ارزیابی سطح تستوسترون خون نوزادان موش صحرایی بدنبال تماس با رایحه والدین و موش های غریبه

مژگان رحیمی[۱*]، حیدر آقابابا[۱] و سید ابراهیم حسینی[۲]

[۱] ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

[۲] شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۲/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۱۶

چکیده

فرومون‌ها به ترشحات برون ریز بدن اطلاق می‌شوند که از یک فرد خاص به اطراف پخش شده و می‌توانند باعث ایجاد پاسخ‌های رفتاری در سایر افراد همان گونه شوند. دریافت فرومون در پستانداران اغلب توسط اندام ویژه ای به نام ومرونازال صورت می-گیرد. در این تحقیق هدف اصلی بررسی تاثیر فرومون‌های جنسی والدینی و غریبه بر روی زمان شروع بلوغ موش های صحرایی نر نابالغ بوده است. آزمایش شامل شش گروه و هر گروه شامل ۸ موش صحرایی بود. در هر گروه موش های صحرایی نر از بدو تولد در معرض فرومون‌های جنسی مورد نظر قرارگرفتند، گروه اول فرومون‌های موش صحرایی مادر، گروه دوم فرومون‌های موش صحرایی ماده غریبه، گروه سوم فرومون‌های موش صحرایی پدر، گروه چهارم فرومون‌های موش صحرایی نر غریبه، گروه پنجم فرومون‌های پدر و مادر و نهایتاً گروه ششم فرومون‌های نر و ماده غریبه را دریافت کردند. موش های صحرایی نر نابالغ فرومون‌های مورد نظر را از طریق هواکشی که در قفس تعبیه شده بود دریافت کردند. پس از انجام تست هورمونی هیچ تفاوت معناداری در سطح تستوسترون گروه‌های مورد آزمایش مشاهده نشد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که فرومون‌هایی که فقط از طریق هوا استنشاق می‌شوند تأثیری در زمان آغاز بلوغ ندارند و به نظر می‌رسد برای اثربخشی فرومون‌ها در پدیده بلوغ، موش های صحرایی نابالغ باید فرومون را بطور مستقیم دریافت کنند.

واژگان کلیدی: فرومون‌های جنسی، بلوغ، موش صحرایی.

* نویسنده مسئول: تلفن ۰۹۱۷۹۵۲۷۰۷۹ ، پست الکترونیکی: m.rahimi.7079@gmail.com

مقدمه

واژه فرومون توسط کارلسون و لوسچر (۱۴) (Karlson & Luscher) معرفی شد. این واژه از کلمات یونانی pherine (حمل کردن) و hormone (برانگیختن) مشتق شده است. فرومون‌ها به ترشحات برونریز بدن اطلاق می شود که از یک فرد خاص به اطراف پخش می‌شود و می‌تواند باعث ایجاد پاسخ‌های مخصوص رفتاری یا فیزیکی در سایر افراد همان گونه شود (۱۴). فرومون‌ها از نظر ترکیب شیمیایی، طیف گسترده‌ای از مواد آلی را در بر می‌گیرند که شامل هیدروکربنها، پلی پپتیدهای کوچک، پروتئین‌ها، اسیدهای چرب و استروئیدها می‌باشند. فرومون ها – بجز در میکروارگانیسم‌ها و جلبکها اغلب از مواد حاصل از فعل و انفعالات متابولیکی می‌باشند که از بدن موجود زنده به خارج دفع می‌شوند.

فرومون‌ها قادرند بر روی مراحل تولیدمثلی در پستانداران اثر گذاشته و به جذابیت‌های جنسی و رفتارهای مقاربتی کمک کرده و نیز قادرند فیزیولوژی تولیدمثل را تعدیل کنند. مشخص شده که فرومون‌های پستانداران می توانند اثری طولانی و ماندگار در جانور دریافت کننده ایجاد نماید که

Archive of SID

www.SID.ir

باعث بروز تغییرات نورواندوکرینی و رفتاری می‌گردد. به عنوان مثال دریافت فرومون‌های جنسی نر توسط جنس ماده باعث پیشرفت در بلوغ، القاء سیکل استروس و خاتمه بارداری می‌شود. در عوض، دریافت فرومون‌های ماده از سوی جنس ماده سبب تأخیر در شروع بلوغ و سرکوب استروس می‌گردد. فرومون‌ها با اثر بر عملکرد محور هیپوتالاموس- هیپوفیز آزادسازی هورمون LH (هورمون لوتئوتروفیک) و پرولاکتین را تنظیم می‌کنند، این دو هورمون بر فرآیندهای فوق اثر می گذارند (۹). به طور معمول به نظر می‌رسد پاسخ فیزیولوژیکی جنس ماده به فرومون‌های جنس نر به خاطر بالا رفتن سطح LH و کاهش سطح پرولاکتین می باشد، در حالی که پاسخ فیزیولوژیکی به فرومون‌های جنس ماده به خاطر افزایش میزان پرولاکتین می‌باشد (۱۰).

در چندین گونه از پستانداران، فرومون‌های آغازگر، نقش مهمی در تنظیم زمان شروع بلوغ بازی می‌کنند (۱۳). در برخی گونه‌ها نشان داده شده که آغاز بلوغ در جنس ماده ناشی از تحریکات جنس نر می‌باشد. بطور کلی به نظر می‌رسد که این پیام‌ها توسط ادرار منتقل می‌شود، ولی در بعضی گونه‌ها مثل *بوزینه کوچک آمریکایی*، غدد اختصاصی این نقش را ایفا می‌کند (۸). و یا شواهدی که توسط واندنبرگ (۲۶) (Vandenbergh) ارائه شده نشان می دهد ترشحات پوست در خز یا پشم جانورانی مثل گوسفند می‌تواند در تنظیم آغاز بلوغ نقش داشته باشد است (۲۶). او دریافت اگر موش های ماده نابالغ را در بستر نرهای بالغ قرار دهیم بلوغ آنها حدود ۱۰ روز زودتر از موش هایی که در بستر تمیز بودند آغاز می‌شود. عامل مؤثر، ادرار نر بود که باعث می‌شد بلوغ جنسی در ماده‌ها زودتر القا شود. نیاز است که موش های ماده بین سنین ۲۹-۲۱ روزه به مدت ۳ روز متوالی در معرض ادرار نر باشند تا نسبت به آن واکنش نشان دهند. حضور ادرار نر به مدت سه روز، حدود ۱۲-۱۰ روز آغاز بلوغ جنسی را تسریع می‌کند (۲۶).

فرومون‌های ادرار موش که به لیپوکالین KD ۱۹وصل می‌شود به عنوان پروتئینهای اصلی ادرار MUP (Major Urinary Proteins) شناخته شده‌اند. تولید این ترکیبات به تستوسترون وابسته است (۲۴). و بنابراین پیام دهی آنها به فعالیت تولیدمثلی جنس نر بستگی دارد. این عوامل می توانند بلوغ را در ماده‌های نابالغ سرعت بخشند (۲۰). این ترکیبات شامل 2-sec-butyldihydrothiazole (SBT)-exo-dehydro-3,4, 6-hydroxy-6-methyl-3-heptanone(DHB) brevicomin و α, β-farnesenes می باشند. آزمایش این ترکیبات ادراری بر روی شیار اورونازال باعث دو برابر شدن وزن حفره شکم می‌گردد (۱۶). افزایش در وزن شکمی به عنوان پیامد تولید استروژن توسط تخمدان در واکنش به هورمون LH اتفاق می‌افتد. رهاسازی LH می‌تواند ۲۰ دقیقه بعد از قرارگرفتن در معرض یک نر بالغ یا ادرار او رخ دهد (۴). نووتنی و همکارانش نشان دادند که ترکیبات تسریع کننده بلوغ، وابستگی شدیدی به MUP دارند، پس NUP به عنوان حامل این مولکولها ایفای نقش می‌کند (۱۷).

ماده‌های بالغ نیز می‌توانند شروع بلوغ جنسی را در ماده‌های دیگر جلو بیاندازند، البته فقط در مرحله استروس، بارداری یا شیردهی. شاید همانطور که دریکامر (۷) (Drickamer) بیان می‌کند، رهاسازی پیام‌های شیمیایی تسریع‌کننده بلوغ توسط ماده‌هایی که بطور فعال در حال زاد و ولد هستند می‌تواند ماده‌های دیگر را تحریک کند. احتمالاً این پیام‌دهی به ماده‌های خویشاوندی که شرایط تولیدمثل برای آنها مهیاست صورت می‌گیرد. این تفسیر زمانی که دریکامر نشان داد که گروه‌بندی ماده‌های باردار یا شیرده در تراکم‌های مختلف و در ترکیبات متفاوت باعث ناپدیدی فرومون‌های تسریع کننده بلوغ از این ماده‌ها می‌شود، بیشتر مورد تأکید قرارگرفت (۷). لازم به ذکر است که آغاز بلوغ جنسی در موش های ماده‌ای که بصورت گروهی پرورش داده می‌شوند، دیرتر از آن دسته از موش‌هایی صورت می‌گیرد که بصورت منفرد پرورش می‌یابند، چرا که

Archive of SID

www.SID.ir

تعاملات میان این ماده‌ها سبب سرکوبی بلوغ جنسی آنها می‌گردد (۵). مکینتاش (۱۹) و دریکامر نشان دادند که ادرار ماده‌های گروه‌بندی شده نسبت به ادرار ماده‌های منفرد سبب تأخیر ۵-۴ روزه در آغاز اولین استروس ماده‌های نابالغ، می‌شود. برداشتن تخمدان هیچگونه اثری در تولید فرومون جلوگیری کننده از بلوغ ندارد ولی برداشتن آدرنال تأثیر بازدارندگی ادرار ترشح شده از ماده‌های گروه‌بندی شده را از بین می‌برد (۱۹).

نووتنی و همکارانش ثابت کردند که کمپلکسی از شش متابولیت استروئیدی وابسته به آدرنال، در ادرار احتمالاً مسئول جلوگیری از بلوغ در ماده‌های نابالغ می‌باشد و اینجاست که نقش آدرنال نیز در این زمینه تأیید می‌شود (۱۸). تحقیقات دیگری متابولیت واسطه‌ی آدرنال ۲و ۵ دی متیل پیارزین را بعنوان فرومون مسئول جلوگیری از بلوغ شناختند (۱۹). درک مکانیسم تنظیم مربوط به فرومون جلوگیری از بلوغ بدلیل وجود مدارکی دال بر اینکه این فرومون‌ها ممکن است در تنظیم جمعیت گسترده‌ای از موش های خانگی نقش داشته باشند دارای اهمیت زیادی است (۱۲). میزان ترشح فرومون‌های بازدارنده از بلوغ در ماده‌ها بستگی به تراکم جمعیت آنها دارد، بگونه ای که هرچه تراکم ماده‌ها بیشتر باشد آنها سریعتر می‌توانند فرومون‌های بازدارنده بلوغ را تولید کنند. وقتی که ماده‌ها را از گروههای متراکم جدا کنیم، آنها توانایی تولید فرومون-های بازدارندگی بلوغ را در ادرارشان ظرف مدت ۱۰ روز از دست می‌دهند (۱۵). در بسیاری از گونه‌ها به‌محض اینکه پدیده بلوغ رخ می‌دهد، سیگنال‌های شیمیایی به نقش خود در تنظیم عملکرد تخمدانی ادامه می‌دهند. وقتی موش های صحرایی ماده با هم زندگی می‌کنند، سیکل استروس آنها بعد از گذشت ۳ دوره همزمان می‌شود و تا ۱۲ دوره این روند حفظ می‌شود (۶). این پدیده در زنانی که در مجاورت هم در یک مکان بسته زندگی می‌کنند نیز مشاهده می‌شود مشخص شده که ترشحات زیر بغل زنان می‌توانند بر طول قاعدگی زنان دیگر تأثیر گذاشته و زمینه همزمان سازی سیکل قاعدگی را فراهم کند (۲۵).

فرومون های جنسی بر زمان آغاز بلوغ در جنس نر نیز تأثیرگذار هستند. واندنبرگ نشان داد که در موش های خانگی نر جوان که با یک نر بالغ پرورش یافته‌اند، توسعه اندام تناسلی همراه با تأخیر صورت گرفته است، درحالی‌که بلوغ جنسی در نرهایی که با ماده‌های بالغ پرورش یافته‌اند با سرعت بیشتری همراه بوده است (۲۷). در موش های آهویی چمنزار وقتی که در گروههای مرکب از هر دو جنس یا همگی نر پرورش یافته باشند یا اینکه یک روز در میان در معرض ادرار نر قرارگرفته باشند، بلوغ همراه با تأخیر گزارش شده است (۳). در آزمایشاتی که توسط امیلی ریزمن و همکاران در مورد زمان بلوغ در وول های کالیفرنیایی صورت گرفت، مشخص شد نرهایی که پس از گرفتن از شیر در بستر خانواده و مخصوصاً مادر پرورش یافته بودند، نسبت به آن دسته از نرهایی که در بستر تمیز یا در بستر وول های غریبه رشد کردند دچار تأخیر در بلوغ شدند (۲۲).

گاهی نیز دیده شده که آلودگی های زیست محیطی با خواص استروژنی در دوزهای بالا سبب تغییرات دائمی در بافتهای تناسلی نر شده است. در تحقیقات الیور پوتز و همکارانش مشخص شد که ماده استرادیولتریبنزوات در دوزهای پایین در موش های صحرایی ۳۵ روزه، باعث افزایش اندازه اندام تناسلی می‌شود که این می‌تواند پیشرفت احتمالی بلوغ را نشان دهد، اما بکار بردن دوزهای بالا از ماده فوق باعث کاهش عمکرد تناسلی و زنانه شدن ویژگیهای تناسلی می‌شود (۲۱).

براساس مطالعات صورت گرفته رابطه میان فرومونهای جنسی و شروع بلوغ در جانداران مختلف نشان دهنده تأثیر آنها بعنوان یکی از عوامل موثر و قوی در این رابطه می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

این تحقیق نیز بعنوان ادامه تحقیقات قبلی در پی یافتن رابطه میان فرومون های جنسی و سطح هورمون تستوسترون (بعنوان نشانگر آغاز بلوغ) به تفکیک فرومون های والدینی و غریبه در موش های صحرایی نژاد ویستار می‌باشد. تفاوت عمده پژوهش حاضر نسبت به پژوهش‌های پیشین را می‌توان در دو بخش مختلف عنوان نمود، در این تحقیق برای اولین بار تأثیر فرومون های جنسی والدینی و غریبه بر نوزادان نر موش های صحرایی نژاد ویستار مورد بررسی قرار می‌گیرد. در ضمن نحوه دریافت فرومون ها برخلاف تحقیقات پیشین که عمدتاً از طریق تماس مستقیم بوده، در این تحقیق براساس این فرضیه بوده که فرومون ها می‌توانند از طریق جریان هوا انتقال یابند.

مواد و روشها

تعداد ۲۵ موش صحرایی ماده و ۱۴ موش صحرایی نر در محدوده وزنی ۲۰۰-۱۸۰ گرم از مؤسسه واکسن و سرمسازی شیراز خریداری و در اتاق حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان نگهداری شدند. دمای هوای اتاق حیوانات در محدوده ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد حفظ می‌شد و شرایط نوری بصورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی تنظیم شده و شرایط تهویه نیز بصورت مطلوبی مهیا شده بود.

برای اینکه بتوانیم تأثیر فرومون های جنسی والدینی و غریبه را بر زمان شروع بلوغ نوزادان موش صحرایی نر بررسی کنیم، بایستی قفسی طراحی می‌کردیم که بتواند فقط بوی فرومون های فرار و غیرفرار را به نوزادان نر انتقال دهد (همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد) برای این منظور قفس‌هایی فلزی ساخته شد که دارای دو یا سه قسمت مجزا بودند. در یک طرف قفس که خود شامل دو قسمت بود، موش های صحرایی نر یا ماده‌ای قرارگرفتند که قرار بود اثر فرومون های آنها بر موش های صحرایی نر نوزاد مورد بررسی قرار گیرند و یک دیواره فلزی این دو بخش را از قسمتی که موش های صحرایی نر نوزاد قرارگرفته‌اند جدا کرده است. در وسط این دیواره فلزی هواکشی تعبیه گردیده که باعث شده بوی موش صحرایی ماده یا نر یا هر دو، به نوزادان نر انتقال یابد. درب قفس ها با توری فلزی ساخته شده و درون آنها سوراخ‌هایی جهت در دسترس قرارگیری آب و غذا ایجاد شد. روی درب قفس ها با پلاستیک شفاف پوشیده شد تا از اینکه فقط بوی موش های صحرایی ماده یا نر همان قفس به نوزادان نر می‌رسد مطمئن شویم. جهت انجام این تحقیق ۸ قفس مخصوص ساخته شد.

شکل ۱- قفس طراحی شده

پس از خریداری موش های صحرایی نر و ماده، آنها جهت عادت کردن به محیط حدود یک هفته بصورت جدا از هم در اتاق حیوانات نگهداری شدند و پس از آن جهت شروع کار باید جفت‌ها کنار هم قرارداده می‌شدند. برای اطمینان از انجام جفت‌گیری و ایجاد بارداری همزمان در موش های صحرایی ماده، ابتدا به آنها آمپول استرادیولوالرات و پروژسترون تزریق کردیم. به این صورت که آمپولهای استرادیول والرات را بصورت ۱۰ میلی‌گرمی از داروخانه تهیه و در ۱۸ میلی‌لیتر روغن زیتون خوراکی حل کرده و سپس مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر از محلول حاصل به عضله پای موش های صحرایی ماده تزریق کردیم. پس از گذشت ۴۲ ساعت، آمپول پروژسترون را که بصورت ۵۰ میلی‌گرمی از داروخانه تهیه شده بود، در ۱۸ میلی‌لیتر روغن زیتون خوراکی حل و ۰/۲ میلی‌لیتر از آن با سرنگ انسولین به عضله پا تزریق کردیم (۱).

Archive of SID

www.SID.ir

پس از گذشت ۶ ساعت جفت‌ها کنار هم قرارداده شدند. بصورتی که دو موش صحرایی ماده در کنار یک موش صحرایی نر قرار گرفتند. در اکثر آنها عمل جفت‌گیری انجام شد. پس از اتمام دوره بارداری ۲۱ روزه و متولد شدن نوزادان موش صحرایی، آنها از همان بدو تولد در معرض فرومون قرارگرفتند، به‌گونه‌ای که در یک سمت نوزادان به همراه مادر (جهت شیر خوردن) قرار می‌گرفتند و در طرف دیگر موش های صحرایی قرارمی‌گرفتند که قرار بود تأثیر فرومون‌های آنها روی نوزادان نر مورد بررسی قرارگیرد. غیر از گروهی که بنا بود تأثیر فرومون‌های مادری یا پدر و مادر بر زمان شروع بلوغ آنها مورد بررسی قرارگیرد، در بقیه‌ی گروهها پس از اتمام زمان شیر خوردن (۲۱ روز)، مادر بطور کلی از قفس خارج شده تا فقط تأثیر فرومون‌های پدر یا نر غریبه یا ماده غریبه یا هر دو مورد بررسی قرار گیرد.

لازم به ذکر است که ماده‌های غریبه‌ای که در این تحقیق استفاده شدند نه در حالت شیردهی و نه در حالت بارداری بودند. همچنین نرهای غریبه که از فرومون آنها استفاده شد بصورتی مجزا نه در کنار ماده‌ها نگهداری شده بودند. موش های صحرایی نر نابالغ تا ۵۵ روز فرومون‌های مورد نظر را از طریق هواکش تعبیه شده دریافت کردند، و پس از پایان روز ۵۵ام، جهت اندازه‌گیری سطح تستوسترون سرم، عمل خونگیری از قلب آنها صورت گرفت. مقایسه میزان تستوسترون در گروههای مورد آزمایش می‌تواند نشان‌دهنده‌ی تفاوت احتمالی در زمان شروع بلوغ باشد. خونگیری در روز پنجاه و پنجم پس از تولد از موش های صحرایی نر صورت گرفت. جهت خونگیری، آنها را با کلروفرم بیهوش کرده و از قلب آنها خون گرفته می‌شود. پس از آن، نمونه‌ها سانتریفیوژ شده و سرم آنها جداسازی شد. سرم‌ها تا زمانی که قرار بود همه‌ی آنها به آزمایشگاه فرستاده شوند در دمای ۲۳- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند.

آزمایش هورمونی در تمامی نمونه‌های خونی توسط کیت‌های Free Testosteron بوسیله روش الیزا انجام شد. جهت انجام تجزیه و تحلیل و مقایسه گروهها نیز موش های صحرایی به ۶ گروه دسته‌بندی شدند که هر گروه شامل ۸ موش صحرایی بود.

گروه۱- موش های صحرایی نر نوزاد با مادر. این گروه تا زمان خون‌گیری فقط در معرض فرومون‌های مادری بودند.

گروه۲- نوزادان موش صحرایی نر با پدر و مادر. این گروه تا زمان خونگیری در معرض فرومون‌های پدر و مادر قرار گرفتند (پس از اتمام شیرخوردن، مادر به قسمتی که پدر در آنجا قرارگرفته بود منتقل شد اما وسط این قسمت توسط یک صفحه فلزی جدا شد تا از جفتگیری مجدد پدر و مادر جلوگیری شود)

گروه ۳- نوزادان موش صحرایی نر با ماده غریبه، این گروه از بدو تولد تا زمان خون‌گیری، فرومون‌های یک ماده غریبه را که به دور از نر نگهداری شده بود دریافت کردند. پس از اتمام شیرخوردن، مادر از کنار آنها برداشته شد.

گروه۴- نوزادان موش صحرایی نر با نر غریبه. این گروه از بدو تولد تا زمان خون‌گیری در معرض فرومون‌های یک نر غریبه که دور از ماده نگهداری شده بود، قرارگرفتند. پس از اتمام شیرخوردن، مادر از کنار آنها برداشته شد.

گروه۵- نوزادان موش صحرایی نر با پدر، این گروه از بدو تولد تا زمان خون‌گیری، فرومون‌های پدری را دریافت کردند. پس از اتمام شیرخوردن، مادر از کنار آنها برداشته شد.

گروه۶- نوزادان موش صحرایی نر با نر و ماده غریبه، این گروه از بدو تولد تا زمان خون‌گیری، فرومون‌های یک نر و یک ماده غریبه را دریافت کردند و پس از اتمام شیرخوردن، مادر از کنار آنها برداشته شد. لازم به ذکر است فضایی که نر و ماده غریبه در آن قرارگرفته بودند، به دو قسمت تقسیم شد تا از جفت‌گیری نر و ماده مورد نظر جلوگیری شود.

Archive of SID

www.SID.ir

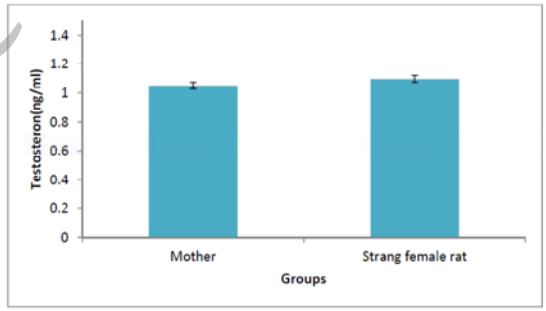
پس از جمع‌آوری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 21 پردازش آنها صورت گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده های موجود از آزمون T مستقل در اختلاف سطح معنی‌داری (P=0.05) استفاده شد.

نتایج

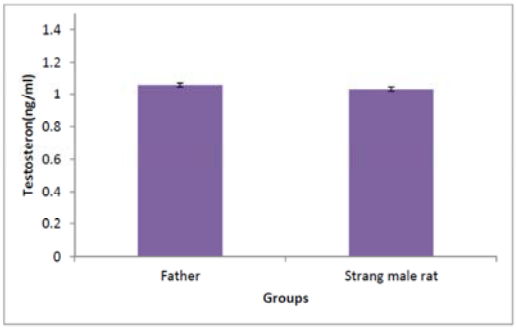
در پژوهش حاضر نتایج بدست آمده به ۳ دسته کلی تقسیم شده و بترتیب هر دسته مورد بررسی قرارگرفته است:

الف) نتایج مربوط به مقایسه تأثیرات فرومون‌های موش صحرایی مادر و موش صحرایی ماده غریبه بر میزان پلاسمایی هورمون تستوسترون نوزادان موش صحرایی نر (جدول ۱ و شکل ۲)

ب) نتایج مربوط به مقایسه تأثیرات فرومون‌های موش صحرایی پدر و موش صحرایی نر غریبه بر میزان پلاسمایی هورمون تستوسترون نوزادان موش صحرایی نر (جدول ۲ و شکل ۳)

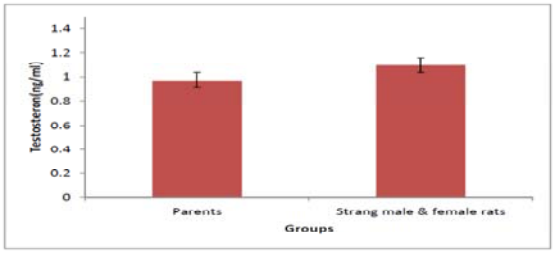


شکل۲- نمودار مقایسه میانگین های سطح پلاسمایی هورمون تستو سترون در گروههای مورد آزمایش مادر و موش صحرایی ماده غریبه



شکل۳- نمودار مقایسه میانگین های سطح پلاسمایی هورمون تستو سترون در گروههای مورد آزمایش پدر و موش صحرایی نرغریبه

ج) نتایج مربوط به مقایسه تأثیرات فرومون های (پدر و مادر) و(نر و ماده غریبه) بر میزان پلاسمائی هورمون تستوسترون نوزادان موش صحرایی نر (جدول ۳ و شکل ۴)



شکل۴- نمودار مقایسه میانگین های سطح پلاسمایی هورمون تستو سترون در گروههای مورد آزمایش پدر و مادر و موش صحرایی های نر و ماده غریبه

با استفاده از آزمون T با دو نمونه مستقل تفاوت های میان گروههای مورد بررسی از نظر سطح تستوسترون مورد بررسی قرارگرفت. پذیرش فرضیه H0 در طرح داده‌ها از نمونه‌های مستقل، بیانگر این مطلب است که اختلافی بین مقادیر میانگین‌ها در دو نمونه مستقل از جامعه از لحاظ آماری وجود ندارد (P>0.05). در مقابل این فرض که بین میانگین‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد فرض H1 با این سطح معنی‌داری قرار می گیرد (P>0.05).

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2$$

μ_1 میانگین نمونه اول و μ_2 میانگین نمونه دوم می‌باشد.

۱- بررسی نتایج حاصل از مقایسه تأثیرات فرومون‌های موش صحرایی مادر و موش صحرایی ماده غریبه بر میزان پلاسمایی هورمون تستوسترون نوزادان موش صحرایی نر.

جدول ۱ نتایج آماری حاصل از مقایسه گروههای مورد آزمایش مادر و موش صحرایی ماده غریبه را توسط آزمون تی مستقل نشان می‌دهد، که این نتایج به ترتیب شامل: میانگین، انحراف‌معیار، خطای معیار میانگین و سطح معنی‌داری دو گروه مورد مقایسه می‌باشد. همانطور که

Archive of SID

www.SID.ir

ملاحظه می‌شود سطح معنی‌داری این آزمون (P> 0.05) است که نشان از پذیرش فرضیه صفر و عدم وجود اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مربوطه می‌باشد. این بدین معنی است که بین میانگین هورمون تستوسترون موش های صحرایی که در معرض فرومونهای مادر و ماده غریبه قرارگرفته‌اند تفاوت معناداری مشاهده نمی‌شود.

جدول ۱- مقایسه سطح پلاسمایی هورمون تستو سترون در گروههای مورد آزمایش مادر و موش صحرایی ماده غریبه

تستوسترون	statistics			Sig
	Mean	std.Deviation	Std.Error Mean	
مادر	۱/۰۵۲	۰/۱۶۸	۰/۵۹۴	
ماده غریبه	۱/۰۹۸	۰/۲	۰/۷۰۷	۰/۷۵۴

جدول ۲- مقایسه سطح پلاسمایی هورمون تستو سترون در گروههای مورد آزمایش پدر و موش صحرایی نر غریبه

تستوسترون	statistics			Sig
	Mean	std.Deviation	Std.Error Mean	
پدر	۱/۰۵۷	۰/۱۴۶	۰/۰۵۵	
نر غریبه	۱/۰۳۳	۰/۱۷	۰/۰۶۴	۰/۵۷۱

جدول ۳- مقایسه سطح پلاسمایی هورمون تستو سترون در گروههای مورد آزمایش پدر و مادر و موش صحرایی های نر و ماده غریبه

تستوسترون	statistics			Sig
	Mean	std.Deviation	Std.Error Mean	
والدین	۰/۹۷	۰/۱۵۳	۰/۶۲۵	
نر غریبه و موش ماده	۱/۰۹	۰/۱۹۵	۰/۸	۰/۱۷۶

۲- بررسی نتایج حاصل از مقایسه تأثیرات فرومون‌های موش صحرایی پدر و موش صحرایی نر غریبه بر میزان پلاسمایی هورمون تستوسترون نوزادان موش صحرایی نر.

جدول ۲ نتایج آماری حاصل از مقایسه گروههای مندرج در جدول را توسط آزمون تی مستقل نشان می‌دهد، که این نتایج بترتیب شامل: میانگین، انحراف معیار، خطای معیار میانگین و سطح معنی‌داری دو گروه مورد مقایسه می‌باشد. همانطور که ملاحظه می‌شود سطح معنی‌داری این آزمون (P> 0.05) است که نشان از پذیرش فرضیه صفر و عدم وجود اختلاف معنی‌داری بین گروههای مربوطه می‌باشد که نشانگر عدم تفاوت معنی‌دار بین میانگین هورمون تستوسترون بین این دو گروه می‌باشد.

۳- بررسی نتایج حاصل از مقایسه تأثیرات فرومون های پدر و مادر و نر و ماده غریبه بر میزان پلاسمایی هورمون تستوسترون نوزادان موش صحرایی نر.

جدول ۳ نتایج آماری حاصل از مقایسه گروههای مندرج در جدول را توسط آزمون تی مستقل نشان می‌دهد، که این نتایج بترتیب شامل: میانگین، انحراف معیار، خطای معیار میانگین و سطح معنی‌داری دو گروه مورد مقایسه می‌باشد. همانطور که ملاحظه می‌شود سطح معنی‌داری این آزمون (P> 0.05) است که نشان از پذیرش فرضیه صفر و عدم وجود اختلاف معنی‌داری بین گروههای مربوطه می‌باشد، یعنی اینکه میانگین سطح تستوسترون در بین دو گروه از موش های صحرایی که در معرض فرومونهای والدین و نر و ماده‌های غریبه قرارگرفته‌اند تفاوت معناداری ندارد.

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج کلی تحقیق بیانگر این است که در بین گروههای مورد بررسی که در معرض فرومون های مادر و ماده غریبه، پدر و نر غریبه و بالاخره والدین و نر و ماده غریبه تفاوتی در میانگین سطح هورمون تستوسترون مشاهده نمی گردد. البته بررسی این نتایج به تفکیک جنس (نر و ماده) نیز نشان‌دهنده تفاوت معناداری نمی‌باشد، بعبارت دیگر تفاوت معناداری بین میانگین سطح تستوسترون موش های صحرایی نوزاد نری که در معرض فرومون‌های جنس نر قرارگرفته‌اند با نوزادانی که در معرض فرومون‌های جنس ماده قرارگرفته‌اند، مشاهده نمی‌گردد.

بحث

در تحقیق حاضر همانگونه که گفته شد ما فقط به بررسی تأثیر فرومون‌هایی پرداختیم که از طریق هواکش تعبیه شده قابل انتقال باشد. موش های صحرایی نابالغ از بدو تولد تا روز پنجاه و پنجم بعد از تولد در معرض این فرومون‌ها قرارگرفتند و پس از آن در خون گیری بعمل آمده از آنها و انجام تست هورمونی توجه شدیم که دریافت این فرومون‌ها تأثیر معناداری بر سطح هورمون تستوسترون در سرم خون آنها نداشته است و بنابراین می‌توان گفت که زمان آغاز بلوغ در تمام گروههای مورد آزمایش یکسان بوده است (در این تحقیق ما سطح تستوسترون خون را برای پیشرفت بلوغ ملاک قرار داده‌ایم). در توجیه این نتایج می‌توان گفت که در بررسی‌های قبلی که توسط رازلدی انجام شده بود، تأثیر فرومون‌های غیرفرار در بیان ژن FOS در هسته‌های مختلف مغزی، در هامسترهای نر بالغ و نابالغ مدنظر بوده است. چنانچه هامسترهای نر بالغ و نابالغ را در معرض پنبه‌های آغشته به ترشحات واژنی جنس ماده قرار داد و بیان ژن FOS را در هسته‌های مختلف مغزی در هامسترهای نر بالغ و نابالغ مشاهده کرد که این امر ممکن است در زمان بندی بلوغ در هامسترهای نر تأثیر داشته باشد (۲۳). اما در تحقیق حاضر، اولاً ما در مورد موش صحرایی صحبت می‌کنیم نه هامستر و نه وول، و ثانیاً ما موش های صحرایی را مستقیم در معرض ترشحات واژنی یا در معرض ادرار ماده یا نر قرار نداده‌ایم و فقط تأثیر فرومون هایی مورد بررسی قرارگرفت که از طریق هوا قابل انتشار باشد.

در تحقیق امیلی ریزمن، وی به این نتیجه رسید که وولهای نر نابالغ که در بستر خانواده پرورش می‌یابند، دیرتر از آن دسته نرهایی که در بستر تمیز پرورش می‌یابند، به بلوغ می‌رسند. او نیز در این تحقیق نرها را مستقیماً در معرض محلول بستر خانواده قرارداد. او در بررسی تأثیر فرومون‌های نر بالغ غریبه را نیز در زمان شروع بلوغ وول‌های نر کالیفرنیایی مورد بررسی قرار داد و در تحقیق خود پی به اثر تسریع کنندگی فرومون‌های نر بالغ غریبه بر روند بلوغ وولها برد. اما به هرحال او نیز وول های نر را مستقیماً در معرض فرومون قرار می‌داد. به‌طوری که هر ۵ روز یکبار ۲۰۰ میلی‌لیتر از محلول بستر مادر یا خانواده یا نر غریبه را به قفس وول های مورد آزمایش اضافه می‌کرد، که شاید اضافه کردن مستقیم محلول بستر توانسته است فرومون‌های آغازگر را به قفس نرهای نابالغ انتقال دهد. طبق گزارشات ریزمن از آنجایی که تمام جانوران مورد آزمایش در تحقیق او از منبع هوای مشترک استفاده می‌کردند بوهای فرار احتمالاً از اهمیت زیادی برخوردار نیستند (۲۲). در صورتی که ما در تحقیق حاضر فرومون‌های جنسی غیرفرار را بطور مستقیم در اختیار موش های صحرایی نر نابالغ قرار نداده‌ایم. شاید اگر آنها در مدت آزمایش بطور مرتب فرومون‌های غیرفرار را از طریق اضافه کردن محلول بستر به قفس یا قرار دادن آنها در معرض پنبه‌های آغشته به فرومون دریافت می‌کردند، تفاوت معناداری در سطوح تستوسترون آنها پس از پایان پنجاه و پنج روزگی دیده می‌شد. علاوه بر آن، عوامل مختلفی می‌توانند پدیده بلوغ را تحت تأثیر قرار دهد. بعنوان مثال در جمعیت‌های طبیعی در وول‌های کالیفرنیایی، آغاز فصل تولیدمثل همزمان با آغاز فصل بارش می‌باشد. یعنی زمانی که پوشش گیاهی سرسبز در دسترس است (۱۱).

Archive of SID

www.SID.ir

در وول‌های کوهستانی نشان داده شده است که مواد موجود در گیاهان سبز، عملکرد تولیدمثلی را راحت‌تر می‌کند (۲). در وول‌های کالیفرنیایی دوره نوری، در دسترس بودن آب و حضور یا عدم حضور پوشش گیاهی سبز بر بلوغ بیضه‌ها اثر می‌گذارد (۱۶). از طرفی تأثیر فرومون‌ها برروی شروع بلوغ زمانی می‌تواند تأثیر قوی داشته باشد که آب و مواد غذایی کافی در دسترس نباشد و محدودیت در بدست آوردن آب و غذا وجود داشته باشد (۲۲).

در این پژوهش، موش های صحرایی از آب و غذای کافی برخوردار بودند و همچنین هیچ‌گونه فشاری از لحاظ ازدیاد تراکم بر آنها حاکم نبود، اطلاعات درباره وول‌های کالیفرنیایی از این فرضیه حمایت می‌کند که علائم شیمیایی می‌توانند در تأخیر بلوغ جنسی در جمعیت‌های متراکم در طبیعت مؤثر باشند. وقتی تراکم جمعیت زیاد باشد، وول‌ها ازدیاد جمعیت را از طریق تأخیر زمان بلوغ کنترل می‌کنند (۴).

بنابراین می‌توان گفت که فرضیه این تحقیق که بیانگر تفاوت بین سطح تستوسترون موش های صحرایی نر نابالغی که به تفکیک در معرض فرومون‌های جنسی مادر– ماده غریبه، پدر–نر غریبه و پدر و مادر– نر و ماده غریبه قرارگرفته‌اند، رد می‌شود که دلایل آن را احتمالاً باید در ویژگی‌های زیستی نوع پستاندار (موش صحرایی نژاد ویستار)، روش انتقال فرومون (از طریق هوا) و یا وضعیت زیستی این پستاندار (نبود تراکم و وجود آب و غذای کافی) جستجو نمود که موضوعات پژوهش‌های آینده در این زمینه را فراهم می‌آورد.

تشکر و قدردانی

هنری که در امتداد ارزش‌هایش حرکت کند هنری است رهایی بخش که سر چشمه در نور و عشق دارد و به دریای عقل و معرفت راه می گشاید. مسئولیت ما تنها در برابر فرهنگ ملی و قومی خودش نیست؛ بلکه مسئولیتی الهی و جهانی دارد. با این مقدمه نیت خود را بر آن می دارم تا از اساتید گرامی جناب آقای دکتر حیدربابا و جناب آقای دکتر حسینی که مرا در انجام این مهم یاری کرده اند قدردانی کنم.

منابع

1.Baddaloo EGY, Chulow FV. (1981) Effects of the male on growth, sexual maturation, and ovulation of young female meadow voles, Microtus pennsylvanicus. Canadian Journal of Zoology (Can J Zool).;59:415–421

2.Berger PJ, Negus NC, Sanders EH, Gardner PD. (1981).Chemical triggering of reproduction in Mirotus montanus.Science.;124:69-70

3.Bradley EL, Terman CR. (1981) Serum testosterone concentrations in male prairie deer mice(Peromyscus maniculatus bairdii) from laboratory populations. Journal of Mammalogy.;62:811-814

4.Bronson FH, Macmillan B.(1983) Hormonal responses to primer pheromones. In Pheromones and Reproduction in Mammals (ed. Vandenbergh JG.). New York: Academic Press;.175-199.

5.Champlin AK.(1971) Suppression of oestrus in grouped mice: the effects of various densities and the possible nature of the stimulus. International Journal of Fertility & Sterility.; 27:233-241

6.Coppola DM, Vandenbergh JG. Effect of density, duration of grouping and age of urine stimulus on the puberty delay pheromone in female mice. J. Reprod. Fertil. 1985;73:517–522.

7.Drickamer LC.(1983) Effect of period of grouping of donors and duration of stimulus exposure on delay of puberty in female mice by a urinary chemosignals from grouped females. International Journal of Fertility & Sterility.; 69:723–727

8.Epple G, Katz Y.(1980) Social influences on first reproductive success and related behaviors in the saddle-back tamarin Saguinus fuscicollis, CallitrichidaeInternational Journal of Primatology.; 1:171–175.

9.Handelmann G, Ravizza R, Ray WJ.(1980) Social dominance determines estrous entrainment among female hamsters. Hormones and Behavior.; 14:107–115.

Archive of SID

www.SID.ir

10.Keverne EB. de la Riva C.(1982) Pheromones in mice: reciprocal interaction between the nose and brain. Nature. 296:148- 150.

11.Lidicker WZ.(1980) The social biology of the California vole.Biologist.;62:46-55

12.Lombardi JR, Whitsett JM.(1980) Effects of urine from conspecifics on sexual maturation in female prairie deermice, Peromyscus maniculatus bairdii. Journal of Mammalogy.; 61:766–768

13.Mann DR, Plant TM.(2002) Leptin and pubertal development. Semin Reproductive. Medicine.; 20:93-102.

14.McClintock MK.(2000) Human pheromones: primers, releasers, signallers or modulators? In: Wallen K, Schneider E, editors. Reproduction in context. Cambridge:MA: MIT;. 335– 420.

15.Meredith M.(1986) Vomeronasal organ removal before sexual experience impairs male hamster mating behavior. Physiol Behav.; 36:737–743

16.Nelson RJ, Dark J, Zucker I.(1984) Influence of photoperiod, nutrition, and water availability on reproduction of male California voles (Microtus califonicus). International Journal of Fertility & Sterility.;69:473-477

17.Novotny MV.(2003) Pheromones, binding proteins and receptor responses in rodents. Biochemical Society Transactions.; 31:117–122.

18.Novotny M, Jemiolo B, Harvey S, Wiesler D, Marchlewska-Koj A.(1986) Adrenal-mediated endogenous metabolites inhibit puberty in female mice. Science.;23:722–725.

19.Novotny M, Jemiolo B, Wiesler D, Ma W, Harvey S, Xu F, Xie T, Carmack M.(1999) A unique urinary constituent, 6-hydroxy-6-methyl-3- heptanone, is a pheromone that accelerates puberty in female mice. The Journal of Biological Chemistry; 6:377-383.

20.Novotny MV, Weidong M, Wiesler D, Zidek L. (1999) Positive identification of the puberty-accelerating pheromone of the house mouse: the volatile ligands associating with the major urinary protein. roc. Royal. Society. Lond. B. Biology Science.;266:2017–2022

21.Putz OL, Schwartz CB, LeBlanc GA, Cooper RL, Prins GS.(2001) Neonatal Low-and High-Dose Exposure to Estradiol Benzoate in the male rat. International Journal of Reproductive BioMedicine.;65:1506-1517. 210

22.Rissman EF, Sheffield SD, Kretzmann MB, Fortune JE, Johnstone RE.(1984) Chemical Cues From Families Delay Puberty in Male California Voles. International Journal of Reproductive BioMedicine.;31:324-331

23.Romeo RD, Wade J, Venier JE, Sisk CL. (1999) Androgenic regulation of hypothalamic aromatase activity in prepubertal and postpubertal male golden hamsters. Endocrinology.; 140(1):112– 117

24.Schwende FJ, Wiesler D, Jorgenson JW, Carmack M, Novotny MV.(1986) Urinary volatile constituents of the house mouse, Mus musculus, and their endocrine dependency. Journal of Chemical Ecology.;12:277–296.

25.Stern K, McClintock MK.(1998) Regulation of ovulation by human pheromones.Nature; 392: 177–179

26.Vandenbergh JG.(1987) Regulation of puberty and its consequences on population dynamics of mice. American Zoologist.; 27:891–898

27.Vandenbergh JG.(1971) The influence of social environment on sexual maturation in male mice. International Journal of Fertility & Sterility.;24:383-390

Archive of SID

www.SID.ir

Assessment blood testosterone levels in neonatal rats after contact with parental and strangers pheromones

Rahimi M.[1], Aghababa H.[1] and Hosseini S.E.[2]

[1] **Biology Dept., Islamic Azad University, Arsanjan Branch, Arsanjan, I.R. of Iran**

[2] **Biology Dept., Islamic Azad University, Shiraz Branch, Shiraz, I.R. of Iran**

Abstract

Pheromones are exocrine secretions of the body that has spread from someone around and can cause behavioral responses in other members of the same species. Pheromones in mammals often receipt by special organ called *Vomeronasal*. The main objective of this study was to evaluate the effect of parental and strangers sex pheromones on the puberty beginning in immature male rats. Testing consisted of six groups, each group consisting of 8 rats. In each group male rats were exposed to sexual pheromones from birth. the first group, received maternal pheromones, second group, received the stranger female pheromones, the third group received father pheromones , the fourth group received stranger male pheromones, fifth group received parents pheromones and eventually the six group received strangers male and female pheromones. Immature male rats received pheromones through the ventilator that was placed in the cage. Not found significant difference in testosterone level after hormonal testing in groups. The results of this study indicate pheromones inhaled through the air not have effect on the puberty beginning in immature male rats and it seems pheromones influence puberty beginning in immature male rats if the pheromones directly received by the immature male rats.

Key words: Sexual pheromones, puberty, Rat.

Archive of SID

www.SID.ir