

Deneysel hipertiroidinin erişkin sıçan testis dokusunda oluşturduğu histolojik değişiklikler

Meltem Özgüner*, Altuğ Şenol**, Mehmet Ural*, Mehmet İşler**

*Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD., Isparta

**Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Dahiliye AD., Isparta

Özet

Amaç: Erişkin sıçanlarda deneysel hipertiroidi oluşturularak testis dokusundaki histolojik değişikliklerin ışık mikroskopik düzeyde incelenmesi amaçlandı. Materyal ve Metod: Ağırlıkları 230-280 gr olan 30 adet erişkin Wistar albino erkek sıçan kullanıldı. Grup I'e (Kontrol grubu) 10 gün serum fizyolojik, Grup II'ye 10 gün ve Grup III'e 20 gün , günde bir kez 250 mcg/kg L-tiroksin subkutan enjekte edildi. Tiroid fonksiyon testleri, Advia Centaur otoanalizörde kemilüminesans yöntemi ile çalışıldı. Histolojik inceleme için rutin takip yöntemleri uygulandıktan sonra elde edilen testis dokusu kesitlerinde her grup için ayrı ayrı Johnsen testiküler biyopsi skoru hesaplandı ve histolojik değerlendirme yapıldı. Bulgular: Spermiyogenezin değerlendirildiği Johnsen testiküler biyopsi skoru açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0.05$). Grup II ve Grup III'de germ hücre sayısının ve seminifer tübül histolojisinin değiştiği ancak interstisiyel alanda bulunan hücrelerin morfolojilerinin değişmediği saptandı. Sonuç: Erişkin dönemde oluşan hipertiroidinin, sıçan testisinde spermiyogenetik aktiviteyi etkilediği gözlemlendi. Bu değişikliğin, tiroid hormonunun doğrudan germ hücrelerine etkisi ve/veya Leydig hücreleri üzerinden dolaylı etkisi olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Hipertiroidi, testis, sıçan

Abstract

Histologic changes of adult rat testis in experimental hyperthyroidism

Aim: It was aimed to investigate histologic changes of adult rat testis in experimental hyperthyroidism.

Materials and Methods: Thirty male Wistar albino rats, weighting 230-280 gr were used. Rats in group I (Control group) were given daily s.c. injections of 0.025 N NaOH in saline, rats in group II received daily s.c. injections of 250 mcg/kg L-tiroksin for 10 days and rats in Group III received daily s.c. injections of 250 mcg/kg L-tiroksin for 20 days. Thyroid function tests were quantified by Advia Centaur autoanalyzer. Histological analysis of testis tissue including Johnsen's testicular biopsy score was performed for each group after practicing routine histologic procedures.

Results: Johnsen's testicular biopsy score of group II and group III were significantly decreased when compared to group I ($p<0.05$). Although germ cell morphology of group II and group III were effected, interstitial cell morphology was not effected in hyperthyroidism.

Conclusion: We have observed that spermatogenetic activity of adult rat testis was effected in experimental hyperthyroidism. This observation led us to conclude that it might be the result of direct effect of thyroid hormones on germ cells and/or the result of indirect effect on germ cells via Leydig cells.

Keywords: Hyperthyroidism, testis, rat

Giriş

Tiroid bezinden salgılanan triiyodotironin (T3) ve tiroksin (T4) hormonlarının vücudun metabolik hızını arttırmada önemli etkileri vardır. Tiroid hormonlarının artması, diğer endokrin bezlerin çoğunda salgı hızını artırır. Tiroid hormonlarının gonadlara etkisi özel bir işleve odaklanamaz, ancak muhtemelen gonadlar üzerindeki direkt metabolik etkileri ve seksüel işlevleri kontrol

eden ön hipofiz hormonları aracılığıyla çalışan uyarıcı ve inhibe edici etkilerinin ortaklaşa çalışmasının sonucudur (1).

Testiste Leydig hücrelerinin ve Sertoli hücrelerinin differansiyasyonu ve normal gelişimi için gonadotropinlere (LH ve FSH) ihtiyaç vardır (2,3). Gonadotropinlerden ayrı olarak, tiroid hormonlarındaki değişiklikler de testis gelişimini etkilemektedir (4).

Neonatal hipotiroidi Sertoli hücre proliferasyonu süresinde uzamaya sebep olup Sertoli hücre differansiyasyonunu geciktirmektedir ve bunun sonucu olarak erişkin sıçanda testis boyutunda ve sperm üreti-

Yazışma Adresi:

Yrd.Doç.Dr.Meltem ÖZGÜNER
Kurtuluş mah. Eralp apt. 7/9 ISPARTA
Tel : 0246 211 3244
E-Mail: mozunguner@hotmail.com

minde yaklaşık olarak %80 artış olduğu gösterilmiştir (5-12).

Neonatal -prepubertal hipertiroidi ise testiste hipotiroidinin etkilerine zıt etkiler göstermektedir. Tiroid hormonu T3'ün , Sertoli hücre differansiyasyonunu uyardığı ve bunun sonucunda Sertoli hücrelerinin mitotik olarak aktif oldukları dönemin belirgin olarak azaldığı gösterilmiştir (11). Neonatal hipertirodide, erişkin testisteki Sertoli hücre sayısı yaklaşık olarak %50 oranında azaldığı ve germinal hücre sayısındaki azalışın da buna eşlik ettiği ve testis boyutu azaldığı belirlenmiştir (11,13,14). Bu durum Sertoli hücre sayısını etkilediği için testisin sperm üretim kapasitesini de etkilemektedir (6,15-17).

Tiroid hormonunun hücrel etkilerine steroid yapıdaki reseptör ailesinin bir üyesi olan tiroid hormon reseptörü (TR) aracılık etmektedir. Testiste immatür Sertoli hücrelerinin TR reseptörü içerdikleri ve fonksiyonlarının tiroid hormonu tarafından düzenlenebildiği gösterilmiştir (18,19).

İlk yapılan çalışmalarda, erişkin testis dokusunda TR ekspresyonunun olmadığı ve bu nedenle erişkin testis dokusunun tiroid hormonuna cevap vermediği ileri sürülmüştür (20,21). Bu öngörünün aksine son zamanlarda yapılan çalışmalarda, erişkin testis dokusunda TR'nin varlığı immunohistokimyasal verilerle kanıtlanmış ancak TR'nin tam hücrel lokalizasyonu gösterilememiştir (22,23).

Neonatal-prepubertal dönemde tiroid hormon değişikliklerinin testis dokusu üzerine etkileri hakkında pek çok çalışma olmasına rağmen erişkin dönemde oluşan hipertiroidin testis üzerine etkileri hakkında yeterli literatür bilgisi mevcut değildir. Bu nedenle, bu çalışmada erişkin sıçanlarda deneysel hipertiroidi oluşturularak testis dokusunda olabilecek histolojik değişikliklerin ışık mikroskopik düzeyde incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metod

Çalışmada, ağırlıkları 230-280 gr arasında olan 30 adet erişkin Wistar albino sıçan kul-

lanıldı. Sıçanlar hava alan tel kafeslerde, 21-22 °C oda ısısında tutularak standart pellet sıçan yemi ile beslendi. Dokular alınmadan 12 saat önce katı besinler ve 2 saat önce su diyetten çıkarıldı.

Sıçanlar her grupta 10 hayvan olacak şekilde 3 gruba ayrıldı; Grup I'e (Kontrol grubu) 10 gün süre ile serum fizyolojik (SF), Grup II'ye 10 gün ve Grup III'e 20 gün, günde bir kez 250 mcg/kg L-tiroksin subkutan enjekte edildi. SF ve L-tiroksin tedavisi tamamlanan sıçanların eter anestezisi altında 5 cc kan alındıktan sonra testis dokuları çıkarıldı.

Tiroid fonksiyon testleri için alınan kan örneklerinin plazmaları ayrıldı ve analiz gününe kadar -80 °C'lik derin dondurucu da saklandı. Tiroid fonksiyon testleri, Advia Centaur otoanalizöründe kemilüminesans yöntemi ile çalışıldı.

Histolojik inceleme için sıçanlardan alınan testis dokuları %10'luk formalinde tespit edildi. Rutin doku takip işlemlerinin ardından, dokular parafine gömüldü ve elde edilen parafin bloklardan Leica SM2000R marka mikrotomda 5µm'lik kesitler alındı. Alınan kesitler hematoksilin eozin (H-E) ile boyandı. Her 3 gruptan da rastgele 10 adet 5µm'lik testis dokusu preparatı incelendi. Her grup için ayrı ayrı 100 adet tübül değerlendirilerek ortalama Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru (24) hesaplandı (Tablo 1). Ayrıca, her grup için seminifer tübüller ve interstisyel alana ait hücreler histolojik açı-

Tablo 1 : Johnsen testiküler biyopsi skoru

Skor	Histolojik Bulgular
10	Komplete spermatogenez, çok sayıda spermatozoa, düzgün yükseklikte germinal epitel, normal çaplı tubular lümen
9	Çok sayıda spermatozoa, disorganize germinal epitel, oblitere tubular lümen
8	Tubular kesit başına 5±10'dan daha az spermatozoa
7	Spermatozoa yok, çok sayıda spermatid, spermatosit ve spermatogonia
6	Spermatozoa yok, 5±20 spermatid, çok sayıda spermatosit ve spermatogonia
5	Spermatozoa ve spermatid yok, çok sayıda spermatosit ve spermatogonia
4	Spermatozoa ve spermatid yok, spermatosit 5'den az, fakat çok sayıda spermatogonia
3	Sadece spermatogonia
2	Germinal hücreler yok, sadece Sertoli hücreleri var (Sertoli-cell-only sendromu)
1	Tübüllerde hiç hücre yok

dan değerlendirildi. İnterstisiyel alandaki farklı hücre tiplerinin değerlendirilmesi lokalizasyonlarına göre ve Teerds ve arkadaşlarının tarifine dayandırılarak yapıldı (4).

Bu çalışmada istatistiksel değerlendirmelerde gruplar arası karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel olarak $P < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Tiroid Fonksiyon Testleri

L-Tiroksin ile oluşturulan deneysel hipertiroidi modelinde 10. ve 20. gün tiroid fonksiyon testlerinin sonuçları Tablo 2'de toplu olarak gösterilmiştir.

Tablo 2 : Grup I (Kontrol), Grup II ve III (L-tiroksin) uygulanan sıçanların tiroid fonksiyon testleri

	Grup I	Grup II	Grup III
TSH (mIU/ml)	1.68 ± 0.81	0.012 ± 0.06	0.006 ± 0.004
FT3 (pg/ml)	1.6 ± 0.4	4.5 ± 1.5	4.6 ± 1.2
FT4 (pg/ml)	1.8 ± 1.3	2.5 ± 0.5	3.2 ± 0.32

Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru

Johnsen Testiküler Biyopsi skoru değerlendirmesinde Grup I'in ortalama skoru 9.20 ± 0.75 , Grup II'nin ortalama skoru 7.74 ± 1.52 ve Grup III'ün skoru 8.46 ± 1.19 olarak hesaplandı. Grup II ve Grup III, Grup I ile karşılaştırıldığında skordaki azalış istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.05$). Grup II ve Grup III arasındaki biyopsi skoru farkı da istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.05$).

Işık Mikroskopik Bulgular

Rutin H-E ile boyanan Grup I'e (Kontrol Grubu) ait kesitlerde seminifer tübül sınırlarının düzgün olduğu, seminifer tübüllerde germ hücrelerinin düzenli dizildikleri ve spermatogonyumlardan spermiyumlara kadar spermiyogenezin tüm evrelerindeki germ hücrelerinin varlığı tespit edildi. İnterstisiyel aralıkta mavi-eflatun boyanan sitoplazmaları ile Leydig hücrelerinin, pembe boyanan sitoplazmaları ve daha küçük çekirdekleri ile makrofajların, damar duvarına yaslanan fuziform çekirdekli perisitlerin, peritübüler myoid hücrelerin ve mezenşimal hücrelerin, ve damarların normal histolojik yapılarını korudukları tespit edildi.

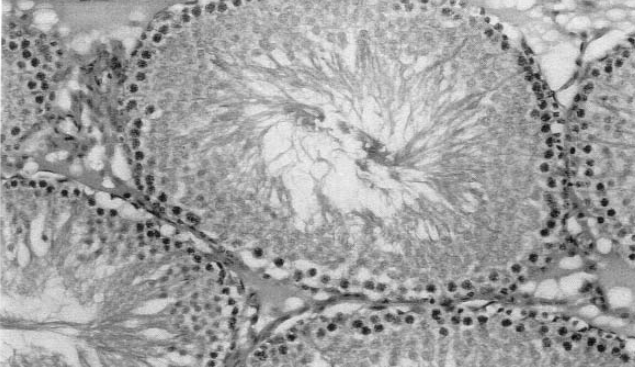
Rutin H-E ile boyanan Grup II'ye ait testis kesitlerinde ise seminifer tübül sınırları düzgün olmasına rağmen germ hücre diziliminin bozulduğu ve seminifer tübüllerde spermiyogenezin duraksadığı görüldü. İnterstisiyel alanda ise Leydig hücrelerin, mezenşimal hücrelerin ve damar endotel hücrelerinin morfolojilerinin normal olduğu gözlemlendi. İnterstisiyel alanda hücrel bir değişiklik saptanmadı.

Grup III'e ait kesitlerde ise seminifer tübül yapılarının Grup II'ye benzediği ancak spermiyogenezin daha fazla seminifer tübülde duraksadığı tespit edildi. Germ hücrelerinin olgunlaşma evrelerindeki duraksama daha belirgin olarak saptandı. İnterstisiyel alanda bulunan hücrelerin histolojik yapılar ise normal görünümde idi.

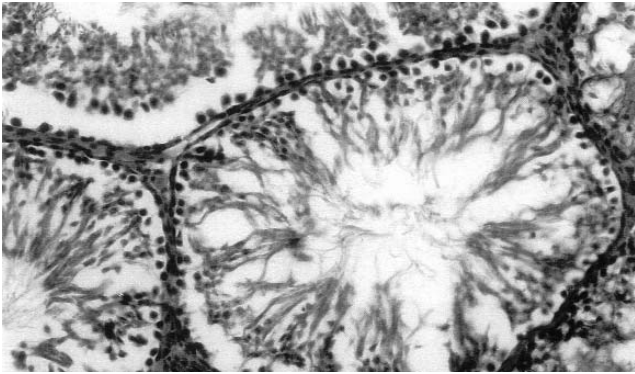
Tartışma

Yapılan çalışmanın sonuçları erişkin dönemde oluşan hipertiroidinin testis dokusunda spermatogenez ve spermiyogenez etkilediğini gösterdi. Germ hücrelerinde ve seminifer tübül yapısındaki değişikliklere rağmen, Leydig hücreleri dahil, interstisiyel alanda bulunan hücrelerin ise tiroid hormon değişiminden histolojik açıdan etkilenmediği saptandı.

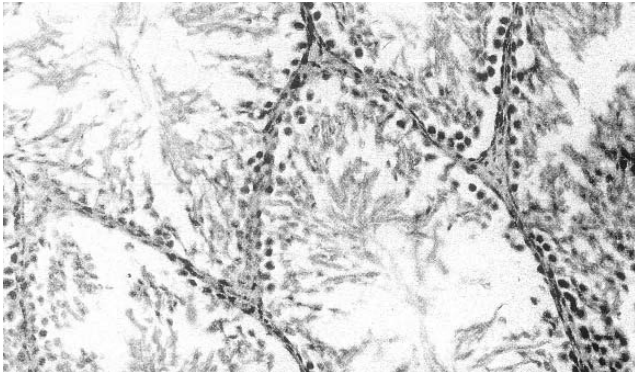
Yapılan bazı çalışmalarda, tiroid hormon reseptörlerinin sadece immatür testislerde mevcut olduğu ve büyük oranda da seminifer tübüllerde sınırlı kaldığı saptanmış ve erişkin sıçanların testis dokusunda ise saptanamamıştır (25,26). Ancak, TR reseptörlerinin sıçan testis interstisiyumunda mezenşimal hücrelerde bulunduğunu gösteren bir çalışmada, erişkin sıçan dokularının çekirdeğinde bulunan T3 reseptörlerinin immunohistokimyasal lokalizasyonu incelenerek, testis dokusunda boyanmanın az olduğu ancak spermatositlerin ve Leydig hücrelerinin çekirdeklerinde ve spermlerin baş kısmında spesifik immun boyanma olduğu gözlemlenmiştir (22). Germ hücrelerinde TR ekspresyonunun bulunması tiroid hormonunun germ hücre yaşamında bir düzenleyici gibi hareket edebileceği fikrini ortaya koymaktadır ve spermatogenezde de



Resim 1. Grup I'e (Kontrol grubu) ait testis dokusu histolojik kesiti. Tübül morfolojisinin ve spermiyogenezin normal olduğu görülmekte. (H-E, X20)



Resim 2. Grup II'ye (10 gün L-Tiroksin uygulanan) ait testis dokusu histolojik kesiti. Spermiyogenezin bozulduğu, germ hücre sayısının azaldığı ancak interstisiyel alan histolojisinin normal olduğu görülmekte. (H-E, X20)



Resim 3. Grup III'e (20 gün L-Tiroksin uygulanan) ait testis dokusu histolojik kesiti. Spermiyogenezin tüm tübüllerde etkilendiği ve duraksadığı gözlenmektedir. (H-E, X20)

muhtemelen rolü olabileceğini öngörmektedir (27).

Germ hücrelerinde TR ekspresyonunun olması ancak erişkin sıçan testisinde spesifik tiroid hormonu bağlayıcı bölgelerin bulunmaması TR pozitif hücrelerin bol miktarda bulunan TR negatif hücrelerce (round ve elonge spermatidler ve Sertoli hücreleri) seyreltilmesine bağlanabilmektedir. TR α 1'in

gelişen ve erişkin testis dokusunda predominant TR izoformu olduğu saptanmıştır (27). İnsan çalışmalarında ise alfa ve beta- izoformlarının dağılımının sıçan testisinden farklı bir yol izlediği ve TR alfanın spermatogoniya çekirdeğinde belirgin ekspres edildiği fakat spermatidlerde beta izoformunun baskın olduğu, matür spermatozoada ise sadece TR betanın bulunduğu saptanmıştır (23). TR'nin çoğalabilen Sertoli hücrelerinin çekirdeklerinde bulunması, Sertoli hücre bölünmesindeki rolü ile uyumlu görülmektedir. Sıçanlarda, deneysel oluşturduğumuz hipertiroidinin sadece seminifer tübüllerde değişiklik oluşturması erişkin dönemde tiroid hormonunun spermiyogenezini etkilediğini göstermektedir. Ancak spermatositlerin çekirdeklerinde reseptörlerin bulunması bozulan spermiyogenezini tek başına açıklayamamaktadır.

Neonatal-prepubertal tiroid hormon seviyelerindeki değişiklikler Sertoli hücrelerinin differansiyasyonunu etkilemektedir. Tiroid hormon seviyesi azaldığında, Sertoli hücre differansiyasyonunun geciktiği, bu hücrelerin mitotik olarak aktif oldukları dönemin uzadığı gösterilmiştir (5,6,7). Bu durumun aksine, tiroid hormon seviyesindeki artışın ise Sertoli hücre differansiyasyonunu uyardığı ve Sertoli hücrelerinin mitotik olarak aktif oldukları dönemin süresini kısalttığı belirlenmiştir (11). Neonatal dönemde (doğumdan 16.güne kadar) yüksek T3 seviyelerinin, sıçan testisinde tübüler lümen oluşumunu daha erken başlattığı (12.günde, normal 16.gün) ve serum inhibin seviyelerini yükselttiği gözlemlendiği için, erişkin testis boyutlarının saptanmasında T3'ün önemli olduğu ve bu durumun T3'ün Sertoli hücreleri üzerindeki direkt etkisi sonucu olabileceği bildirilmiştir (11).

T3'ün prepubertal (8 günlük) ve midpubertal (28 günlük) Sertoli hücre kültürlerine eklenmesi sonucunda erken dönemde Sertoli hücre proliferasyonunu ve differansiyasyonunu -fonksiyonel maturasyonunu- etkilediği ancak midpubertal dönemde etkisinin olmadığı dolayısıyla T3'ün Sertoli

hücreleri üzerindeki etkisinin yaşla bağımlı olduğu saptanmıştır (14). Fetus ve yenidoğan sıçanlarda Sertoli hücrelerinde TR'nin fazla eksprese olduğu ancak postpartum 20. güne doğru azaldığı da tespit edilmiştir (27).

Erken dönemde uygulanan tiroid hormon tedavisinin ise testis boyutunu ve germ hücre sayısını arttırdığı ve bu artışın prepubertal dönemde T3 tedavisinin Sertoli hücreleri üzerine doğrudan hormonal etkisine bağlı olduğu tespit edilmiştir (26). Neonatal ve prepubertal dönemde yapılan çalışmaların aksine, çalışmamızda erişkin dönemde artan tiroid hormon seviyesinin spermiyogenezi olumsuz yönde etkilediğini saptadık.

Neonatal hipotiroidinin testiste interstisiyel hücreler üzerine etkisini araştıran çalışmaların sonucunda, Leydig hücre proliferasyonunun arttığı ve bu artışın hipotiroidinin bu hücreler üzerinde direkt etkisi olabileceği gibi Sertoli hücresi kaynaklı faktörler aracılığı ile dolaylı olarak da uyarılabileceği ya da her iki mekanizmanın ortak etkisi olduğu fikri öne sürülmüştür (4,28). Postnatal dönemde, prepubertal sıçan testisinde mezenşimal hücrelerin Leydig hücrelerine differansiasyonunda tiroid hormonunun gerekliliği ve düzenleyici rolü gösterilmiştir (29). Tiroid hormonu fetal tip Leydig hücresi atrofisini uyarıp mezenşimal hücrelerin erişkin tip Leydig hücrelere differansiasyonunu uyarmaktadır. Sıçanlarda erişkin tip Leydig hücresinin postnatal 10. günde mezenşimal öncü hücrelerden gelişmeye başlayıp, 21. günde belirgin bir artışın ardından ve 30. günde maksimuma ulaştığı belirlenmiştir (4,25,26). Testosteron üreten fetal Leydig hücrelerinin aksine erişkin tip Leydig hücreleri 5α -redükte steroidler, dihidrotestosteron ve 3α -androstenediol üretirler. Bu durum, T3 ile tedavi edilen hayvanlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında azalmış plazma testosteron seviyelerini açıklamaktadır. Bununla birlikte, T3 seviyelerindeki artış fetal/erişkin tip Leydig hücrelerinde steroid sentezini inhibe ettikleri bilinen büyüme faktörlerinin

lokal üretimini arttırmaktadır (4). Çalışmamızda Leydig hücre morfolojisinde değişiklik olmamasına rağmen spermiyogenez de saptanan duraksamanın lokal inhibe edici faktörlere bağlı olduğu düşünüldü. Bu nedenle, interstisiyel alanda bulunan hücrelerin fonksiyonlarındaki değişimin araştırılması için ayrı bir çalışma gerekmektedir. Ayrıca, Leydig hücrelerinin TSH reseptörü içermedikleri saptanmıştır (4). Bu nedenle, bu hücrelerin TSH değişimlerinden etkilenmeyecekleri düşünülerek çalışmamızda değişen TSH seviyelerindeki değişiklikler tartışılmamıştır. Erişkin dönemde oluşturduğumuz hipertiroidi tablosunun sonucunda spermatogenezin bozulması ve germ hücre sayısındaki azalma T3'ün germ hücreleri üzerine direkt etkisi veya Leydig hücrelerinde steroid sentezini inhibe eden lokal inhibe edici faktörlerin artışına bağlı görünmektedir, çünkü bu evrede Sertoli hücrelerinde TR ekspresyonu azalmaktadır.

Klinik çalışmalarda, tirotoksikozda hipotalamus-hipofiz-testis aksı incelemeleri sonucunda hipertirodili hastalarda kısmi Leydig hücre yetmezliği, spermatogenezde bozulma ve E2 'nin feedback etkisinde eksiklik belirlenmesine rağmen testis hacmi tüm hastalarda normal saptanmıştır (30). Graves hastası erkeklerde yapılan çalışmaların sonucuna göre ise hipertiroidi normal serum serbest testosteron konsantrasyonu, hCG uyarımına azalmış testosteron cevabı ve LH'nin GnRH'ya artmış cevabı ile ortaya çıkmaktadır ve tiroid hormonunun önemli çift pituiter-gonadal etkisi mevcuttur (31).

Sonuç olarak, yaptığımız çalışmanın bulguları ışığında deneysel olarak oluşturulan hipertiroidinin etkisiyle erişkin sıçan testis dokusunda spermatogenezin ve spermiyogenezin duraksadığı saptandı. Özellikle germ hücrelerinin sayısındaki azalışın, tiroid hormonunun doğrudan bu hücreler üzerine etkisi olabileceği gibi erişkin tip Leydig hücre fonksiyonundaki inhibisyonun da etkisi olabileceği kanaatine varıldı.

Kaynaklar

1-Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical Physiology. 9th

- ed., Pennsylvania: W.B.Saunders Company, 1996: 945-955.
- 2- Greep RO, Fevold HL, Hisaw FL. Effect of two hypophyseal gonadotropic hormones on the reproductive system of the male rat. *Anat Rec* 1936; 65: 261-271.
 - 3- Christensen AK. Leydig cells. In: *Handbook of Physiology*. Vol. 5. Washington, DC: American Physiological Society; 1975: 57-94.
 - 4- Teerds KJ, De Rooij DG, De Jong FH, Van Haaster LH. Development of the adult-type Leydig cell population in the rat is affected by neonatal thyroid hormone levels. *Biol Reprod* 1998; 59: 344-350.
 - 5- Cooke PS, Meisami E. Early hypothyroidism in rats causes increased adult testis and reproductive organ size but does not change testosterone levels. *Endocrinology* 1991; 129: 237-243.
 - 6- Cooke PS, Hess RA, Porcelli J, Meisami E. Increased sperm production in adult rats after transient neonatal hypothyroidism. *Endocrinology* 1991; 129: 244-248.
 - 7- Cooke PS, Kirby JD, Porcelli J. Increased testis growth and sperm production in adult rats following transient neonatal goitrogen treatment: optimization of the propylthiouracil dose and effects of methimazole. *J Reprod Fertil* 1993; 97: 493-499.
 - 8- Hess RA, Cooke PS, Bunick D, Kirby JB. Adult testicular enlargement induced by neonatal hypothyroidism is accompanied by increased Sertoli and germ cell numbers. *Endocrinology* 1993; 132: 2607-2613.
 - 9- Simorangkir DR, De Krester DM, Wreford NG. Increased numbers of Sertoli and germ cells in adult rat testis induced by synergistic action of transient neonatal hypothyroidism and neonatal hemicastration. *J Reprod Fertil* 1995; 104: 207-213.
 - 10- Van Haaster LH, De Jong FH, Docter R, De Rooij DG. The effect of hypothyroidism on Sertoli cell proliferation and differentiation and hormone levels during testicular development in the rat. *Endocrinology* 1992; 131: 1574-1576.
 - 11- Van Haaster LH, De Jong FH, Docter R, De Rooij DG. High neonatal triiodothyronine levels reduce the period of Sertoli cell proliferation in the rat testis, and increase serum inhibin levels. *Endocrinology* 1993; 133: 755-760.
 - 12- Francavilla S, Cordeshi G, Properzi G, Di Cicco L, Jannini EA, Palmero S, Fugassa E, Loras B, D'Armiento M. Effect of thyroid hormone on the pre- and postnatal development of the rat testis. *J Endocrinol* 1991; 129: 35-42.
 - 13- Cooke PS, Zhao YD, Bunick D. Triiodothyronine inhibits proliferation and stimulates differentiation of cultured neonatal Sertoli cells: possible mechanism for increased adult testis weight and sperm production induced by neonatal goitrogen treatment. *Biol Reprod* 1994; 51: 1000-1005.
 - 14- Palmero S, Prati M, Bolla F, Fugassa E. Tri-iodothyronine directly affects rat Sertoli cell proliferation and differentiation. *J Endocrinol* 1995; 145: 355-362.
 - 15- Orth J, Gunsalus G, Lamperti A. Evidence from Sertoli cell depleted rats indicates that spermatid number in adults depends on number of Sertoli cells produced during perinatal development. *Endocrinology* 1988; 122: 787-794.
 - 16- Berndtson W, Thompson T. Changing relationships between testis size and spermatogenesis in Sprague-Dawley rats. *J Androl* 1990; 11: 429-435.
 - 17- Simorangkir D, Wreford N, De Krester D. Impaired germ cell development in testes of immature rats with neonatal hypothyroidism. *J Androl* 1997; 18: 186-193.
 - 18- Palmero S, Maggiani S, Fugassa E. Nuclear triiodothyronine receptors in rat Sertoli cells. *Mol Cell Endocrinol* 1988; 58: 253-256.
 - 19- Palmero S, Benahmed M, Morera AM, Trucchi P, Fugassa E. Identification of nuclear tri-iodothyronine receptors in Sertoli cells from immature piglet testis. *J Mol Endocrinol* 1992; 9: 55-59.
 - 20- Barker S, Klitgaard H. Metabolism of tissues excised from thyroxine injected rats. *Am J Physiol* 1952; 170: 81-86.
 - 21- Oppenheimer J, Schwartz H, Surks M. Tissue differences in the concentration of triiodothyronine nuclear binding sites in the rat: liver, kidney, pituitary, heart, brain, spleen and testis. *Endocrinology* 1974; 95: 897-903.
 - 22- Tagami T, Nakamura H, Sasaki S, Mori T, Yoshioka H, Yoshida H, Imura H. Immunohistochemical localization of nuclear 3,5,3'-triiodothyronine receptor proteins in rat tissues studied with antiserum against C-ERB A/T3 receptor. *Endocrinology* 1990; 127: 1727-1734.
 - 23- Falcone M, Miyamoto T, Fierro-Renoy F, Macchia E, De Groot L. Antipeptide polyclonal antibodies specifically recognize each human thyroid hormone receptor isoform. *Endocrinology* 1992; 131: 2419-2429.
 - 24- Johnsen SG. Testicular biopsy score count- a method for registration of spermatogenesis in human normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* 1970; 1: 2-25.
 - 25- Jannini EA, Olivieri M, Francavilla S, Gulino A, Ziparo E, D'Armiento M. Ontogenesis of the nuclear 3,5,3'-triiodothyronine receptor in the rat testis. *Endocrinology* 1990; 126:2521-2526.
 - 26- Jannini EA, Dolci S, Ulisse S, Nikodem VM. Developmental regulation of the thyroid hormone receptor ?I mRNA expression in the rat testis. *Mol Endocrinol* 1994; 8:89-96.
 - 27- Buzzard JJ, Morrison JR, O'Bryan MK, Song Q, Wreford NG. Developmental expression of thyroid hormone receptors in the rat testis. *Biol Reprod* 2000; 62: 664-669.
 - 28- Hardy MP, Sharma RS, Arambepola NK, Sottas CM, Russell LD, Bunick D, Hess RA, Cooke PS. Increased proliferation of Leydig cells induced by neonatal hypothyroidism in the rat. *J Androl* 1996; 17: 231-238.
 - 29- Ariyaratne HBS, Mendis-Handagama SMLC, Mason JJ. Effects of tri-iodothyronine on testicular interstitial cells and androgen secretory capacity of the prepubertal rat. *Biol Reprod* 2000; 63: 493-502.
 - 30- Kidd GS, Glass AR, Vigersky RA. The hypothalamic-pituitary-testicular axis in thyrotoxicosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1979; 48: 798-802.
 - 31- Velazquez EM, Bellabarba Arata G. Effects of thyroid status on pituitary gonadotropin and testicular reserve in men. *Arch Androl* 1997; 38: 85-92.