



بررسی تأثیر فرمون‌های جنسی فرار رات ماده بر روی سطح پلاسمائی هورمون تستوسترون در دوران کودکی،

بلوغ و پیری رات نر نژاد ویستار

حیدر آقابابا^{۱*}، اعظم لطافت^۲

چکیده

به $3/58 \text{ ng/ml}$ افزایش یافت. در رات بالغ نر ۸۵ روزه که در کنار ماده قرار نگرفته بود (گروه کنترل) میزان سطح پلاسمائی تستوسترون $7/67 \text{ ng/ml}$ تخمین زده شد، در حالی که در گروه های تجربی ۹۰ روزه این میزان به $8/23 \text{ ng/ml}$ و در رات ۹۵ روزه به $9/18 \text{ ng/ml}$ و در رات ۱۰۰ روزه به $10/49 \text{ ng/ml}$

رسید. اختلاف سطح هورمونی نسبت به گروه کنترل در $p < 0.05$ معنی دار به دست آمد. در دوره پیری میزان سطح پلاسمائی هورمون تستوسترون کاهش پیدا کرد ولی باز در مقایسه رات نر ۱۵۰ روزه ($7/77 \text{ ng/ml}$) که در کنار رات ماده بالغ قرار نداشت (گروه کنترل) با گروههای تجربی ۱۵۰ روزه ($8/83 \text{ ng/ml}$) و ۱۶۰ روزه ($9/16 \text{ ng/ml}$) افزایش معنی داری را نشان داد. این یافته ها نشان می دهد که فرمون های جنسی رات ماده بر روی سطح پلاسمائی فرمون تستوسترون در سنین کودکی، بلوغ و پیری تأثیر فزاینده دارد.

کلید واژگان: فرمون‌های جنسی، تستوسترون، موش رات،

کودکی، بلوغ، پیری

مقدمه

واژه فرمون از دو کلمه لاتین Pher به معنای حامل بودن و Hormone به معنای تحریک کننده گرفته شده است در حقیقت نقش فرمون مشابه نقش هورمون ها است با این

فرمون ها مواد شیمیایی ترشح شده از جانوران می باشند که برای منظم ساختن جمعیت های حیوانی و تعامل های اجتماعی آنان در بین حیوانات هم نوع عمل می کند. فرمون های جنسی در پستانداران رفتارهای متنوعی از جمله رفتارهای تهاجمی در جنس نر، تسریع بلوغ، رفتارهای معاشقه‌ای، جفت یابی و والدینی در هر دو جنس و اختتام دوره بارداری در جنس ماده را باعث می گردد. در این تحقیق برای بررسی تأثیر فرمون‌های رات ماده بر روی میزان هورمون تستوسترون رات نر در سنین کودکی، بلوغ و پیری، به کمک قفس مخصوصی که برای در اختیار گذاشتن فرمون های جنسی رات ماده بر روی جنس نر طراحی شده بود، استفاده گردید. سپس از رات های نر خونگیری به عمل آمده میزان پلاسمائی هورمون تستوسترون به روش تست هورمونی ELIZA اندازه گیری گردید. در رات نر ۵۰ روزه کودک که در کنار ماده قرار نگرفته بود (گروه کنترل)، میانگین سطح پلاسمائی هورمون تستوسترون $2/83 \text{ ng/ml}$ بود که این میزان در گروه تجربی ۵۵ روزه به $2/95 \text{ ng/ml}$ رسید و در گروه تجربی ۶۰ روزه به $3/03 \text{ ng/ml}$ و در گروه ۶۵ روزه

*۱-گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، ارسنجان،

ایران aqababa@iaua.ac.ir

۲- گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران



پرولاکتین می‌شود (۳). دسته‌ای از فرمون‌ها بنام فرمون‌های پراکنشی (Dispersive Pheromone) که موجب پراکنش افراد یک گونه و در نتیجه افزایش فضا برای زیست و در نتیجه کاهش رقابت بین افراد یک جمعیت می‌گردد تأثیر قابل توجهی بر روی رفتارهای اجتماعی رات‌های کودک و نابالغ دارد. همچنین فرمون‌های تجمعی (Associative Pheromone) که موجب تجمع افراد یک گونه در محل منبع فرمون می‌گردند قادرند رات‌های نابالغ را تحت تأثیر قرار دهند (۵). فرمون‌های جنسی بعد از بلوغ در فرایند فیزیولوژیکی مداخله می‌کنند. مثلاً ملخ‌ها پس از آخرین پوست اندازی از نظر جنسی نابالغ باقی می‌مانند. در صورتی که ملخ‌های بالغ بر روی آنها فرمون ترشح کنند، موجب بلوغ جنسی ملخ‌های جوانتر می‌گردد (۶). نوع پاسخی که یک جانور به فرمون‌ها می‌دهد بسیار وابسته به سن، سطوح هورمونی جانور و تسلط جنسی وی دارد. در رات نر پیر سطح هورمون تستوسترون کاهش می‌یابد و پاسخ‌های رات نر پیر به فرمون‌های ماده نیز کاهش می‌یابد ولی بطور کلی فرمون‌های جنسی ماده باعث ایجاد نوسان در میزان تستوسترون در رات نر پیر می‌شوند (۸). رفتارهای وابسته به هورمون‌ها تحت تأثیر سایر ورودی‌های حسی نیز می‌توانند قرار بگیرند. بعنوان مثال، بوهایی که تحت شرایط اجتماعی و محیطی خاص در اختیار پستانداران قرار می‌گیرند؛ به کمک حس بینایی، به رات نر کمک می‌کنند تا وضعیت هورمون LH را تغییر دهند (۴). براساس مدل‌های ارائه شده برای جزئیات سیستم نورواندوکرینولوژی پستانداران توسط Kohl، بیان شده است که LH یک پارامتر قابل اطمینان برای اندازه‌گیری و مقایسه رفتارهای جنسی با حس بویایی در انسان می‌باشد (۱۰).

مواد و روش کار

تفاوت که هورمون از غدد مترشحه داخلی حاصل می‌شود در حالی که فرمون‌ها نتیجه فعالیت غدد خارجی است. ترکیب شیمیایی فرمون‌ها و هورمون‌های جانوری مشابه هم است و اغلب آنها از مشتقات استروئیدها هستند. فرمون‌ها قادرند بر روی یکسری رفتارهای تولید مثلی تأثیر بگذارند (بخصوص در زمان جفت‌گیری). فرمون‌هایی که بطور آهسته بر روی رفتارهای بعدی تأثیر می‌گذارند را آغازگر (Primer Effect) می‌گویند و از طریق سیستم غدد درون ریز عمل می‌کنند؛ اکثر فرمون‌های جنسی جزو فرمون‌های آغازگر قرار می‌گیرند (۱). هورمون‌ها باعث هماهنگی و نظم در نحوه بیان پاسخ‌های مقتضی به پیام‌های فرمونی می‌گردند (۲). فرمون‌های آغازگر (Primer Pheromone)، از طریق GnRH بر روی نسبت LH/FSH و تولید تستوسترون و استرادیول تأثیر می‌گذارند؛ و به عبارت بهتر فرمون‌های آغازگر، تمام محور (HPGA) hypothalamic-pituitary- (gonadal axis) را دچار نوسان می‌کنند؛ و در نتیجه رفتارهای متعاقب این تغییرات را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهند (۹). فرمون‌ها قادرند بر روی مراحل تولید مثلی در پستانداران اثر بگذارند. آنها به جذابیت جنسی و رفتارهای مقابله‌ای کمک کرده و قادرند فیزیولوژی تولید مثل را تعدیل کنند. ترکیبات مترشحه توسط ماده‌ها، پاسخ‌های اندوکرینی در نرها از قبیل آزادسازی هورمون LH و یا تستوسترون را باعث می‌شود. پیام‌های شیمیایی نر، دوره قاعدگی بسیاری از گونه‌ها را تنظیم می‌کند. بعنوان مثال در موش، پیام‌های ادراری نرها باعث سه‌پاسخ فیزیولوژیک می‌شود: تسریع بلوغ ماده‌های جوان، تسهیل آبستنی و همزمان کردن دوره قاعدگی ماده‌ها. هر سه مسیر، از طریق مسیرهای نورواندوکرینولوژیکی صورت می‌گیرد و نهایتاً باعث تغییر سریع در ترشح LH و یا



(دوره کودکی)، ۸۵ (دوره بلوغ) و ۱۵۰ (دوره پیری) خونگیری کرده و سپس آنها را در قفس مخصوص گذاشته، بعد از گذشت ۵ روزه قرار گرفتن در کنار رات ماده دوباره خونگیری شد و این کار در فاصله ۱۵ روزه بار تکرار گردید. البته برای موش نر پیر این کار در مدت ۱۰ روز و ۲ بار خونگیری صورت می‌گرفت. بلافاصله بعد از خونگیری نمونه های خونی در سانتریفوژ قرار می‌گرفتند و سرم آنها جداسازی می‌گردید و در فریزر قرار داده می‌شدند و تا زمان تست هورمونی در دمای زیر صفر درجه قرار می‌گرفت پس از اتمام خونگیری ها از آنها تست هورمونی به عمل آمد. برای خونگیری از دم رات ها ابتدا توسط اتر رقیق شده برای چند دقیقه رات را کم هوش می‌کردیم تا رات احساس درد نکند. تمامی نمونه های هورمونی توسط کیت های Free

Testosterone و به روش ELIZA تست هورمونی شدند و نتایج به دست آمده مستقیماً مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

گروه بندی: برای این تحقیق رات ها به ۱۱ گروه تقسیم شدند که چهار گروه اول نابالغ، چهار گروه دوم بالغ و سه گروه آخر پیر بودند. در هر گروه، یک گروه کنترل وجود داشت که در معرض فرومون قرار نمی‌گرفت. از گروه نابالغ در روز های ۵۰، ۵۵ و ۶۰؛ از گروه بالغ در روزهای ۸۵، ۹۰ و ۹۵؛ و از گروه پیر در روز های ۱۵۰ و ۱۶۰ خونگیری به عمل آمد.

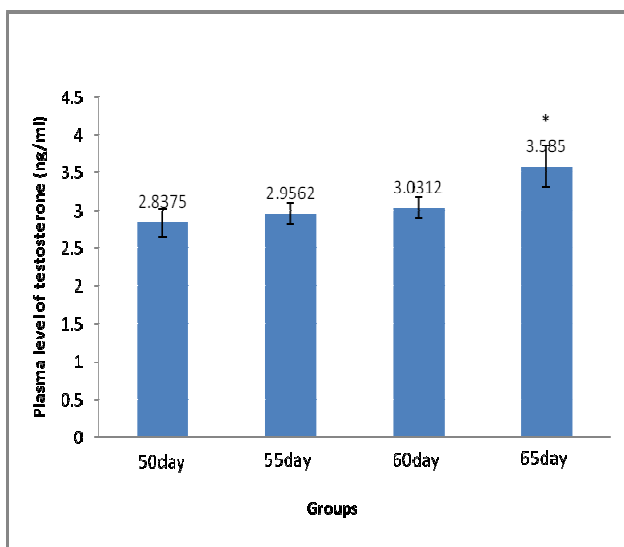
روش های آماری: نظر به این که تمام این خونگیری ها از ۸ رات نر صورت گرفته است، به لحاظ آماری این ۱۱ گروه به هم وابسته می‌باشند و لذا از روش های آماری مربوط به گروه های وابسته استفاده شده است. در این تحقیق برای مقایسه دو یا چند گروه با یک گروه از روش های آماری parametric یا چند گروه با یک گروه استفاده گردید. ضمناً برای مقایسه دو یا چند

خریداری و نگهداری حیوانات: در این تحقیق از ۸ رات ماده و ۲۴ رات نر استفاده شد که همگی از انستیتو سرم سازی رازی شیراز خریداری شدند و در شرایط استاندارد (دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتیگراد و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) در اتاق حیوانات دانشگاه از آنها نگهداری شد. وزن رات های نر کودک ۱۶۰ گرم، رات های نر بالغ حدود ۲۱۰ گرم و رات های نر پیر در حدود ۳۶۰ گرم در نظر گرفته شد. برای اینکه بتوانیم اثر فرومون رات ماده به تنهایی را بر روی میزان تستو سترون نر بررسی کنیم ۸ قفس ساختیم که جنس آن از پلاستیک و دارای درپوش بود این قفس ها با یک ورقه فلزی که یک دستگاه تهویه در وسط آن تعبیه شده بود به دو قسمت مساوی تقسیم شد که باعث می‌شد بوی رات ماده به رات نر برسد (تصویر ۱).



تصویر ۱- یک نمای کلی از قفس مخصوص. همانطور که مشاهده می‌شود هواکشی که در وسط قفس بر روی دیواره فلزی تعبیه شده باعث می‌شود بوی ادرار و عرق ماده که در سمت راست قرار گرفته، به رات نر که در سمت چپ قرار گرفته منتقل شود.

خونگیری: با توجه به اینکه باید چندین بار از رات خونگیری می‌شد، خونگیری از انتهای دم صورت می‌گرفت. از موش های نری که در معرض موش ماده قرار نداشتند در روزهای ۵۰



نمودار ۱ - مقایسه سطح پلاسمایی هورمون تستوسترون در گروه کنترل ۵۰ روزه با گروه‌های تجربی ۵۵، ۶۰ و ۶۵ روزه در رات نابالغ که در این نمودار هر ستون نمایانگر میانگین \pm انحراف معیار یک گروه می‌باشد. تفاوت سطح هورمونی در گروه رات‌های ۶۵ روزه، نسبت به گروه کنترل در $P < 0.05$ معنی‌دار می‌باشد.

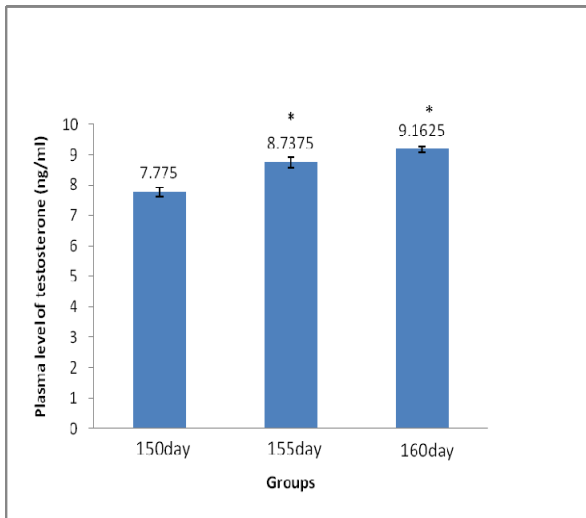
ب) مقایسه سطح پلاسمایی هورمون تستوسترون بین گروه کنترل و گروه‌های تجربی دریافت‌کننده فرومون ماده در دوران بلوغ: در رات‌های بالغ ۸۵ روزه که در کنار ماده قرار نگرفته بود (گروه کنترل) میزان سطح پلاسمایی تستوسترون $7/67 \text{ ng/ml}$ تخمین زده شد، در حالی که در گروه‌های تجربی ۹۰ روزه این میزان به $8/23 \text{ ng/ml}$ و در رات ۹۵ روزه به $9/18 \text{ ng/ml}$ و در رات ۱۰۰ روزه به $10/49$ رسید. اختلاف سطح هورمونی نسبت به گروه کنترل در $p < 0.05$ معنی‌دار به دست آمد (نمودار ۲).

گروه با دو یا چند گروه دیگر از روش آماری Repeated measure test استفاده گردید. از آنجائی که خونگیری‌ها کلاً از ۸ موش نر صورت گرفته بود، بکارگیری روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) صحیح نبود. به همین علت از یک روش آماری مشابه با ANOVA استفاده شد که در آن داده‌ها بر اساس تناوب زمانی با هم مقایسه شدند.

نتایج

نتایج به دست آمده از تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از این تحقیق را می‌توان بصورت خلاصه در نمودارهای زیر مشاهده کرد:

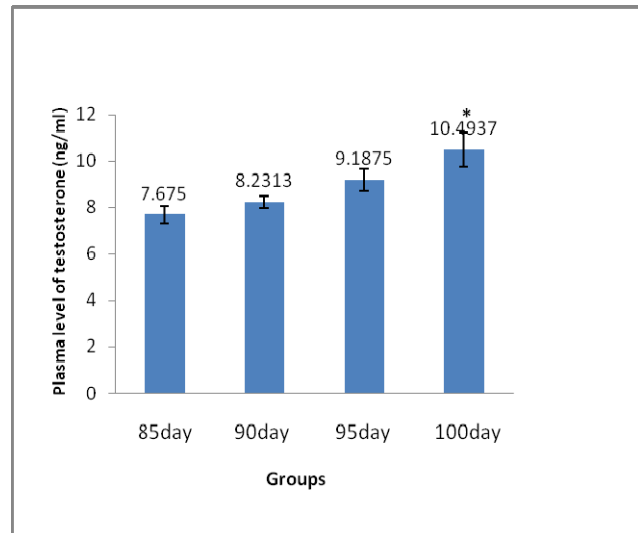
الف) مقایسه سطح پلاسمایی هورمون تستوسترون بین گروه کنترل و گروه‌های تجربی دریافت‌کننده فرومون ماده در دوران کودکی: در رات‌های نر ۵۰ روزه کودک که در کنار ماده قرار نگرفته بودند (گروه کنترل)، میانگین سطح پلاسمایی هورمون تستوسترون $2/83 \text{ ng/ml}$ بود که این میزان در گروه تجربی ۵۵ روزه به $2/95 \text{ ng/ml}$ رسید و در گروه تجربی ۶۰ روزه به $3/03 \text{ ng/ml}$ و در گروه ۶۵ روزه به $3/58 \text{ ng/ml}$ افزایش یافت. تنها گروه ۶۵ روزه تفاوت معنی‌داری در $P < 0.05$ را با گروه کنترل دوران کودکی نشان داد (نمودار ۱).



نمودار ۳- مقایسه سطح پلاسمایی هورمون تستوسترون در گروه کنترل ۱۵۰ روزه با گروه تجربی ۱۵۵ روزه و ۱۶۰ روزه در رات پیر که در این نمودار هر ستون نمایانگر میانگین \pm انحراف معیار یک گروه می باشد. تفاوت سطح هورمونی در هر دو گروه، نسبت به گروه کنترل در $P < 0.05$ معنی دار می باشد.

بحث

طبق نظریه Hideaki و همکارانش در سال ۲۰۰۹ فرومون های جنسی مترشحه ار رات ماده بالغ بر روی رات نر کودک تأثیر کمی دارد زیرا حس بویایی نسبت به دریافت این فرومون ها در دوران کودکی عکس العمل کمتری نشان می دهند بیشترین تأثیرات را بروی رات نر کودک فرومون های تجمع دارند (۸). نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر نشان دهنده همین مطلب است که فرومون های جنسی ماده زمانی که در کنار رات نر قرار می گیرند بروی سطح پلاسمایی هورمون تستوسترون رات نر کودک تأثیر کمتری دارد یعنی سطح هورمون تستوسترون در رات نر کودک گروه های تجربی نسبت به گروه های کنترل افزایش کمی دیده می شود. بر اساس نتایج به دست آمده از تحقیقات Grammer و همکارانش در سال ۲۰۰۵، تولید هورمون تستوسترون که مهمترین هورمون جنسی بیضه ها به حساب می آید از هفته



نمودار ۲- مقایسه سطح پلاسمایی هورمون تستوسترون در گروه کنترل ۸۵ روزه با گروه های تجربی ۹۰، ۹۵ و ۱۰۰ روزه در رات بالغ که در این نمودار هر ستون نمایانگر میانگین \pm انحراف معیار یک گروه می باشد. تفاوت سطح هورمونی در گروه رات های ۱۰۰ روزه، نسبت به گروه کنترل در $P < 0.05$ معنی دار می باشد.

ج) مقایسه سطح پلاسمایی هورمون تستوسترون بین گروه کنترل و گروه های تجربی دریافت کننده فرومون ماده در دوران پیری: در رات بالغ نر ۸۵ روزه که در کنار ماده قرار نگرفته بود (گروه کنترل) میزان سطح پلاسمایی تستوسترون $7/67 \text{ ng/ml}$ تخمین زده شد، در حالی که در گروه های تجربی ۹۰ روزه این میزان به $8/23 \text{ ng/ml}$ و در رات ۹۵ روزه به $9/18 \text{ ng/ml}$ و در رات ۱۰۰ روزه به $10/49 \text{ ng/ml}$ رسید. اختلاف سطح هورمونی نسبت به گروه کنترل در هر دو گروهی که فرومون را دریافت کرده اند در $p < 0.05$ معنی دار به دست آمد (نمودار ۳).



مخصوص قرار گرفتند و این فرمون‌ها را دریافت کردند افزایش پیدا کرد. Hideaki در ادامه تحقیقاتی که بر روی تأثیر فرمون‌های جنسی انجام داد متوجه شد که جانوران مختلف به تحریکات مشابه، پاسخ‌های متنوعی می‌دهند که نوع پاسخی که جانور می‌دهد بسیار وابسته به سن و سطوح هورمونی اش می‌باشد. وی با قرار دادن رات‌های پیر در معرض فرمون‌های جنسی رات ماده مشاهده کرد وضعیت و شرایط محیطی برای رات‌های پیر تغییر پیدا کرد و میزان تستوسترون آن نسبت به رات‌های نرپیری که در معرض فرمون قرار نمی‌گرفت افزایش پیدا کرد (۸). یافته‌های Hideaki با نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر در مورد رات‌های پیر مطابقت داشت. نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر نشان می‌دهند که فرمون‌های جنسی رات ماده بر روی سطح پلاسمایی فرمون تستوسترون در سنین کودکی، بلوغ و پیری تأثیر فزاینده دارند؛ به نحوی که بیشترین تأثیر را در دوران بلوغ مشاهده می‌کنیم و به تدریج تأثیر آن کمتر می‌گردد.

منابع

- ۱- برومنو فر سامد، فرمون‌ها و ارتباط شیمیایی در پستانداران، پایان‌نامه دکتری، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۷۰، صفحه ۳۲.
- 2- Cardwell JR, Stacey NE. Androgen increases olfactory receptor response to a vertebrate sex pheromone. *Journal of Comparative Physiology A-Sensory Neural and behavioral Physiology*, 176(1995), 55-61.
- 3- Cohen-Tannoudji J, Lavenet C, Locatelli A, Tillet Y. Non-involvement of accessory olfactory system in the LH response of anoestrous ewes to male odors. *J.Reprod. Fert.* (1989);86:135-144.

هفتم آغاز دوره جنینی در انسان آغاز می‌شود و بعد از تولد به کمترین میزان خود می‌رسد و در اواخر کودکی فرمون‌های بلوغ و جنسی می‌توانند تأثیرات فزاینده بر روی میزان سطح پلاسمایی هورمون تستوسترون داشته باشند. در تحقیق حاضر نشان داده شده است سطح پلاسمایی این هورمون در رات‌های نر کودک افزایش داشت که احتمالاً این افزایش طبق یافته‌های Grammer و همکارانش بدلیل دریافت فرمون‌های رات‌های ماده موجود در قفس مخصوص بوده است (۷). بنابر این می‌توان حدس زد که فرمون‌ها می‌توانند بر روی تکوین سیستم عصبی مرکزی رات‌ها و اعمال یک سری تغییرات نورواندوکرینولوژیکی نقش داشته باشند. طبق نظریه Wood در سال ۱۹۹۹، نرهای بالغ برای یک جفت‌گیری موفق هم‌نیاز به تستوسترون و هم به ورودی‌های حسی - شیمیایی بویایی نیاز دارند. رفتارهای جفت‌گیری را می‌توان با تزریق تستوسترون به نر اخته شده بازگرداند و ترشحات فرومونی رات ماده تأثیرات متنوعی بر روی رفتار نرها دارد از جمله باعث نزدیکی و تماس، بوییدن رفتار جفت‌گیری و پاسخ‌های هورمونی می‌گردد (۱۳). در این تحقیق دریافت فرمون‌های رات ماده توسط سیستم بویایی نر باعث افزایش سطح پلاسمایی هورمون تستوسترون در رات‌های نر بالغ شد که نتیجه به دست آمده مؤید نظریه Wood است. Monti-Bloch و همکارانش پیشنهاد کردند که فرمون‌های جنسی، نوسانات LH در مردان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. Jutte نیز نشان داد که یک ترکیب آبی متشکل از ۵ اسید چرب مربوط به تخمدان‌ها قادر است سطح تستوسترون را در مردان افزایش دهد (۱۱) آزمایشاتی که در تحقیق حاضر در مورد موش‌ها صورت گرفت نشان داد که سطح هورمون تستوسترون در رات‌های نر که در کنار رات ماده در قفس‌های



Δ^6 -Desaturase, Stearoyl-Coenzyme A (CoA) Desaturase 1, and Stearoyl-CoA Desaturase 2 in Rat Testis; *Biology of Reproduction*; (2003); 69(1):117-124.

4- Cooper HM, Parvopassu F, Herbin M, Magnin M. Neuroanatomical pathways linking vision and olfaction in mammals. *Psychoneuroendocrinology* (1994); 19:623-39.

5- Dulac, C. Molecular Architecture Of Pheromone Sensing in Mammals. *Molecular Mechanisms Influencing Aggressive Behaviours*, Novartis Foundation Symposium; (2005); 268: 100-110.

6- Gillett SG. Changes in the social behaviour of the desert locust, *Schistocerca gregaria*, in response to the gregarizing pheromone. *Animal Behaviour*, Volume 23, Part 3, August 1975, Pages 494-503

7- Grammer K, Fink B, Neave N. Human pheromones and sexual attraction; *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*; (2005)

, 118(2): 135-142

8- Hideaki I, Kayo N, Yasushi K. The volatility of an alarm pheromone in male rats. *Physiology & Behavior*; 96 (2009) 749-752

9- Hoffman GE, Lee WS, Attardi B, Yann V, Fitzsimmons M. Luteinizing hormone releasing hormone neurons express cfos antigen after steroid activation. *Endocrinology*; 126(1990), 1736-41.

10- Kohl J, Atzmueller M, Fink B, Grammer K. Human Pheromones: Integrating Neuroendocrinology and Ethology; *Neuroendocrinology Letters* (2001); 22:309-321

11- Monti-Bloch L, Diaz-Sanchez V, Jennings-White C, Berliner D. Modulation of serum testosterone and autonomic function through stimulation of the male human vomeronasal organ (VNO) with pregna-4, 20 - diene-3,6-dione. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*; (1998) 65,237-242.

12- Sæther T, Christophersen B, Haugen T. Expression and Regulation of Δ^5 -Desaturase,