مقاله پژوهشی

اثرات استرس بی حرکتی حاد و مزمن بر سطح سرمی هورمونهای TSH، T3 و T4 در موشهای صحرایی نر

رحیم احمدی: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، همدان، ایران
زهرا عباسی: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان، همدان، ایران، نویسنده رابط:
E-mail: z.abbasi2020@yahoo.com
وحید عسگری: گروه ایمنولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران،تهران،ایران

دریافت: ۹۱/۴/۶ **پذیرش:** ۹۱/۶/۱۴

چکیده

زمینه و اهداف: پژوهشهای مختلف نشان می دهند که استرس اثرات مختلفی بر سیستم آندوکرینی بدن دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات استرس بی حرکتی حاد و مزمن بر سطح سرمی هورمون های TSH، T3 و T4 در موش های صحرایی نر می باشد.

مواد و روش‌ها: طی این تحقیق تجربی- آزمایشگاهی، موش های نر نژاد ویستار به سه گروه ۱۰ سری شاهد، تحت استرس بی حر کتی حاد (روزانه ۸ ساعت بی حرکتی به مدت ۸ روز) و تحت استرس بی حرکتی مزمن (تحت بی حرکتی روزانه ۲ ساعت به مدت ۲۱ روز) تقسیم بندی شدند. بعد از پایان یافتن دوره برنامه اجرایی هر گروه، نمونه های خونی از طریق خونگیری از قلب جمع آوری شدند. بعد از تهیه سرم، سطح هورمونهای TSH، T3 و T4 با استفاده از روش الکتروکمی لومینسانس مورد سنجش قرار گرفتند. در نهایت داده های حاصل با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس، مورد مقایسه واقع شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان دادند هورمون های TSH، T3 و T4 در موشهای تحت استرس بی حرکتی حاد، افزایش معناداری یافتند (به ترتیب P<۰/۰۱، P<۰/۰۰۱ و P<۰/۰۰۱). اما سطح این هورمون ها در موشهای تحت استرس بی حرکتی مزمن، اختلاف معناداری با گروه شاهد نشان ندادند.

نتیجه‌گیری: استرس بی‌حرکتی حاد افزاینده سطح سرمی هورمونهای TSH، T3 و T4 است. بر این مبنا، از دیدگاه پاتوفیزیولوژیک، تاثیر استرس بی‌حرکتی در افزایش هورمون های تیروئیدی و عوارض متعاقب آن قابل توجه است.

کلید واژه‌ها: استرس بی حرکتی حاد، استرس بی حرکتی مزمن، T_4، T_3، TSH، رت

مقدمه

هورمون‌های تیروئیدی شامل تیروکسین (T4) و تری یدوتیرونین (T3)، هورمونهایی مشتق شده از اسیدآمینه تیروزین می‌باشند که توسط غده تیروئید ساخته و ترشح می‌شوند. هورمونهای تیروئیدی باعث افزایش سرعت متابولیسم پایه و افزایش دمای بدن، افزایش سنتز پروتئینها، افزایش حساسیت و پاسخ بدن به کاتکول آمینها مانند آدرنالین شده و برای تکامل و رشد سلولها و اعضای بدن نیز به ویژه در دوران جنینی و کودکی لازم و ضروری هستند. با توجه به اینکه هرگونه اختلال در سطح سرمی طبیعی هورمون های تیروئیدی موجب ناهنجاری فیزیولوژیکی، مانند هایپوتیروئیدیسم و هایپوتیروئیدیسم می شود (۱)، عوامل مسبب آن از جمله انواع بیماریها، دخانیات و انواع استرس ها مانند استرس بی حرکتی مورد مطالعات زیادی قرار گرفته است. استرس به ناتوانی یک ارگانیسم، انسان یا حیوان در ارائه پاسخ مناسب به تقاضاهای فیزیکی، احساسی یا روحی اشاره می کند (۲). انسانها و حیوانات همواره در مراحل زندگی با عوامل گوناگون استرس زایی مواجه می شوند (۳). اطلاعات زیادی نشان می دهد که استرس می تواند به عنوان پایه آسیب پذیری بیماریهای مختلفی به کار رود که بطور مکرر در حال افزایش است (۴). اعتقاد بر این است که در تشکیل واکنش استرس، هورمونها تاثیر گذار هستند و باعث ایجاد اختلالات زیادی در متابولیسم لیپیدها، کربوهیدراتها و

Archive of SID

www.SID.ir

الکترولیت ها می شود که تمام این موارد می توانند در زمان وقوع استرس باعث ایجاد بیماری شوند (۴). در موجودات مختلف، بی‌حرکتی در دو شکل حاد و مزمن به عنوان استرس تلقی می‌گردد که می‌تواند اثرات گوناگونی بر فیزیولوژی جانوران در حوزه های رشد و نمو و حوزه عملکرد فیزیولوژیک هیپوتالاموس، هیپوفیز، آدرنال و غده تیروئید داشته باشد (۵-۴). استرس منجر به افزایش رهاسازی کاتکول آمین ها و گلوکوکورتیکوئیدها توسط فعالیت اعصاب سمپاتیک غده آدرنال و محور هیپوتالاموس هیپوفیز آدرنال (۶-۵) و همچنین افزایش آزادسازی آمینواسیدهای تحریکی در مغز می شود (۷). بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که استرس بی‌حرکتی باعث افزایش کورتیکواسترون، آدرنوکورتیکوتروپین و پرولاکتین و کاهش تستوسترون سرم می شود و بر سطح سرمی LH، FSH و وازوپرسین تاثیری ندارد (۹-۸). اما در مطالعه دیگری نشان داده شده که سطح LH را کاهش می دهد(۱۰). در تحقیقی دیگر نشان داده شده است که بین پوکی استخوان حاصل از بی حرکتی با هورمون های تیروئیدی رابطه ای وجود دارد (۱۲-۱۱). همچنین گزارشاتی مبنی بر تاثیرگذاری استرس بی حرکتی بر عملکرد غده تیروئید وجود دارد (۴و۱۳و۱۴و۱۵). علی رغم مطالعات انجام شده، ساختار محور تیروئید تحت تأثیر استرس در موجود زنده کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است و همچنین مطالعات ناقصی در رابطه با اثر عوامل استرس زا روی روند ترشح و متابولیسم هورمونهای تیروئید و همچنین تغییرات ایجاد شده توسط این عوامل بر روی ارگان هدف وجود دارد (۳). بر این اساس این تحقیق در پی بررسی اثرات استرس بی‌حرکتی حاد و مزمن بر سطح سرمی هورمونهای T3، T4 و TSH می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۳۰ سر موش نر نژاد ویستار با وزن ۲۰۰-۱۸۰gr از انستیتو پاستور ایران تهیه گردیدند. حیوانات در حرارت ۲C° ±۲۲ درجه سانتیگراد و با دوره نوری-تاریکی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با در نظر گرفتن شروع دوره نوری از ساعت ۸ صبح در شرایط طبیعی و رژیم غذایی نرمال نگهداری شدند. آب و غذا به صورت نامحدود در اختیار حیوانات قرار گرفت. خوراک آماده موش از کارخانه دام پارس تهیه گردید. تمامی شرایط دیگر نگهداری موشها یکسان و در طول بررسی بدون تغییر باقی ماند (۱۶). حیوانات به صورت تصادفی گروه بندی شدند و نمونه ها در هرگروه شماره گذاری شده و نسبت به مجری سازگار گردیدند. هیچکدام از حیوانات هنگام آزمایش، واجد بیماری یا شواهد مبنی بر بیماری نبودند. موشها به سه گروه ۱۰ سری تحت استرس بی حرکتی حاد، تحت استرس بی حرکتی مزمن و گروه شاهد تقسیم شدند. گروه تحت بی حرکتی حاد، ۸ ساعت بی حرکتی در روز به مدت ۸ روز و گروه تحت بی حرکتی مزمن، ۲ ساعت بی حرکتی در روز به مدت ۲۱ روز را تجربه کردند. جهت اعمال استرس بی حرکتی از دستگاه محدود کننده ویژه ای که عمدتا در کارهای تحقیقاتی برای بی حرکت کردن موش ها استفاده می شود و بدین منظور توسط مرکز تحقیقاتی دانشگاه تهیه شده بود، استفاده شد. دستگاه طوری تعبیه شده است که بدون اینکه دست و پای موش بسته باشد، فضایی برای حرکت وجود نداشته، همچنین منافذی برای تهویه هوا در دستگاه وجود داشت (شکل ۱).

شکل ۱: دستگاه بی حرکت کننده (Restrainer)

پس از اتمام تجربیات در هر گروه، نمونه های خونی به روش خونگیری از قلب تهیه شده و پس از تهیه سرم مقادیر هورمونی با استفاده از روش الکتروکمی لومینسانس مورد سنجش قرار گرفتند. به منظور آنالیز آماری داده ها، ابتدا با استفاده از روش (کولموگروف- اسمیرونوف Kolmograph-Smirnov) از توزیع نرمال داده ها اطمینان حاصل شد و سپس داده ها با استفاده از برنامه نرم افزار SPSS18 و روش آماری آنالیز واریانس یکطرفه((ANOVA و t-test مستقل مورد تجزیه و تحلیل واقع شدند. در آنالیز واریانس، معناداری اختلاف میان گروهها با استفاده از (آزمون فیشر Fisher LSD) تعیین گردید. اندازه گیری هورمونی با استفاده از کیت آزمایشگاهی ایمنوتک [IMMUNOTECH A, BECHMAN COULTER/REF 2121] انجام گرفت. درطی آزمایشات حقوق نمونه ها به طور کامل رعایت شد. مطالعه پژوهشی مذکور در تابستان ۱۳۹۰ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان به انجام رسیده است.

یافته‌ها

نتایج سطح سرمی غلظتهای T_3 , T_4 و TSH در گروههای کنترل و دریافت کننده استرس بی حرکتی حاد و مزمن در جدول ۱ نمایش داده شده است.

تجزیه و تحلیل های آماری، افزایش معناداری را در سطح سرمی هورمون‌های TSH، T3 و T4 در موش های دریافت کننده استرس بی‌حرکتی حاد نسبت به گروه شاهد نشان می‌دهند (به ترتیب P<۰/۰۱، P<۰/۰۰۱ و P<۰/۰۰۱). اما هیچ اختلاف معناداری بین سطح سرمی این هورمون ها در موش های دریافت‌کننده استرس بی‌حرکتی مزمن نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد (جدول ۱ و نمودارهای ۳،۲،۱).

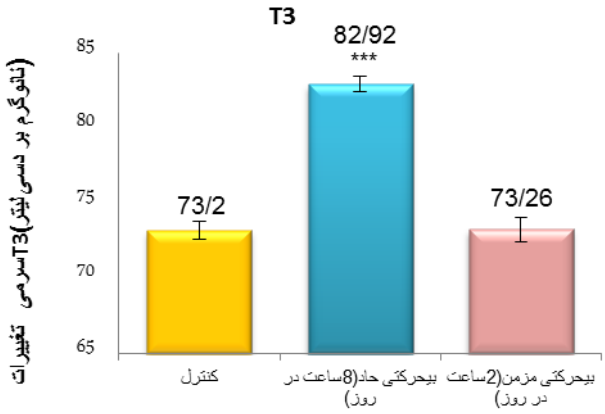
Archive of SID

www.SID.ir

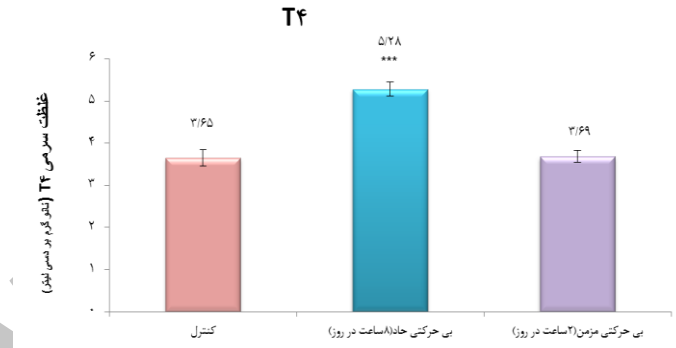
جدول۱: غلظت هورمونهای T_3 , T_4 و TSH سرم خون در موشهای صحرایی نر نژاد ویستار

گروهها	TSH (U/ml)	P	T_4 ng/dL	P	T^3 ng/dL	P
شاهد	۰/۰۰۹۸ ±۰/۰۰۱	–	۳/۶۵ ±۰/۲	–	۷۳/۲±۰/۵۸	–
استرس بی حرکتی حاد	/۰۱۳ ±۰/۰۰۱	<۰/۰۱	۵/۲۸±۰/۲	<۰/۰۰۱	۸۲/۹۲±۰/۵۱	< ۰/۰۰۱
استرس بی حرکتی مزمن	۰/۰۰۹۶ ±۰/۰۰۱	N.S	۳/۶۷±۰/۱۳	N.S	۷۳/۲۶±۰/۸	N.S

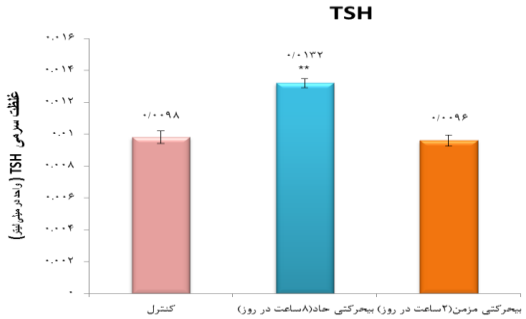
مقادیر بیانگر «SEM±Mean» مربوط به ۱۰ موش است. مقادیر P (حاصل از آنالیز واریانس یک طرفه) نسبت به گروه شاهد مقایسه و بیان شده انـد. N.S بیـانگر عـدم وجـود اختلاف معنادار در مقایسه با گروه شاهد است.



نمودار ۱: مقایسه غلظت هورمون T3 سرم خون در گروههای کنترل، تحت استرس بی حرکتی مزمن) ۲ساعت در روز بـه مـدت۲۱ روز)، و تحـت اسـترس بـی حرکتـی حـاد (۸ساعت در روز به مدت ۸ روز)، در موشهای صحرایی نر. مقادیر بیانگر «SEM±Mean» مربوط به ۱۰ موش است. ***P۰/۰۰۱> (محورعمودی، X و محور افقی، Y)



نمودار ۲: مقایسه غلظت هورمون T4 سرم خون در گروههای کنترل، تحت استرس بی حرکتی مزمن (۲ ساعت در روز بـه مـدت۲۱ روز)، و تحـت اسـترس بـی حرکتـی حـاد (۸ساعت در روز به مدت ۸ روز)، در موشهای صحرایی نر. مقادیر بیانگر«SEM±Mean» مربوط به ۱۰ موش است ***P<۰/۰۰۱ (محورعمودی، X و محور افقی، Y)



نمودار ۳: مقایسه غلظت هورمون TSH سرم خون در گروههای کنترل، تحت استرس بی‌حرکتی مزمن (۲ساعت در روز به مـدت۲۱ روز)، و تحـت اسـترس بـی‌حرکتـی حـاد (۸ساعت در روز به مدت ۸ روز)، در موشهای صحرایی نر. مقادیر بیانگر «SEM±Mean» مربوط به ۱۰ موش است. ***P<۰/۰۱ (محورعمودی، X و محور افقی، Y)

www.SID.ir

بحث

نتایج این مطالعه نشان می دهند که در مدت اجرای این پژوهش، بی حرکتی حاد (کوتاه مدت) نوعی افزایش عمده را در ترشح هورمون های تیروکسین (T_4)، تری یدوتیرونین (T_3) و هورمون محرک تیروئید (TSH) موجب می شود. این یافته منطبق با یافته های پیشین است که نشان داده اند استرس بی حرکتی حاد، سیستم هیپوفیز- تیروئید را در میمونهای رزوس فعال می کند. در این مطالعه نشان داده شده است که سطح ید بوتانل در ۲۶ میمون رزوس که به مدت ۳ روز در حالت بی حرکتی به سر می بردند شاهد افزایش متوسط شد و در مدت زمان ۶ روز بی حرکتی صندلی ثابت باقی ماند (۱۷). تحقیقات دیگری نیز نشان می دهند که استرس بی حرکتی حاد باعث افزایش در ترشح هورمونهای تیروئیدی می‌شود. در این راستا، پژوهشها نشان می دهند که غده تیروئید فورا بعد از شروع تأثیر عامل تنش زا بر روی ارگانیسم، افزایش فعالیت نشان می دهد (۳) و همچنین نتایج تحقیقات بر آنند که نوراپی نفرین در تنظیم فعالیت غده تیروئید در خرگوش ها اثر داشته و نتایج نشانگر تأثیر مستقیم کاتکول آمینها بر روی ساختار تیروئید می باشد (۴). از سویی، تحقیقات نشان می دهند که عملکرد محور هیپوفیز- تیروئید در موش های صحرایی طی زمان ۱۵-۲ دقیقه بی حرکتی افزایش می یابد (۱۴). همچنین، یافته های پژوهشها نشان می دهند که در طول بی حرکتی کوتاه مدت (۶-۴ روز) در بیمارانی که به علت شکستگی اندام تحتانی در بیمارستان بستری بودند افزایش ترشح تیروئید صورت گرفت (۱۵).

یافته دیگر این مطالعه نشان می دهد که استرس بی حرکتی در طولانی مدت تاثیری بر سطح هورمون های TSH، T3 و T4 ندارد. هم راستا با این نتایج، مطالعات دیگری وجود دارند گزارش کرده اند استرس طولانی مدت تأثیری بر هورمونهای تیروئیدی سرم خون ندارد. در این راستا، تحقیقات بیانگر آنند که تکرار بی حرکتی در موش های صحرایی موجب کاهش ترشح هورمون های تیروئیدی می شود (۳). گرچه پژوهش های دیگری در این زمینه وجود دارند که نشانگر کاهش سطح سرمی هورمونهای تیروئیدی در طی استرس بی حرکتی مزمن می باشند (۱۵و۱۴). علیرغم این مطالعات، پژوهش های دیگری وجود دارند که نشان می دهند که در پی استرس مزمن، در سطح TSH سرم خون تغییری حاصل نمی شود. در این راستا، بررسی ها نشان می دهند که در طی استرس خفیف و مزمن سطح T3,T4 افزایش می یابد اما سطح TSH سرم خون تغییر نمی یابد (۱۸).

همچنین برخی پژوهشها نشانگر آنند که استرس بی حرکتی مزمن، سطح TSH پلاسما و mRNA مربوط به (TRH هورمون آزاد کننده تیروئید) را در موشهای جوان کاهش می دهد (۲۰-۱۹).

از نظر مکانیسم احتمالی اثرات استرس بی حرکتی حاد بر افزایش غلظت های T_3 , T_4 و TSH سرم، می توان این اثرات را در محور هیپوتالاموس– هیپوفیز– تیروئید جستجو نمود. به نظر می رسد استرس بی حرکتی حاد همانند تمام استرسهای فیزیولوژیکی دیگر ابتدا بر نورونهای آمینرژیک و متعاقب آن نورونهای پپتیدرژیک در قشر مغز اثر می گذارد. نورونهای پپتیدرژیک انشعاباتی به هیپوتالاموس فرستاده و با تأثیر بر این سیستم، تولید TRH را افزایش داده و به دنبال آن تولید TSH افزایش یافته و طبیعتاً با افزایش TSH، دو هورمون تیروئیدی T_4و T_3 افزایش می یابد (۲۲و۲۱).

از سویی، با توجه به عدم تاثیر استرس بی حرکتی مزمن بر روی غلظت های T_4و T_3 و TSH، این امر بیانگر سازش فیزیولوژیک نمونه ها با استرس بی حرکتی مزمن می باشد(۳) که بدان واسطه عدم تغییر فعالیت غده تیروئید مشاهده می گردد. در همین راستا، مطالعات دیگر نیز نشان می دهند که اگر استرس ها به صورت مزمن اعمال گردند، امکان سازش نمونه ها با استرس پدید آمده و از این نظر اثرات محرک را خنثی می نماید (۱۵).

از طرفی، عدم امکان بررسی تغییرات هورمون های تیروئید از دیدگاه سلولی و مولکولی از محدودیت های این پژوهش است که امید است در تحقیقات بعدی امکان بررسی های سلولی و مولکولی در این حوزه فراهم آید.

نتیجه‌گیری

درجمع‌بندی کلی از یافته های پژوهش حاضر می توان نتیجه گیری کرد که استرس بی حرکتی حاد نقشی فزاینده در عملکرد اندوکرینی غده تیروئید داشته و براین اساس، این نکته باید در مباحث بالینی به خصوص در اختلالات تیروئیدی مورد توجه قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

این پژوهش با حمایت‌های معنوی و مادی حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان انجام یافته است. بدین وسیله از زحمات این عزیزان تقدیر و تشکر به عمل می آید.

References

1. Kar A, Panda S, Bharti S. Relative efficacy of three medicinal plant extracts in the alteration of thyroid hormone concentrations in male mice. *J Ethnopharmacol* 2002; **81**(2): 281-285.
2. Selye H, "Confusion and controversy in the stress field". *J Human Stress* 1975; **1**: 37-44.
3. Turakulov Y, Burikhanov R, Patkhitdinov P, Myslitskaya A. Influence of immobilization stress on the level of secretion of thyroid hormones. *Neurosci Behav Physiol* 1994; **24**(6): 462-464.
4. Turakulov Y, Burikhanov R. Role of norepinephrine in the regulation of thyroid gland

Archive of SID

www.SID.ir

functional activity in rabbits. *Probl Endokrinol (Mosk)* 1993; **39**(4): 45-48.
5. Aguilera G, Kiss A, Sunar-Akbasak B. Hyperreninemic hypoaldosteronism after chronic stress in the rat. *J Clin Inv* 1995; **96**(3): 1512-1519.
6. Pettersson K, Bejne B, Björk H, Strawn WB, Bondjers G. Experimental sympathetic activation causes endothelial injury in the rabbit thoracic aorta via beta 1-adrenoceptor activation. *Circ Research.* 1990; **67**(4): 1027-1034.
7. Moghaddam B. Stress preferentially increases extra neuronal levels of excitatory amino acids in the prefrontal cortex: comparison to hippocampus and basal ganglia. *J Neurochemi* 1993; **60**(5): 1650-1657.
8. Srivastava R, Taylor M, Mann D. Effect of immobilization stress on plasma luteinizing hormone, testosterone, and corticosterone concentrations and on 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in the testes of adult rats. *Proc Soc Experi Biolo Med* 1993; **204**(2): 231-235.
9. Demura R, Suzuki T, Nakamura S, Komatsu H, Odagiri E, Demura H. Effect of immobilization stress on testosterone and inhibin in male rats. *J Androl* 1989; **10**(3): 210-213.
10. Rai J, Pandey S, Srivastava R. Testosterone hormone level in albino rats following restraint stress of long duration. *J Anat Soc India* 2004; **53**(1):17-19.
11. Bròdano G ,Colangeli S ,Babbi L ,Gasbarrini A , Bandiera S ,Terzi S. Osteoporotic vertebral fractures: a disabling and expensive disease of our century. A minimally invasive surgical technique to reduce the pain, the hospitalization, and restore the function. *Eur Rev Med Pharmacol S* 2011; **15**(12): 1473-1477.
12. Burkhart J, Jowsey J. Parathyroid and Thyroid Hormones in the Development of Immobilization Osteoporosis. *Endocrinol* 1967; **81**(5): 1053-1062.
13. Langer P, Földes O, Kvetnanský R, Culman J, Torda T, El Daher F. Pituitary-thyroid function during acute immobilization stress in rats. *Experimental Clinical Endocrinology* 1983; **82**(1): 51-60.
14. Langer P, Vigas M, Kvetnanský R, Földes O, Culman J. Immediate increase of thyroid hormone release during acute stress in rats: effect of biogenic amines rather than that of TSH? *Acta Endocrinol (Copenh)* 1983; **104**(4): 443-449.
15. Tatu C, RF T, Dumitrascu V, Puscasiu D, Tanasie G. Thyroid horrmones and immobilization. *J Physiol* 2005; **2**(46): 19-22.
16. Sood S, Narang D, Thomas MK, Gupta YK, Maulik SK. Effect of Ocimum sanctum Linn. On cardiac changes in rats subjected to chronic restraint stress. *J Ethnopharmacol* 2006; **108**(3): 423-427.
17. Mason J, Mougey E. Thyroid (plasma BEI) response to chair restraint in the monkey. *Psychosom Med.* 1972; **34**(5):441-448.
18. Kioukia N, Bekris S, Antoniou K, Papadopoulou-Daifoti Z, Christofidis I. Effects of chronic mild stress (CMS) on thyroid hormone function in two rat strains. *Psychoneuroendocrinol* 2000; **25**(3): 247-257.
19. Cizza G, Brady L, Esclapes M, Blackman M, Gold P, Chrousos G. Age and gender influence basal and stress-modulated hypothalamic-pituitary-thyroidal function in Fischer 344/N rats. *Neuroendocrinol* 1996; **64**(6): 440-448.
20. Cizza G, Brady L, Pacak K, Blackman M, Gold P, Chrousos GP. Stress-induced inhibition of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis is attenuated in the aged Fischer 344/N male rat. *Neuroendocrinol* 1995; **62**(5): 506-513.
21. Douglas F, Watt A, Panksepp J, Depression: An Evolutionarily conserved Mechanism to terminate separation Distress? A Review of Aminergic, Peptidergic, and Neural. Network. Perspective. *Neuropsychoanal* 2009; **11**(1):7-109.
22. Duntas L, Emerson C. On the Fortieth Anniversary of Thyrotropin-Releasing Hormone: The Hormone that Launched a New Era. *Thyroid* 2009; **19**(12): 1299-1301.

Archive of SID

www.SID.ir