بررسی اثر استرس حاد شناکردن بر میزان پروژسترون، تستوسترون، Na^+ و K^+ سرمی در موش صحرایی نرو ماده

دکتر مهناز طاهریانفرد[1]* دکتر علیرضا علیزاده[1]

دریافت مقاله: ۳۰ آذر ماه ۱۳۸۲
پذیرش نهایی: ۲۱ دی ماه ۱۳۸۲

هدف: مقایسه پاسخ پروژسترون و تستوسترون سرمی به استرس حاد شنا کردن در دو موجود نر و ماده.

طرح: اثر استرس حاد شناکردن (به مدت ۱۰دقیقه در دمای۲۵ درجه سانتیگراد) بر تستوسترون، پروژسترون، Na^+ و K^+ سرمی.

حیوانات: ده موش صحرایی ماده و ده موش صحرایی نر در شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی.

روش: آزمایشات در دو مرحله انجام شد. مرحله اول در شرایط بدون استرس در ساعت ۸ صبح خونگیری انجام شد، در مرحله دوم ساعت ۷:۵۰ به حیوانات استرس وارد شده و در ساعت ۸ صبح نیز خونگیری انجام شد. در حیوانات ماده آزمایشات در شروع فاز پرواستروس انجام گرفت. تستوسترون و پروژسترون به روش RIA اندازه‌گیری شد. Na^+ و K^+ به روش Flame photometer آنالیز گردید.

تجزیه‌وتحلیل آماری: داده‌ها به روش "t" Student بررسی آماری شدند و سطح معنی‌داری ($P<0/05$) در نظر گرفته‌شد.

نتایج: در موشهای صحرایی نر تستوسترون و پروژسترون سرمی به طور معنی‌داری ($P<0/05$) افزایش یافت، اما Na^+ و K^+ سرمی تغییر معنی‌داری ($P<0/05$) نداشت. در موشهای صحرایی ماده تستوسترون سرمی به طور معنی‌داری ($P<0/05$) کاهش داشت. پروژسترون، Na^+ و K^+ سرمی تغییر معنی‌داری ($P>0/05$) را نشان نداد.

نتیجه‌گیری: نتایج، وجود اختلاف جنسی در هورمونهای پروژسترون و تستوسترون سرمی را در مقابل استرس حاد شنا نشان داد. این اختلافات ارتباطی با غلظت سرمی Na^+ و K^+ نداشت. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۱۳۸۳)، دوره ۵۹، شماره ۴، ۳۶۸-۳۶۵.

واژه‌های کلیدی: استرس، پروژسترون، تستوسترون، اختلاف جنسی، موش صحرایی.

Effect of acute swimming stress on progesterone, testosterone, Na^+ and K^+ in male and female rats

Taherianfard, M.,[1] Alizadeh, A.[1]

[1]Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shira, Shira-Iran.

Objective: Comparison of serum progesterone and testosterone to acute swim stress.

Design:This study examined the effect of acute swimming stress (for 10 min at 25C) on serum testosterone, progesterone, Na^+ and K^+ in male and female rats.

Animals: Ten male and female rats were kept in 12:12 dark: light.

Procedure: Experiments were carried out in 2 phases. First in the absent of stress blood samples were collected at 8 a.m. Second, after acute swim stress at 7:50 a.m., blood samples were taken at 8a.m. In female rats experiments were also carried out in the beginning of proestrous phase. Testosterone and progesterone were assayed by RIA method. Plasma Na^+ and K^+ were analyzed by Flame photometer.

Staistical analysis: Data were analyzed by Student T Test. The level of significance was considered to be $P<0.05$.

Results: Serum testosterone and progesterone were significantly ($P<0.05$) increased in male rats, but serum Na^+ and K^+ had no significant ($P>0.05$) difference. In female rats, however serum testosterone was significantly ($P<0.05$) decreased, but serum progesterone, Na^+ and K^+ showed no significant ($P>0.05$) differences.

Discussion: These results showed the existence of significant sex differences in response to acute swimming stress. Which most probably the differences in the serum concentration of Na^+ and K^+. ***J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 59, 4: 365-368, 2004.***

Key words: Stress, Sex steroids, Sex differences, Rat.

Corresponding author's email:taherian@shirazu.ac.ir

استرس ناتوانی موجود زنده در تطبیق خود با محیط اطراف است. یک موجود همواره در برابر تغییراتی در محیط قرار می‌گیرد که جهت سازگاری با این تغییرات نیاز به گذشت زمان دارد و این تغییرات باعث بروز نارساییهایی در وضعیت موجود زنده می‌گردد. مهمترین جایگاه اثر استرس غده فوق کلیوی است که باعث سازش موجود زنده با استرس می‌گردد (۵). استرس فعالیت ترشحی در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز غده فوق کلیوی را تحریک می‌کند و باعث افزایش ترشح هورمونهای استروئیدی فوق کلیوی می‌گردد. شواهد حاکی از آن است که سلولهای غده فوق کلیوی حاوی گیرنده محیطی بنزودیازپین هستند که این گیرنده خود نوعی کانال کلسترول است و باعث ورود کلسترول به این سلولها و افزایش ترشح هورمونهای استروئیدی می‌گردد (۱۳). ثابت شده که این گیرنده‌ها در ارتباط با پاسخ غده فوق کلیوی به استرس و اتصال استروئیدها با این گیرنده‌ها در پاسخ به استرس اهمیت دارد (۱۱). در استرس حاد شنا، واسطه‌های شیمیایی در مغز آزاد می شوند که یکی از آنها گاماامینوبوتیریک اسید (GABA) است. پس از استرس حاد شنا غلظت استروئیدهای عصبی که با گیرنده گابا باند می‌شوند، افزایش می‌یابد (۱۲،۱۴). گزارشات دال بر آن است که پاسخ‌دهی گیرنده گابا در ضمن استرس حاد شنا در موجود نر و ماده به طور معنی‌داری متفاوت است (۱). از طرفی ترشح استروئیدهای جنسی در ارتباط با غلظت کاتیون های پلاسمایی است، به طوری که کمبود پتاسیم باعث کاهش ترشح تستوسترون می‌شود (۱۵). لذا هدف این تحقیق پاسخ‌دهی به دو سؤال است: اولاً آیا

۱) بخش فیزیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.
*) نویسنده مسؤول taherian@shirazu.ac.ir

تغییر در هورمون‌های جنسی تستوسترون و پروژسترون سرمی در پاسخ به استرس حاد شنا در دو جنس نر و ماده متفاوت است؟ ثانیاً آیا این تغییر در ارتباط با تغییر در کاتیون‌های سدیم و پتاسیم سرمی است؟ بنابراین در این مطالعه قبل و بعد از استرس حاد شنا در موجود نر و ماده تغییرات سرمی هورمون‌های تستوسترون و پروژسترون و کاتیون‌های سدیم و پتاسیم اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است که مطالعات در موش ماده در فاز پرواستروس انجام گردید.

روش کار

در این تحقیق از ده موش صحرایی نر و ده موش صحرایی ماده با وزن متوسط ۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۲-۲۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. آب و غذا آزادانه در اختیار حیوانات بود. جهت تعیین سیکل استروس در موشهای ماده از تست واژنی استفاده شد. با توجه به نوع سلولهای مشاهده شده در واژن (۹) مراحل مختلف سیکل استروس تعیین گردید. آزمایشات در دو مرحله انجام گرفت: ۱- مرحله کنترل، که در حیوانات نر و ماده در شرایط بدون استرس در ساعت ۸ صبح خونگیری از طریق دم انجام گرفت. در حیوانات ماده خونگیری در فاز پرواستروس انجام شد. ۲- مرحله آزمایش، در این مرحله جهت القاء استرس ساعت ۵۰ :۷ صبح به مدت ۱۰ دقیقه حیوانات در آب با درجه حرارت ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. بلافاصله بعد از استرس در ساعت ۸ صبح از حیوانات خونگیری به عمل آمد. در ضمن در حیوانات ماده دو مرحله آزمایش در فاز پرواسترس سیکل جنسی انجام شد. جهت اندازه‌گیری تستوسترون و پروژسترون سرمی از روش RIA و جهت اندازه‌گیری کاتیون‌های سدیم و پتاسیم سرمی از روش Flame photometer استفاده شد. داده‌ها توسط Student t-test مورد بررسی قرار گرفته‌شد و سطح معنی‌داری ($P<0/05$) در نظر گرفته و داده‌ها بصورت میانگین خطای معیار گزارش شد.

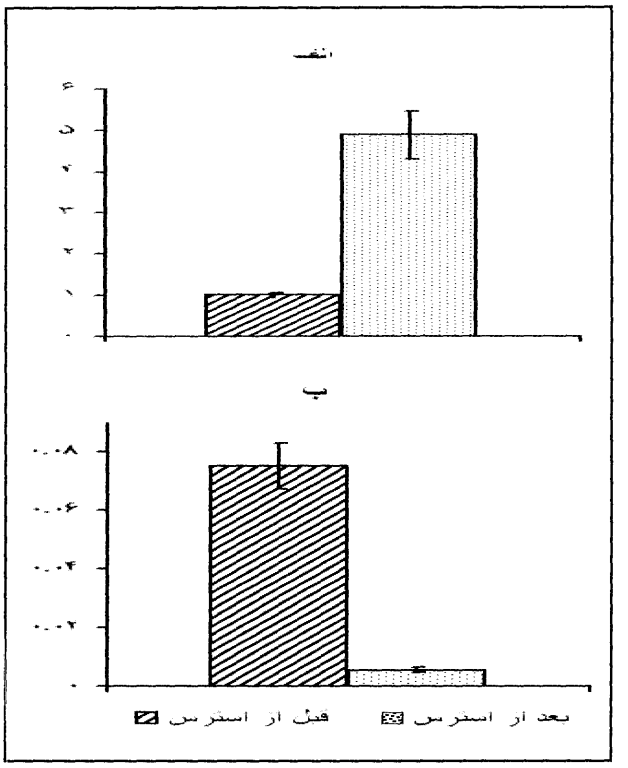
نتایج

اثر استرس بر غلظت سرمی تستوسترون و پروژسترون: پس از استرس حاد شنا کردن مقدار تستوسترون سرمی در موش صحرایی نر در مقایسه با شرایط بدون استرس به میزان معنی‌داری ($P<0/05$) افزایش یافت، در حالیکه میزان این هورمون در مقایسه با شرایط بدون استرس در موش صحرایی ماده پس از استرس حاد شنا کردن به صورت معنی‌داری ($P<0/05$) کاهش یافت (نمودار ۱). در اثر استرس حاد شنا کردن غلظت پروژسترون سرمی در موش صحرایی نر در مقایسه با شرایط بدون استرس به طور معنی‌داری ($P<0/05$) افزایش یافت، در حالیکه مقدار پروژسترون سرمی در موش صحرایی ماده پس از استرس حاد شنا کردن در مقایسه با شرایط بدون استرس تغییر معنی‌داری ($P<0/05$) نکرد (نمودار ۲).

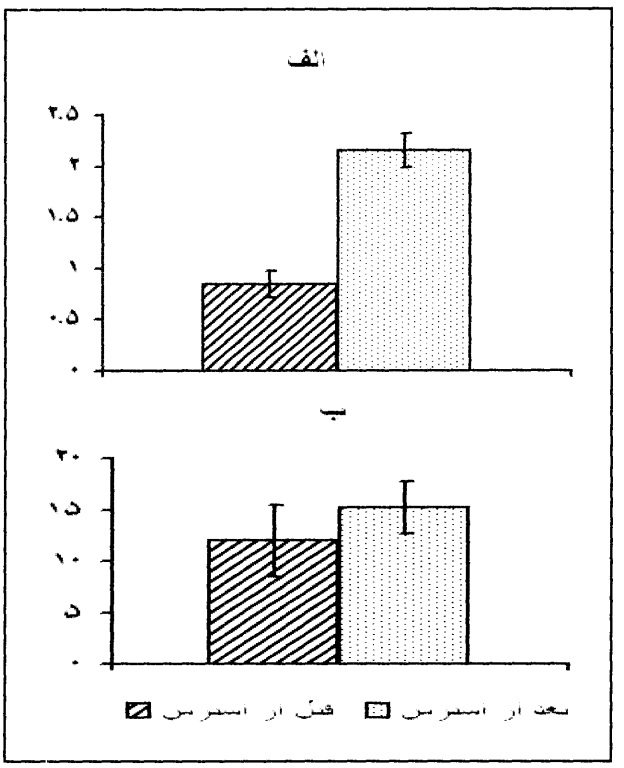
اثر استرس بر غلظت سرمی Na^+ و K^+ سرمی: غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم سرمی پس از استرس حاد شنا کردن در موش صحرایی نر در مقایسه با شرایط بدون استرس کاهش داشت، اما این کاهش معنی‌دار ($P<0/05$) نبود (نمودار ۳). همچنین غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم سرمی پس از استرس حاد شنا کردن در موش صحرایی ماده نیز در مقایسه با شرایط بدون استرس کاهش داشت، که این کاهش مشابه موش صحرایی نر معنی‌دار ($P<0/05$) نبود (نمودار ۳).

بحث و نتیجه گیری

در پاسخ به استرس سیستمهای مختلفی وارد عمل می شوند. بخش مدولا و قشری غده فوق کلیوی مهمترین جایگاه هماهنگی جهت سازش با استرس هستند. همچنین استرس توسط بخش وسیعی از مغز از قشر مغز تا ساقه مغز دریافت می‌شود. مهمترین استرس‌ها، نرون های آزاد کننده هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین و هورمون ضد ادراری و نرونهای آدرنرژیک در هیپوتالاموس را همزمان فعال می‌کنند. آزادسازی هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین و هورمون ضد ادراری باعث افزایش کورتیزول می‌شود و فعالیت نرون های آدرنرژیک باعث آزاد سازی کاتکل‌آمین‌ها می‌شود (۳). سطح بالای کورتیزل بدنبال استرس مسؤول کاهش گیرنده‌های اپیوئید و گابا در هیپوکامپ می‌باشد (۱۰). کاهش فعالیت دو سیستم اپیوئید و گابا در ضمن استرس باعث افزایش فعالیت محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - ادرنال می‌شود (۱۰). گابا همچنین دارای اثرات مهاری بر نرونهای آزاد کننده گونادوتروپین است و بنابراین استرس باعث افزایش غلظت استروئیدهای سرمی در دو موجود نر و ماده می‌گردد؛ به این ترتیب پس از استرس غلظت استروئیدهای سرمی با منشأ غده آدرنال و غدد جنسی افزایش می‌یابد. نتایج تحقیق حاضر در موجود نر در همین راستا بود، به این ترتیب که تستوسترون و پروژسترون سرمی پس از استرس حاد شنا کردن افزایش یافت. در این تحقیق در موجود ماده مقدار تستوسترون سرمی پس از استرس در فاز پرواستروس کاهش یافت. Akini و Johnston در سال ۱۹۹۱گزارش کردند که استرس حاد شنا باعث افزایش جایگاههای اتصالی گابا در مغز جلویی موش صحرایی ماده می‌شود که این پاسخ متفاوت از موش صحرایی نر است (۱). از طرفی Givalois و همکاران در سال ۱۹۹۹گزارش کردند که در مغز موش صحرایی ماده‌ای بنام Diazepam-Binding-Inhibitor (DBI) وجود دارد که این ماده تمایل زیادی برای اتصال با جایگاه اتصالی دیازپام بر گیرنده گابا دارد. ترشح این ماده در پاسخ به استرس افزایش می‌یابد، و با اتصال با گیرنده گابا باعث مهار ترشح هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین و نهایتاً باعث کاهش ترشح هورمون های بخش قشری فوق کلیه می‌شود (۸). با توجه به موارد ذکر شده به نظر می‌رسد که در تحقیق حاضر در موش صحرایی ماده بدلیل افزایش جایگاه اتصالی گابا ماده DBI آزاد شده در پاسخ به استرس منجر به کاهش هورمون آزاد کننده کورتیکوتروپین و نهایتاً باعث کاهش تستوسترون سرمی شده‌است. در موش صحرایی ماده نیز غلظت پروژسترون سرمی در فاز پرواستروس پس از استرس شنا تغییر معنی‌داری

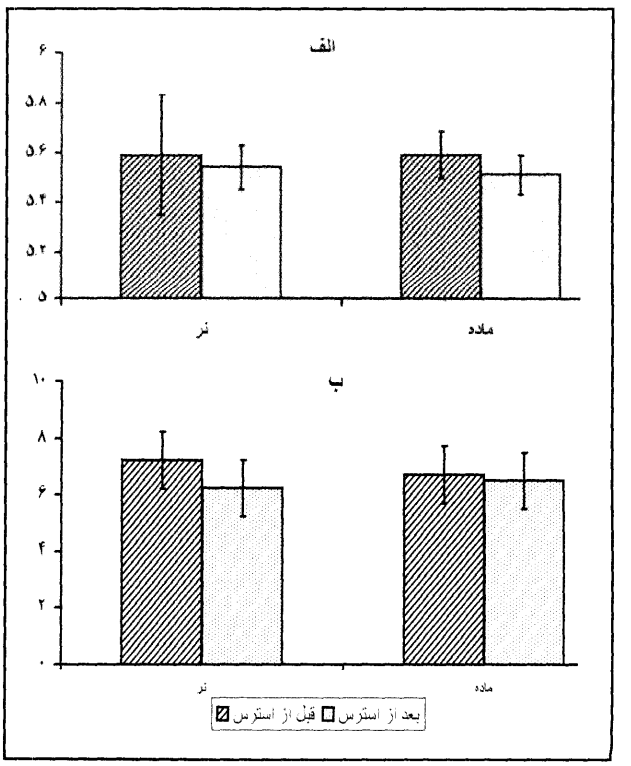


نمودار ۱- اثر استرس حاد شنا کردن بر تستوسترون (نانوگرم در میلی لیتر) سرمی الف) موش صحرایی نر ب) موش صحرایی ماده.
*) سطح معنی‌داری بعد از استرس نسبت به قبل از استرس (P<۰/۰۵).



نمودار ۲- اثر استرس حاد شنا کردن بر پروژسترون (نانوگرم در میلی لیتر) سرمی: الف) موش صحرایی نر ب) موش صحرایی ماده.
*) سطح معنی‌داری بعد از استرس نسبت به قبل از استرس (P<۰/۰۵).

را نشان نداد. Cardenas در سال ۱۹۹۲گزارش کرد که استرس حاد شنا در آب سرد در فاز پرواستروس و استروس تغییری در پروژسترون سرمی ایجاد نکرد (۴). همچنین Erskine و Kornberg در سال ۱۹۹۲ گزارش کردند که استرس حاد محدود کردن تأثیری بر غلظت پروژسترون سرمی در فاز پرواستروس و استروس ندارد، بنابراین استرس حاد احتمالاً وابسته به تغییر در غلظت پروژسترون سرم در موش صحرایی ماده نیست (۷). با توجه به این که کمبود پتاسیم سرمی بر تخمدان اثر می کند و باعث کاهش تولید پروژسترون سرمی می‌شود. همچنین کمبود پتاسیم باعث کاهش غلظت تستوسترون سرمی در موش نر می‌شود (۱۵)، در این تحقیق غلظت یون های پتاسیم و سدیم سرمی پس از استرس مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاکی از آن بود که تغییر معنی‌داری در غلظت یون های پتاسیم و سدیم سرمی ایجاد نمی‌گردد. در مجموع نتایج این تحقیق حاکی از آن است که: اولاً، استرس در دو موجود نر و ماده اثرات متفاوتی در غلظت هورمون های استروئیدی سرمی ایجاد می‌کند که این تغییرات وابسته به جنس در غلظت هورمون ها می تواند در ارتباط با تغییرات وابسته به جنس واسطه‌های شیمیایی مغزی نظیر گابا، دوپامین و سروتونین باشد (۲،۶) .ثانیاً: تغییرات ایجاد شده در غلظت استروئیدهای سرمی ارتباطی با غلظت یونهای پتاسیم و سدیم سرمی ندارد.



نمودار۳- اثر استرس حاد شنا کردن بر: الف) یون سدیم (میلی مول در لیتر) سرمی ب) یون پتاسیم (میلی مول در لیتر) سرمی.

References

1. Akini, M.K. and Johnston, G.A. (1993): Sex differences in acute swim stress- induced changes in the binding of MK-801 to the NMDA subclass of glutamate receptors in mouse forebrain. J. Neurochem. 61: 2290-3.
2. Benguira, S. and Hontela, A. (2000): ACTH- and cAMP-stimulated cortisol secretion in inter renal tissue of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) exposed in vitro to o, p'-DDD, p, p'-DDT or p, p'-DDD. Env. Toxicol. Chem. 19: 842-847.
3. Berkley, K.J. (1997): Sex differences in pain. Behavioral and brain Sci. 20: 371-80.
4. Cardenas, H. (1992): Effects of stress upon plasma estradiol and progesterone levels and the rate of oviductal embryo transport in the rat. Biol. Res. 25: 15-20.
5. Dobson, H. and Smith, R.F. (2000): What is stress, and how does it affect reproduction? Animal reproduction Sci. 60: 743-52.
6. Doge, K. (1993): Sex differences of rat brain monoamine metabolism under restraint stress. Nippon Hoigaku Zasshi 47: 46-55.
7. Erskine, M.S. and Kornberg, E. (1992): Stress and ACTH increase circulating concentrations of 3alpha-androstandiol in female rats. Life Sci. 51: 2065-71.
8. Givalois, A., Li, S. and Pelletier, G. (1999): Circulating steroids involvement in ODN-induced POMC mRNA expression. J. Endocrin. 161: 307316.
9. Hafez, E.S.E. (1970): Rat and mice, in reproduction and breeding techniques for laboratory animals, Raven, New York. PP: 299-315.
10. Hayashi, A., Nagaoka, M., Yamada, K., Ichitani, Y., Miake, Y. and Okado, N. (1998): Maternal stress induces synaptic loss and developmental disabilities of offspring. International J. Developmental Neurosci. 16: 209-216.
11. Howard, J.L. (1988): Stress and disease in cattle. Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract. 4: 441-578.
12. Miller, L.G., Greenblatt, D.J., Barnhill J.G., Thompson, M.L. and Shaderh, R.I. (1988): Modulation of benzodiazepine receptor binding in mouse brain by adrenalectomy and steroid replacement. Brain Res. 446: 314-20.
13. Papadopoulos, V. (1997): Peripheral benzodiazepine receptor in cholesterol transport and steroidogenesis. Steroids 62: 8-21.
14. Purdy, R.H., Morrow, A.L., Moore, P.H. and paul, S.M. (1991): Stress induced elevations of gamma aminobutyric acid type A receptor active steroids in the rat brain. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 88: 4553-7.
15. Tejada, F., Cremades, A., Aviles, M., Castells, M. and Penafile, R. (1998): Hypokalemia alters sex hormone and gonadotropin levels: Evidence that FSH may be required for luteinization. Am. J. Physiol. 275: E1037-E1045.