و سلول های سرتولی می باشد [۱۱]. همچنین جهت آنالیز آماری داده های به دست آمده در تحقیق، از روش ANOVA یک طرفه با ($p < 0/05$) استفاده شد.

نتایج

نتایج به دست آمده از این تحقیق در دو بخش جداگانه مطالعات بافت شناختی و مطالعات آماری طبقه بندی شده است. مطالعات آماری انجام شده بر روی رده های مختلف سلولی در اپی تلیوم لوله های اسپرم ساز در گروه های کنترل و آزمایش در جدول شماره ۱ آورده شده است. تعداد سلول های اسپرماتوگونی در گروه های مختلف آزمایشی و کنترل نشان داد که تعداد سلول های اسپرماتوگونی در گروه گاما و سرم نمکی $43/91 \pm 0/19$ و در گروه کنترل $43/91 \pm 0/19$ بود که کاهش معنی داری مشاهده شد ($p < 0/05$). تعداد سلول های اسپرماتوگونی در سایر گروه ها و گروه اپی نفرین و گاما ($43/71 \pm 0/41$) نسبت به گروه کنترل تغییر

جدول ۱- میانگین تعداد سلول های تشکیل دهنده اپی تلیوم سمبیتی در گروه کنترل و گروه های مختلف آزمایشی

| Sertoi cells | Interstitial cells | Spermatozoid | Spermatid | Spermatocyte I | Spermatogonia | N | گروه |
|---------------------|--------------------|-----------------|-------------------|-------------------|--------------------|----|---------|
| $32/78 \pm 1/7$ | $13/11 \pm 0/12$ | $253 \pm 1/4$ | $217 \pm 13/51$ | $82/2 \pm 0/11$ | $43/91 \pm 0/19$ | ۳۰ | Control |
| $3/24 \pm 3/1/24^*$ | $12/94 \pm 0/3^*$ | $202 \pm 1/6^*$ | $211 \pm 14/75^*$ | $97/4 \pm 0/14^*$ | $30/11 \pm 0/21^*$ | ۳۰ | S+γ |
| $32/11 \pm 4/28$ | $13/7 \pm 0/13$ | $245 \pm 1/2$ | $263 \pm 11/21$ | $83/9 \pm 0/16$ | $43/71 \pm 0/41$ | ۳۰ | EPI +γ |
| $30/15 \pm 5/22$ | $13/6 \pm 0/15$ | $251 \pm 1/7$ | $261 \pm 21/5$ | $84/7 \pm 0/13$ | $43/62 \pm 0/1$ | ۳۰ | EPI |

ارقام ارایه شده در جدول میانگین تعداد سلول های دهنده اپی تلیوم سمبیتی در ۱۲۰ لوله اسپرم ساز \pm SD می باشد. * نشان دهنده معنی دار بودن ($p < 0/05$) با گروه کنترل است.

بحث

بررسی بافت‌شناختی بافت بیضه، پیدایش بی‌نظمی در ابی‌تلیوم زیایی بافت بیضه در موش‌های صحرایی تحت تاثیر تشعشعات گاما و همچنین فوائل زیاد بین لوله‌ها را نشان داد. این امر پیدایش تخریب سلول‌ها و حالت ادم در بیضه را مطرح می‌سازد که یکی از نشانه‌های آسیب بافتی به شمار می‌رود [۱۲، ۱۳]. نتایج به دست آمده از مطالعه‌ی سلول‌های اسپرماتوگونی نشان‌دهنده‌ی کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی تحت تاثیر تشعشعات گاما می‌باشد. با توجه به این که تحقیقات قبلی نشان داده است که سلول‌های قابل تقسیم نسبت به پرتوها حساس‌ترند [۵] و با عنایت به این که مکانیسم ذکر شده برای میدان‌ها و پرتوها، مشابه ذکر گردیده [۲]، بنابراین می‌توان گفت که اثر مخرب تشعشعات گاما با ایجاد توقف رشد و انعدام سلول‌های اسپرماتوگونی موجبات کاهش تعداد سلول‌ها را فراهم آورده است [۱۴]. از طرف دیگر تزریق ابی‌نفرین هم‌زمان با قرارگیری حیوان در مععرض تشعشعات گاما مانع از پیدایش اثرات سوء تشعشعات گاما شده و از کاهش تعداد سلول‌های اسپرماتوگونی جلوگیری می‌نماید. در این مورد می‌توان گفت که ابی‌نفرین با ایجاد تنگی عروق باعث کاهش جریان خون شده و ایسکمی ایجاد می‌کند [۱۵]. در نتیجه میزان اکسیژن موجود در بافت‌ها را کاهش می‌دهد و کاهش اکسیژن از تشكیل رادیکال آزاد جلوگیری کرده و بدین ترتیب باعث کاهش اثرات سوء تشعشعات گاما بر سلول‌های اسپرماتوگونی می‌گردد [۸]. همچنین قرارگیری حیوان در مععرض تشعشعات گاما با شدت ۲۵ گری باعث افزایش تعداد اسپرماتوتوسیت‌های اولیه می‌گردد. در مورد توجیه این پدیده می‌توان گفت که تشعشعات گاما با اثرگذاری بر روی DNA سلول‌های اسپرماتوتوسیت اولیه باعث توقف سیر تکاملی سلول‌ها شده و از

نتیجه‌گیری

تشعشعات گاما باعث ایجاد آسیب در ابی‌تلیوم زیایی بافت بیضه می‌شود و ابی‌نفرین می‌تواند از اثرات زیان‌بار تشعشعات گاما در روند اسپرماتوژنر جلوگیری نماید.

References:

- [1] Alexander D. Charlesby A. Energy transfer in macromolecules exposed to ionizing Radiation. *Nature* 1954; 173: 578-579.
- [2] Portess DI. Bauer G. Hill MA. O'Neill P. Low-dose irradiation of nontransformed cells stimulates the selective removal of precancerous cells via intercellular induction of apoptosis. *Cancer Res* 2007; 67: 1246-1253.
- [3] Benkhaled L. Barrios L. Mestres M. Caballin MR. Ribas M. Barquinero JF. Analysis of gamma-rays induced chromosome aberrations: a fingerprint evaluation with a combination of pan-centromeric and pan-telomeric probes. *Int J Radiat Biol* 2006; 82: 869-875.
- [4] Puck TT. Marcus PI. Action of X-Rays on mammalian Cells. *J Exp Med* 1956; 103: 653-666.
- [5] Subbotina TI. Tereshkina OV. Khadartsev AA. Yashin AA. Effect of low-intensity extremely high frequency radiation on reproductive function in wistar rats. *Bull Exp Biol Med* 2006; 142: 189-190.
- [6] Ozguner M. Koyu A. Cesur G. Ural M. Ozguner F. Gokcimen A. et al. Biological and morphological effects on the reproductive organ of rats after exposure to electromagnetic field. *Saudi Med J* 2005; 26: 405-410.

- [7] Lee JS. Ahn SS. Jung KC. Kim YW. Lee SK. Effects of 60 Hz electromagnetic field exposure on testicular germ cell apoptosis in mice. *Asian J Androl* 2004; 6: 29-34.
- [8] Pospisil M. Hofer M. Vacek A. Netikova J. Pipalova I. Viklicka S. Noradrenaline reduces cardiovascular effects of the combined dipyridamole and AMP administration but preserves radioprotective effects of these drugs on hematopoiesis in mice. *Physiol Res* 1993; 42: 333-340.
- [۹] مزدانی حسین، رادیوبیولوژی برای رادیوبیولوژیست‌ها. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس. ۱۳۶۹.
- [10] van der Meer C. van Bekkum DW. The Mechanism of Radiation Protection by Histamine and Other Biological Amines. *International Journal of Radiation Biology* 1970; 1: 5-23.
- [11] Johnson MH. Everitt BJ. Essential Reproduction, Blackwell: Scientific Publication: 1996.
- [12] Ozguner M. Koyu A. Cesur G. Ural M. Ozguner F. Gokcimen A. Biological and morphological effects on the reproductive organ of rats after exposure to electromagnetic field. *Saudi Med J* 2005; 26: 405-410.
- [13] Porter KL. Shetty G. Meistrich ML. Testicular edema is associated with spermatogonial arrest in irradiated rats. *Endocrinology* 2006; 147: 1297-1305.
- [14] Kashiwabara S. Kashimoto N. Sanoh S. Uesaka T. Katoh O. Watanabe H. Damage of the mouse testis by tritiated water and 137Cs-gamma-rays. *Hiroshima J Med Sci* 2003; 52: 53-58.
- [15] Kaczmarczyk-Sedlak I. Cegiela U. Nowinska B. Pytlik M. Effects of catecholamines on blood pressure in the femoral bone marrow cavity in ovariectomized rats. *Pharmacol Rep* 2006; 58: 908-919.
- [16] Casaret G. Cellular Basis and Aetiology of late somatic Effects of ionizing Radiation. New York: Academic: 1963.
- [17] Sawada H. Esaki M. Electron microscopic observation of 137Cs-irradiated rat testis: production of basal laminae for germ cells, despite their absence. *J Electron Microsc (Tokyo)* 2003; 52: 391-397.