اثر پروستاگلاندین F_2 آلفا اگزوژن بر فعالیت‌های جنسی وزغ نر بالغ Bufo Viridis

دکتر پروین رستمی - آزیتا پروانه تفرشی
گروه زیست‌شناسی - دانشگاه تربیت معلم

- چکیده:

به منظور بررسی اثرات پروستاگلاندین‌ها بر رفتار جنسی و تغییرات بافت بیضه در وزغ نر آزمایشهایی روی وزغهای دست نخورده و هیپوفیزکتومی شده انجام شد. حیوانات دست نخورده هر یک ۱۰ میکروگرم پروستاگلاندین F_2 آلفا (دوز مؤثر) دریافت می‌کردند. رفتار جنسی در برگرفتن قورباغه ماده در این حیوانات دیده شد در حالی که وزغهایی که پروستاگلاندین $F_2\alpha$ دریافت نکرده بودند، این رفتار را نشان ندادند. ضمناً کاهش قطر لوله‌های سمینیفر، همچنین کاهش تعداد سلولهای اسپرم‌زا در مقایسه با حیوانات شاهد در آنها دیده شد. وزغهای هیپوفیزکتومی شده در پنج گروه جداگانه به ترتیب محلول رینگر پروستاگلاندین $F_2\alpha$، عصاره هموژنیزه شده هیپوفیز ماده، عصاره هیپوفیز همراه با پروستاگلاندین F_2 آلفا و همچنین HCG همراه با پروستاگلاندین F_2 آلفا دریافت می‌داشتند. نتایج نشان می‌دهد که به جز گروههای اول و دوم در سه گروه دیگر رفتار در برگیری وزغ ماده مشاهده شد. در گروه چهارم افزایش سلولهای اسپرم‌زا و افزایش قطر لوله‌های سمی نیفر دیده شد. بررسی اخیر نشان می‌دهد که پروستاگلاندین F_2 آلفا موجب بروز رفتار جنسی می‌شود و احتمالاً این تأثیر از طریق محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - گناد انجام می‌گیرد. با توجه به اینکه غده هیپوفیز به تنهایی موجب بروز رفتار جنسی می‌گردد ولی همراه با پروستاگلاندین F_2 آلفا بیضه‌ها را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد می‌توان نتیجه گرفت که تأثیر غده هیپوفیز بر بیضه‌ها و بروز رفتار جنسی با واسطه برخی فاکتورهای موضعی و احتمالاً پروستاگلاندین F_2 آلفا انجام می‌گیرد.

- مقدمه:

پیشنهاد شده که پروستاگلاندینها در تنظیم رفتارهای جنسی مهره‌داران نقش مهمّی ایفاء می‌کنند. بررسیهای انجام شده روی ماهیها نشان داده است که پروستاگلاندین‌ها رفتار تخمریزی و آزادسازی تخمک را در ماهی ماده القاء می‌کنند(۱۰). به علاوه تزریق پروستاگلاندین‌ها در دوزیستان ماده رفتار تخمک‌ریزی (۶) و القاء انقباضات شکمی و آزادسازی تخمک را موجب می‌شود (۹). مطالعات اخیر در دوزیستان ماده نشان داده است که پروستاگلاندین‌ها مانع بروز جفتگیری و تولید صدا می‌گردند (۶).

سنجش پروستاگلاندین F_2 (PG) آلفا در پلاسمای قورباغه نر طی ماههای سال نشان داده است که سنتز این ماده به سطح استرادیول بستگی دارد و ماده اخیر در فعالیتهای تولید مثلی دخالت دارد (۷). تجاربی که روی خزندگان انجام گردیده تأثیراتی متفاوت نشان داده است. در برخی گونه‌ها پروستاگلاندینها مانع بروز رفتار جنسی می‌گردند و در برخی دیگر برعکس عمل می‌کنند (۱۱). پروستاگلاندینها بر گونه‌های پستانداران نیز اثرات متفاوت دارند. در موشها پروستاگلاندین E_2 آزادسازی LH را القاء می‌کند (۵)، در هامستر اثر استروژن را افزایش می‌دهد (۴). در موش نر بالغ تزریق پروستاگلاندینهای F_1 و F_2 آلفا موجب کاهش چشمگیر اسپرم‌زایی اولیه طی مرحله تقسیم میوز می‌شود که در نهایت باعث کاهش اسپرماتیدها در مرحله ۷ در مقایسه با جانوران کنترل است و اثر پروستاگلاندین F_2 آلفا از پروستاگلاندین F_1 آلفا شدیدتر است (۱). در انسان پروستاگلاندینها انقباض لوله‌های سمی نیفر را القاء می‌کنند. (۱۲)

از طرفی دیگر برخی مطالعات روی موش نشان داده است که پروستاگلاندین F_2 آلفا ساختار اسپرم را دچار اخلال می‌سازد (۸).

هدف تحقیق حاضر بررسی اثر پروستاگلاندین F_2 آلفا بر رفتار جنسی وزغ نر (Bufo-Viridis) می‌باشد. همچنین تأثیر پروستاگلاندین F_2 آلفا بر محور هیپوفیز - گناد نیز مطالعه شده است.

[Downloaded from jsci.khu.ac.ir on 2024-11-26]

ـ مواد و روش:

جانوران و نگاهداری آنها:

وزغهای نر به وزن ۴۵ـ۵۰ گرم در ظرفهای شیشه‌ای به ابعاد ۳۰×۲۰×۶۰ سانتیمتر محتوی آب لوله‌کشی تهران نگاهداری می‌شدند و هر هفته آب ظرفها تعویض می‌شد.

در مدت آزمایش حرارت اطاق ۱ ± ۲۰ درجه سانتیگراد حفظ می‌شد و جانوران از جگر مرغ تغذیه می‌شدند و از فتوپریود ۱۲ ساعت روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی استفاده می‌گردید. مطالعات روی هفت گروه و هر گروه بین ۸ تا ۱۰ وزغ نر انجام گردید.

روشهای جراحی:

وزغهای نر را بادی اتیل اتر بیحس کرده بوسیله مته دندانپزشکی سوراخ کوچکی در ناحیه استخوان کام مجاور محل قرارگیری هیپوفیز ایجاد کرده، غده هیپوفیز را کاملاً خارج ساخته سپس جانوران هیپوفیزکتومی شده بمدت یک هفته پس از جراحی در شرایط آزمایشگاهی قرار داده می‌شدند.

هورمونها و داروها:

برای تزریق به وزغهای نر از غده هیپوفیز هموژنیزه شده وزغ ماده استفاده شد. $PGF_2\alpha$ (۰/۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) را در محلول رینگر حل کرده و از دوزهای ۵ تا ۳۰ میکروگرم در لیتر برای هر جانور استفاده گردید. سپس دوز مؤثر ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر برای هر وزغ تجربی انتخاب گردید.

از هورمون HCG به صورت محلول با غلظت 30 IU (از محلول مادر 1500 IU) استفاده شد. تزریقات به صورت درون صفاقی انجام شده است.

روشهای تجربی:

به منظور بررسی اثر $PGF_2\alpha$ بر رفتار جنسی (منظور از رفتار جنسی در این مقاله در آغوش‌گیری وزغ ماده توسط وزغ نر است) و بررسی محور عملکرد آن تجربیات زیر روی وزغهای نر به وزن ۴۵ـ۵۰ گرم به روشهای زیر انجام گرفت.

۱ـ حیوانات دست نخورده

۲ـ حیوانات هیپوفیزکتومی شده

۱ـ حیوانات دست‌نخورده

در هرگروه ۴ وزغ نر و ۴ وزغ ماده کنار هم قرار داده شده رفتار جنسی مورد بررسی قرار می‌گرفت. گروههای تجربی نر ۱۰ میکروگرم پروستاگلاندین F_2 آلفا دریافت می‌کردند سپس در کنار وزغهای ماده قرار داده شده رفتار جنسی بررسی می‌شد. ۲۴ ساعت بعد حیوانات نر به دنبال بیهوشی کشته شده بیضه آنها خارج و برای مطالعات بافتی آماده می‌گردید.

۲ـ حیوانات هیپوفیزکتومی شده

وزغهای نر پس از برداشته شدن هیپوفیز به مدت دو هفته در شرایط آزمایشگاه نگهداری می‌شدند تا اثرات هورمونهای هیپوفیزی موجود در خون از بین برود سپس در پنج گروه به شرح زیر قرار می‌گرفتند.

در هر گروه ۸ تا ۱۰ وزغ مورد آزمایش قرا رگرفتند.

گروه اول ـ هر وزغ تنها رینگر دو زیست دریافت می‌کرد (۱ میلی‌لیتر).

گروه دوم ـ هر وزغ ۱۰ میکروگرم $PGF_2\alpha$ در یک میلی‌لیتر دریافت می‌کرد.

گروه سوم ـ هر وزغ عصاره ۲ هیپوفیز هموژنیزه شده وزغ ماده را دریافت می‌کرد (تزریق ۲ عصاره هیپوفیز ماده به هر وزغ نر رفتار جنسی را القاء می‌کند).

گروه چهارم ـ هر وزغ همزمان با عصاره ۲ هیپوفیز وزغ ماده، ۱۰ میکروگرم $PGF_2\alpha$ نیز دریافت می‌کرد.

گروه پنجم ـ هر وزغ بطور همزمان HCG با دوز 30 IU و ۱۰ میکروگرم $PGF_2\alpha$ دریافت می‌کرد.

در هر گروه به تعداد وزغهای نر وزغهای ماده قرار داده و رفتار جنسی بررسی می‌گردید. ۲۴ ساعت بعد وزغهای نر به دنبال بیهوشی کشته شده بیضه آنها خارج و برای مطالعات بافتی آماده می‌گردید.

مطالعه بافت بیضه و روشهای آماری:

بیضه وزغها را پس از ثابت کردن در محلول بوئن، در پارافین قالب‌گیری کرده سپس برشهای سری عرضی به قطر ۶ میکرون تهیه می‌گردید. برشها در هماتوکسیلین و ائوزین رنگامیزی شده با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار می‌گرفتند. در مقاطع بیضه‌ها قطر لوله‌های سمی نیفر در درشتنمایی ۱۰× و تعداد سلولهای اسپرماتوژنیک در درشتنمایی ۴۰ میکروسکوپ نوری اندازه‌گیری و

[Downloaded from jsci.khu.ac.ir on 2024-11-26]

شمارش می‌گردید و پس از تعیین میانگین با استفاده از آزمون t در صد احتمال P تعیین می‌شد در مورد حیوانات هیپوفیزکتومی شده علاوه بر آزمون t، آنالیز واریانس نیز انجام شد.

نتایج:

۱ـ در حیوانات دست نخورده (هیپوفیزکتومی نشده)

با تزریق ۱۰ میکروگرم $PGF_2\alpha$ پس از ۷ تا ۱۲ ساعت رفتار جنسی (در برگیری وزغ ماده) و آزادسازی اسپرم مشاهده شد. در حالیکه حیوانات کنترل رفتار جنسی نشان ندادند ضمناً در بافت بیضه وزغهای تجربی نسبت به کنترل کاهش قابل ملاحظه‌ای در قطر لوله‌ها و تعداد برخی سلولهای اسپرم‌زا (اسپرماتوسیت و اسپرماتید)، آزادسازی اسپرم از لوله‌ها و خارج شدن از حالت دستجاتی (شکل‌های ۱ و ۲) دیده شد.

۲ـ در حیوانات هیپوفیزکتومی شده

ـ گروه اول ـ هیپوفیزکتومی شده کنترل (منحصراً محلول دیگر دریافت می‌کردند): در این حیوانات رفتار جنسی مشاهده نشد و در لوله‌های سمی نیفر آشفتگی و بی‌نظمی دیده شد (شکل ۳)

ـ گروه دوم ـ هیپوفیزکتومی شده با تزریق پروستاگلاندین F_2 آلفا: در این حیوانات رفتار جنسی مشاهده نشد ولی افزایش معنی‌دار در تعداد سلولهای اسپرماتیدی و دستجاب اسپرمی نسبت به کنترل مشاهده شد.

ـ گروه سوم ـ هیپوفیزکتومی شده با تزریق ۲ عصاره هیپوفیز هوموژنیزه شده وزغ ماده: در این حیوانات رفتار جنسی مشاهده شده. قطر لوله‌ها افزایش یافته همچنین در میزان دستجات اسپرمی کاهش معنی‌دار دیده شد.

ـ گروه چهارم ـ هیپوفیزکتومی شده با تزریق همزمان عصاره ۲ هیپوفیز ماده و $PGF_2\alpha$: در این حیوانات رفتار جنسی مشاهده شد. قطر لوله‌ها و تعداد اسپرماتوگونی‌های ۱ و ۲ افزایش نشان داده دستجات اسپرمی به صفر گرائیدند.

ـ گروه پنجم ـ هیپوفیزکتومی شده با تزریق همزمان $PGF_2\alpha$ و HCG : در این حیوانات نیز رفتار جنسی مشاهده شد ولی اسپرماتوگونی ۲ و دستجات اسپرمی کاهش معنی‌دار نشان دادند.

(هیستوگرامهای ۱ و ۲ و ۳)

ـ بحث و تفسیر:

نتایج نشان می‌دهد که تزریق ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر $PGF_2\alpha$ موجب القاء رفتار جنسی و آزاد سازی اسپرم می‌شود. کاهش معنی‌دار سلولهای اسپرماتوژنیک مؤید اینست که $PGF_2\alpha$ در تکثیر سلولهای جنسی نقشی ندارد بلکه آزادسازی اسپرم را فعال می‌سازد این امر تأکیدی بر یافته‌های Abbatiello[۱] روی موش نر است. کاهش قطر لوله‌ها می‌تواند مؤید انقباض سلولهای میوئیدی جدار لوله سمی نیفر باشد که این امر با یافته‌های Yamamato (۱۹۸۷)[۱۲] مطابقت دارد.

در حیوان هیپوفیزکتومی شده قطر لوله‌ها و تعداد سلولهای اسپرماتوژنیک کاهش می‌یابد که نشانه تأثیر هیپوفیز بر رشد لوله و تکثیر سلولهای جنسی است در اینحال تزریق $PGF_2\alpha$ موجب بروز رفتار جنسی نگردید که نشان دهنده نیاز $PGF_2\alpha$ بر محور هیپوفیزی و گناد و تروپین‌ها برای القاء رفتار جنسی است. نتایج نشان می‌دهد که تزریق $PGF_2\alpha$ در وزغ هیپوفیزکتومی شده بر قطر لوله و تکثیر سلولهای اسپرماتوژنیک بی‌اثر است ولی در تغییر شکل اسپرماتوسیت و تبدیل آن به اسپرماتید و اسپرماتوزوآ مؤثر است. لذا می‌توان پذیرفت که $PGF_2\alpha$ در جهت FSH طبیعی عمل می‌کند.

در اثر تزریق عصاره دو هیپوفیز به حیوانات هیپوفیزکتومی شده افزایش ناچیزی در قطر لوله‌ها و تعداد سلولها و همچنین آزادسازی اسپرم دیده می‌شود که معنی‌دار نیست ولی همین افزایش ناچیز و همچنین بروز رفتار جنسی حاکی از تأثیر گنادوتروپین‌ها در القاء آن می‌باشد.

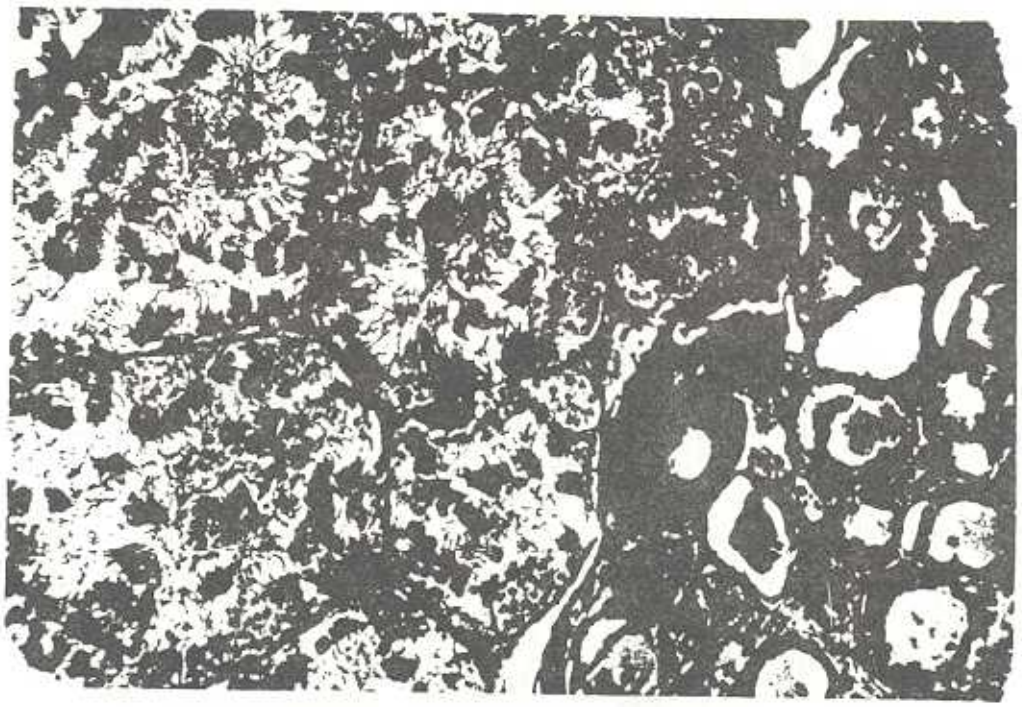
با تزریق $PGF_2\alpha$ همراه با عصارهٔ هیپوفیز مشاهده رفتار جنسی و معنی‌دار بودن افزایش قطر لوله‌ها و تعداد سلولهای اسپرماتوژنیک نشانهٔ تشدید اثر هیپوفیز است. می‌توان احتمال داد که $PGF_2\alpha$ عنوان واسطه تأثیر هورمونهای هیپوفیزی عمل می‌کند. از طرفی همراه کردن HCG با $PGF_2\alpha$ و مشاهدهٔ رفتار جنسی و مقایسه اثرات HCG (مشابه با LH) با عصاره هیپوفیز می‌توان به اثرات FSH و LH پی برد. یافته‌های Stacy و همکاران (۱۹۷۹)[۱۰] و Behrman (۱۹۷۲)[۳] مورد اثر $PGF_2\alpha$ بر رفتار جنسی رت‌های نر و ماده یافته‌های ما را تائید می‌کند. ضمناً محققین مذکور خاطر نشان ساخته‌اند که اثر $PGF_2\alpha$ آزاد سازی LH یک اثر مستقیم بر هیپوفیز نیست بلکه از طریق LHRH و هیپوتالاموس اعمال می‌شود. ضمناً نتایج ما با یافته‌های Alanso Bedate و همکاران (۱۹۹۰)[۲] که به طریق Invitro روی Rana Perezi نر انجام شده و تأثیر GnRH مورد مطالعه قرار گرفته

[Downloaded from jsctkhu.ac.ir on 2024-11-26]

است همسویی دارد. محققین اخیر نتیجه گرفته‌اند که گرچه مکانیسم اصلی کنترل عمل گنادها به عهده گنادو تروپین‌ها است معهذا نقش فاکتورهای موضعی دیگر از جمله پپتیدهای شبه GnRH و پروستاگلاندین‌ها را نباید نادیده گرفت. یافته‌های Lopez-Muniz در ۱۹۸۸[۸] که به کمک میکروسکوپ الکترونی صورت گرفت مؤید تأثیر $PGF_2\alpha$ بر اسپرمیوژنز موش است که با نتایج ما هماهنگی دارد ضمناً محقق مذکور تغییراتی در ساختمان اسپرم را نشان داده است که بعلت عدم دسترسی ما به میکروسکوپ الکترونی این بررسی روی وزغ انجام نگرفت. نتایج آزمایشات Gobbelti و همکاران (۱۹۹۱)[۷] روی سمندر آبی ازاد و در اسارت، و مطالعه تغییرات $PGF_2\alpha$ آندوژن و هورمونهای جنسی نشان دادند که $PGF_2\alpha$ مانند یک مهار کننده فعالیت آندوکرینی بیضه در اواخر فصل تولید مثلی است و از ایجاد لاروهای جوان و غیر مقاوم در فصل سرما جلوگیری می‌کند.

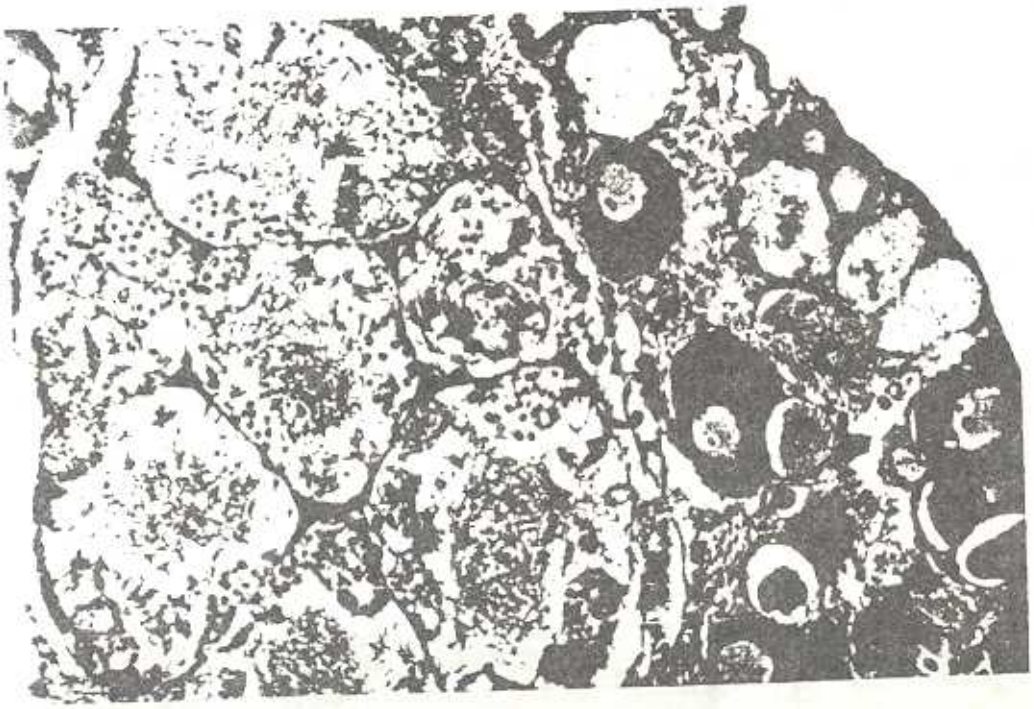
ـ قدردانی:

از همکار گرامی آقای دکتر کاظم پریور که در مطالعات هیستولوژیکی از نظراتشان استفاده کردیم و خانم توراندخت بلوچ‌نژاد دانشجوی دوره دکترای فیزیولوژی که در به کارگیری روشهای تجربی همکاری داشتند تشکر می‌کنیم.

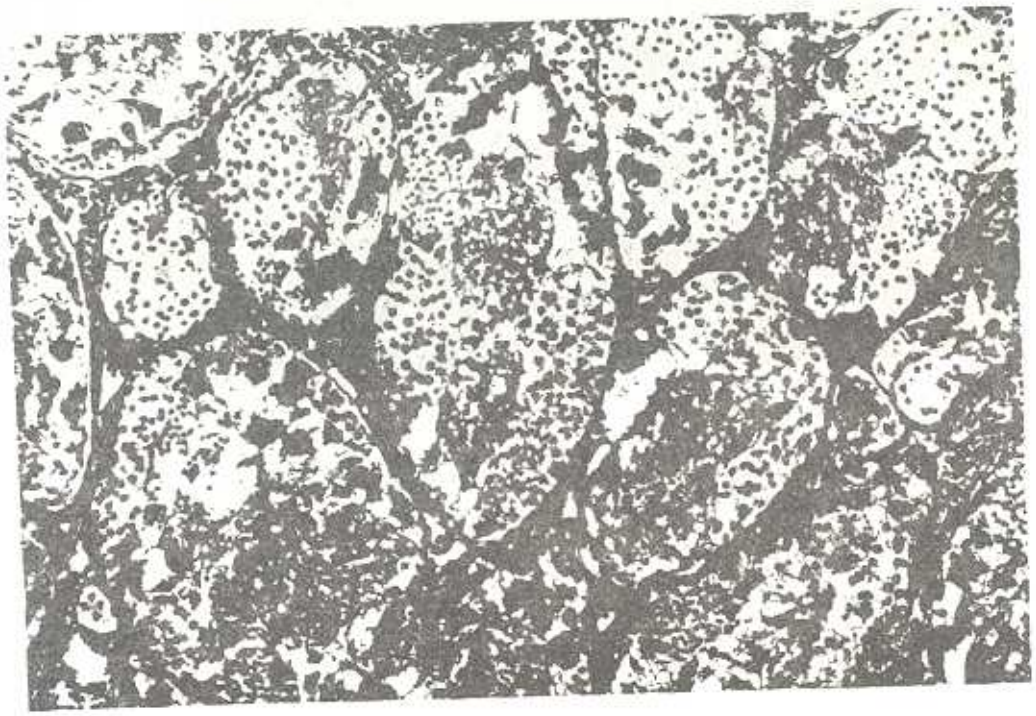


شکل ۱ـ مقطع عرضی لوله‌ها سمینیفر در جانوران کنترل (دست نخورده). ۴۲۵×

[Downloaded from jsci.khu.ac.ir on 2024-11-26]

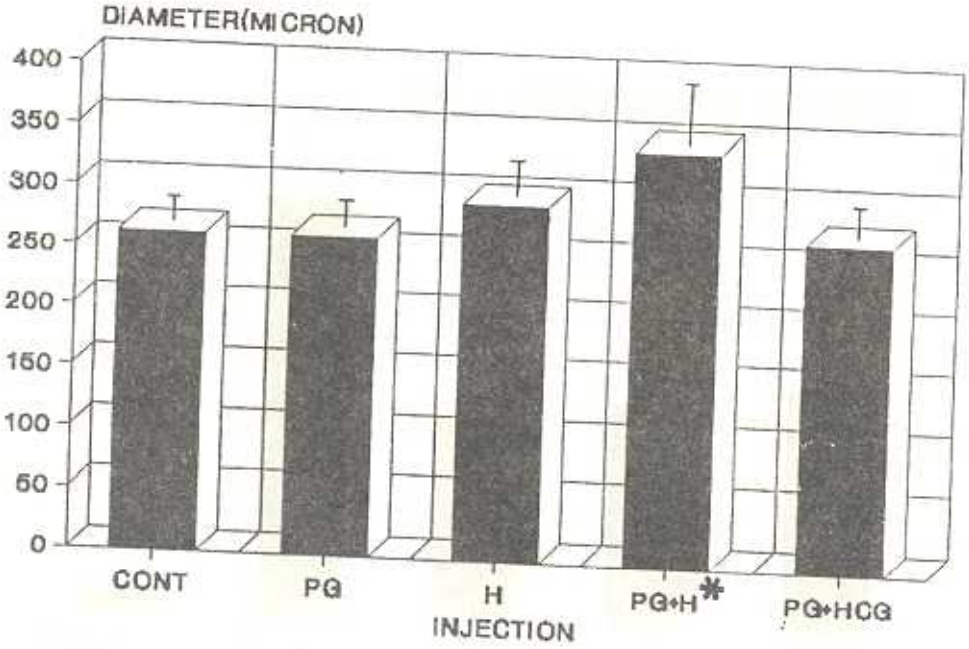


شکل ۲ـ مقطع عرضی لوله‌های سمینیفر پس از تزریق ۱۰ mg پروستاگلاندین $F_{2\alpha}$ در حیوان دست نخورده ۴۲۵×



شکل ۳ـ مقطع عرضی لوله‌های سمینیفر در حیوان هیپوفیزکتومی شده. ۴۲۵×

[Downloaded from jsci.khu.ac.ir on 2024-11-26]



هیستوگرام ۱ـ مقایسه قطر لوله‌های سمینیفر در حیوانات هیپوفیزکتومی شده پس از تیمار با دارو و هورمون‌های مختلف

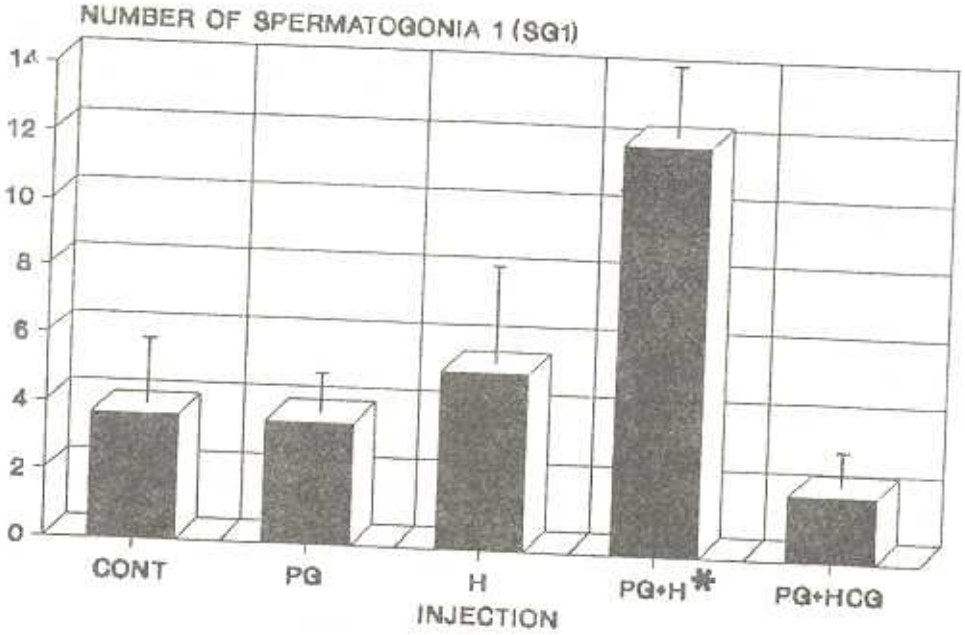
Cont = حیوان هیپوفیزکتومی شده بدون تزریق

PG = پس از تزریق پروستاگلاندین F_2 آلفا

H = پس از تزریق عصاره غده هیپوفیز، PG+H = پس از تزریق عصاره هیپوفیز همراه با پروستاگلاندین F_2 آلفا

PG+HCG = پس از تزریق HCG همراه با پروستاگلاندین F_2 آلفا

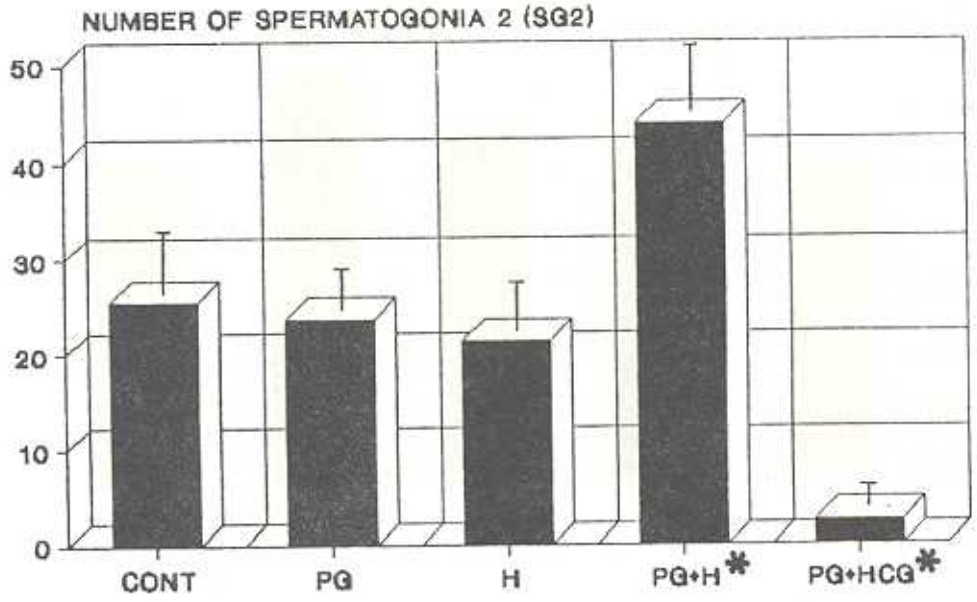
* = معنی‌دار بودن با $P<0/05$



هیستوگرام ۲ـ مقایسه تعداد اسپرماتوگونی‌های ۱ در حیوانات هیپوفیزکتومی شده پس از تیمار با دارو و هورمونهای مختلف * $P<0/05$

(علائم به کار رفته در زیر هیستوگرام ۱ توضیح داده شده است)

[Downloaded from jsci.khu.ac.ir on 2024-11-26]



هیستوگرام ۳ـ مقایسه تعداد سلولهای اسپرماتوگونی ۲ در حیوانات هیپوفیزکتومی شده پس از تیمار با دارو و هورمونهای مختلف
$P<0/05$ * (علائم به کار رفته در زیر هیستوگرام ۱ توضیح داده شده است)

Refereces

1- Abbatiello.E,R, Kaminsky,M,and Weisbroth.S, The effect of prostaglandins F2∝ and F2 on spermatogenesis.Int.J.Fertil 21 : 82-88 1976.

2- Alonzo-Bedate,M. Gancedo,B. Delgado,M.J. A direct effect of gonadotropin-releasing hormone on steroid secretion and oocyte maturation in amphibians. Biology and physiology of amphibians. 103-115,1990.

3- Behrman,H.R. Effect of synthetic gonadotropin releasing hormone GnRH on ovulation blockade by aspirin and indometacin. Prostaglandin 1 :245-58, 1972.

4- Buntin,John D. Prostaglandin E2 induced lordosis in estrogen primed female hamster. Physiology and Behavior, 23 569----576,1979.

5- Chobsien,G.P. Stimulatory effect of prostaglandin E2 on LH release in the rat: Evidence for hypothalamic site of action.Neuroendocrinology, 17 :12-17,1975.

6- Diakow,C. Vasotocin, prostaglandin and female reproductive behavior in frog, Rana pipiens.Horm.Behav. 15 : 86-93,1984.

7- Gobbetti,A. Zerani, M. Botte,V. plasma prostaglandin F2α in the male tritus carnifexllaur during the reproductive annual cycle and effect of exogenous PG on sex hormones. Prostaglandins 41 (1): 67-74,1991.

8- Lopez-Muniz..Effect of PGF2α(at single dose),Med.J. Kagoshinia Univ. 38 (1): 193-198,1986.

9- Schmidt,R.S. Mating call phonotaxis in the female american toad,Gen. and comp. Endocrinology. 55 : 150-156,1984.

10- Stacey,N.E. Central action of prostaglandins in spawning behavior of female gold fish. Physiol and Behav. 22 : 1191-1196,1978.

11- Tokarz, Richard R. Effects of prostaglandins on sexual receptivity in female lizard Anolis carolinensis,Endocrin, 109 (2),1981.

12- Yamamato Masanori. Response of the isolated human seminiferous tubule to prostaglandin F2a,E,E2.The journal of urology, 137 : 345-347,1987.

[Downloaded from jsci.khu.ac.ir on 2024-11-26]