

## RATLARDA SICAK VE SOĞUK STRESİNİN GONADOTROPİNLER VE SEKS STEROİDLERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

### Investigation of the effects of heat and cold stress on the gonadotrophins and sex steroids in rats

Filiz ŞANLI YILMAZ<sup>1</sup>, Ahmet ÜNAL<sup>2</sup>

#### Özet

**Amaç:** Bu çalışmada, sıcak ve soğuk stresinin, ratlarda gonadotropin (FSH, LH) ve seks steroidleri (östradiol, testosteron) seviyelerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve yöntem:** Erkek ve dişi ratlarda ayrı olmak üzere 7'şer hayvanlık kontrol grupları ve 7'şer hayvanlık deney grupları oluşturulmuştur. Dişi kontrol ve deney gruplarında östrüs faz sabitliğini sağlamak amacı ile günlük olarak vaginal smear alınmış ve proöstrüs fazındaki ratlar çalışmaya dahil edilmiştir. Deney gruplarındaki ratlar 1'er saat süreyle sıcak (40 °C) veya soğuk (4 °C) stresine maruz bırakılırken, kontrol grubuna hiç bir işlem uygulanmamıştır. Daha sonra, ratların kalbinden alınan kan örneklerinde serum FSH, LH, östradiol ve testosteron (T) düzeyleri RIA yöntemiyle saptanmıştır. Verilerin istatistiksel değerlendirmesinde Kruskal-Wallis testi uygulanmış ve test sonucunda önemli bulunan parametreler için Mann-Whitney U testi uygulanmıştır.

**Bulgular:** Dişilere ait FSH, LH ve östradiol değerlerinde gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Erkeklerde ise FSH ve LH için gruplar arası farklılık anlamsız ( $P>0.05$ ) bulunurken, testosteron değerlerinde anlamlı fark ( $P<0.05$ ) bulunmuştur. Gruplara ait testosteron değerleri karşılaştırıldığında, kontrol ile sıcak arasındaki farklılık önemli ( $P<0.05$ ) bulunurken, kontrol ile soğuk önemsiz ( $P>0.05$ ) bulunmuştur.

**Sonuç:** Çalışmamızda farklı streslerin erkek ve dişiye farklı hormonal yanıtlara neden olabileceği sonucuna varılmıştır. Çeşitli streslerin akut veya kronik olarak uygulanması, deneysel koşullar, denek farklılıkları, psikolojik etkenler gibi bazı faktörlerin, strese yanıt modellerinde farklılıklar yaratabileceği göz önünde tutulmalıdır.

**Anahtar Kelimeler:** FSH, LH, Östradiol, Sıcak, Soğuk, Stres, Testosteron

#### Abstract

**Purpose:** This study aims to evaluate the effects of the heat and cold stress on the levels of gonadotrophins (FSH, LH) and sex steroids (estradiol, testosterone) in rats.

**Material and methods:** Male and female rats were grouped as control group (7 rats) and stress group (7 rats). Vaginal smears were taken daily from the control and test groups of female rats in the proestrus stage. Heat (40 °C) and cold (4 °C) stress was applied to the stress group for one hour and then blood samples taken from the heart. Serum FSH, LH, estradiol and testosterone levels were measured by RIA. The results were statistically evaluated by Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U tests.

**Results:** There were not statistically significant changes in the FSH, LH and estradiol level of female rats ( $P>0.05$ ). Statistically significant changes in the testosterone (T) level of male rats were observed ( $P<0.05$ ), but there were not significant changes in FSH and LH levels ( $P>0.05$ ). When the testosterone levels of the groups were correlated, statistically significant differences between the control and the heat applied group was observed ( $P<0.05$ ); there was not a significant difference between the control and the cold applied group ( $P>0.05$ ).

**Conclusion:** Various patterns of stress can cause different hormonal responses in male and female rats. Variations in the type of stress (acute or chronic), experimental conditions, experimental animals and psychological influences can affect the response to stress in experimental settings.

**Key Words:** Cold, Estradiol, FSH, Heat, LH, Stress, Testosterone

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi SIVAS  
Fizyoloji Araş.Gör.Dr.<sup>1</sup>, Prof.Dr.<sup>2</sup>.

Geliş tarihi: 13 Temmuz 2000

Stres (fiziksel, kimyasal veya psikososyal), vücudun normal fizyolojik dengesini ve homeostazisini, genellikle zarar verici etkileriyle bozan stimuluslara verdiği reaksiyonu temsil eder (1, 2). Stresin şiddeti ve süresi değişkendir ve muhtemelen varolan stresörlerin tipi, stresin süresi, hayvanın türü, cinsiyeti ve fizyolojik durumu ile ilgilidir (3).

Günümüz dünyasında insanlar, gittikçe çeşitlenen fiziksel, kimyasal ve psikolojik streslere maruz kalmaktadırlar ve bu durum vücudu çeşitli şekillerde etkilemektedir. Çeşitli hormonlar da stresli durumlara oldukça duyarlıdır (4). Memelilerde, strese maruz kalmak, çoğu türlerde üreme fonksiyonlarında değişim yapar. Bu etki, genellikle inhibisyon şeklinde gerçekleşirse de bu değişimi sağlayan mekanizmalar tam olarak açıklanamamıştır (5, 6).

Sıcak stresinin, hormon sekresyonu ve dolaşım üzerine etkileri başlıca sempatik sinir sisteminin stimülasyonu ve hipotalamo-hipofizer-adrenal hormonal aksın aktivasyonu sonucunda gerçekleşir. Artmış ısıya verilen hormonal yanıtlar ve bunlar arasındaki muhtemel ilişkiler stresin süresi ve şiddeti ile ilgilidir (7, 8). Hormonal sekresyondaki değişiklikler, enerjiyi mobilize etmek, termal homeostazisi sağlamak, terlemeyi arttırmak ve böbreklerden su kaybını azaltmak için genel stres yanıtlarıdır (8). Hipertermi etkileri üzerine yapılan çalışmaların çoğu sauna ile ilgili çalışmalardır. Vescovi ve arkadaşları, erkek denekleri 90 °C'lik % 10 nemli saunada 30 dakika beklettiklerinde FSH ve LH seviyelerinde anlamlı bir değişim olmamış ve bu sonuç, FSH ve LH'nin termal uygulamalardan çok fazla etkilenmemesine bağlanmıştır (9). Leppaluoto ve arkadaşları ise iki saat 0 °C deki soğuk odada tutulan erkek deneklerde LH ve testosteron (T) seviyelerinde bir değişim olmadığını belirlemişlerdir (10).

Bu çalışmada; 1 saatlik akut sıcak ve soğuk stresinin, erkek ve dişi ratlarda, gonadotropin (LH, FSH) ve seks steroidleri (östradiol, testosteron) üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan kaynak taramasında, akut stresin üreme

fonksiyonları üzerine etkilerinin halen tartışmalı olduğu ve gerçekleştirilen çalışmaların da çoğunlukla erkeklerin strese verdikleri yanıtlar üzerine yoğunlaştığı belirlenmiştir. Bu yüzden, bu çalışma hem erkek hem de dişi rat grupları üzerinde uygulanmıştır.

## MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada, 250-270 g. ağırlıklarında 21 erkek ve 200-220 g. ağırlıklarında, 3 ay ( $\pm$  7 gün) lık 21 dişi olmak üzere 42 Wistar erişkin rat kullanılmıştır. Ratlar, üzeri telle kaplı çinko kafesler içerisinde normal oda ısısında tutulmuş, yiyecek ve su serbest olarak verilmiştir.

Çalışma erkek ve dişi ratlar için ayrı olmak üzere 7'şer hayvanlık kontrol ve 7'şer hayvanlık stres gruplarıyla gerçekleştirilmiştir. Stres gruplarına bir saatlik akut sıcak (40 °C) veya soğuk (4 °C) stresi uygulanmıştır. Stres uygulamaları yalıtımlı, sıcaklığı ayarlanabilen, havalandırılmalı, ışıklandırılmalı özel soğuk ve sıcak odalarda gerçekleştirilmiştir. Kontrol grupları ise aynı odalarda normal oda sıcaklığında tutulmuştur. Dişi ratlarda, östrüs siklusunun faz sabitliğini sağlamak için, günlük olarak vaginal smear alınarak proöstrüs fazındaki hayvanlar çalışmaya dahil edilmiştir. Stres uygulamaları ve kan alımları 14.00-16.00 saatleri arasında gerçekleştirilmiştir. Stres uygulaması sonrası ratların kalbine girilerek alınan 4-5 ml'lik kan örnekleri santrifüj edilerek serumları ayrılmıştır. Ayrılan serumlar, serum tüplerine konularak çalışma anına kadar -20 °C de derin dondurucuda saklanmıştır. Serum FSH, LH, östradiol ve testosteron hormonlarının düzeyleri ise Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Nükleer Tıp Bölümü Hormon Laboratuvarında, radyoimmünoassay yöntemi ile tespit edilmiştir.

Çalışmalar sonunda elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis testi uygulanmış, test sonucunda önemli bulunan parametreler için Banferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanılmıştır.

## BULGULAR

Dişi ve erkek kontrol ve deney gruplarındaki FSH, LH, östradiol ve testosteron hormonlarının istatistiksel değerlendirme sonuçları Tablo I ve II' de verilmiştir.

Tablo I ve II' de görüldüğü gibi; araştırma sonucunda, dişilere ait FSH, LH ve östradiol değerlerinde gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Erkeklerde

ise FSH ve LH için gruplar arası farklılık anlamsız ( $P>0.05$ ) bulunurken, testosteron değerlerinde anlamlı ( $P<0.05$ ) bulunmuştur. Gruplara ait testosteron değerleri karşılaştırıldığında, kontrol ile sıcak arasındaki farklılık önemli ( $P<0.05$ ) bulunurken, kontrol ile soğuk farkı önemsiz ( $P>0.05$ ) bulunmuştur.

Hormonların uygulanan strese bağlı olarak dişi ve erkekteki değişimleri ise Şekil 1 ve 2' de görülmektedir.

**Tablo I.** Dişi kontrol ve deney gruplarındaki FSH, LH ve östradiol hormonlarının istatistiksel değerlendirme sonuçları

Gruplar	n	FSH			LH			Testosteron		
		med.	min.	max.	med.	min.	max.	med.	min.	max.
Kontrol	7	0.98	0.78	1.1	0.03	0.01	0.06	16.37	9.96	21.66
Soğuk	7	1.43	0.63	2.19	0.04	0.01	0.09	18.19	16.57	34.05
Sıcak	7	0.85	0.46	1.25	0.06	0.02	0.11	18.63	15.97	29.04

$KW= 3.04$   
 $P>0.05$

$KW= 4.18$   
 $P>0.05$

$KW= 5.07$   
 $P>0.05$

**Tablo II.** Erkek kontrol ve deney gruplarındaki FSH, LH ve testosteron hormonlarının istatistiksel değerlendirme sonuçları

Gruplar	n	FSH			LH			Östradiol		
		med.	min.	max.	med.	min.	max.	med.	min.	max.
Kontrol	7	3.48	1.67	5.32	0.05	0.01	0.17	0.28	0.1	0.75
Soğuk	7	2.92	1.55	5.11	0.07	0.01	0.23	0.59	0.01	1.15
Sıcak	7	3.88	2.52	7.40	0.09	0.03	0.11	0.90	0.36	3.75

$KW= 2.08$   
 $P>0.05$

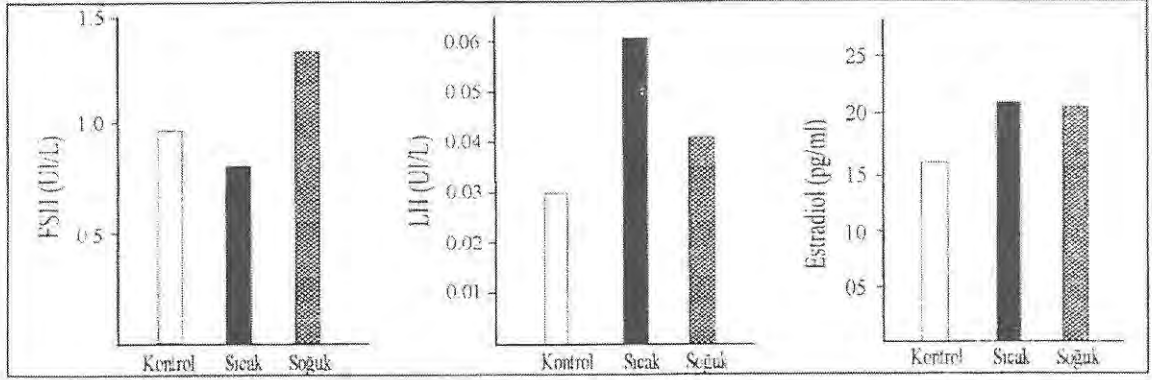
$KW= 0.27$   
 $P>0.05$

$KW= 8.13$   
 $P<0.05$

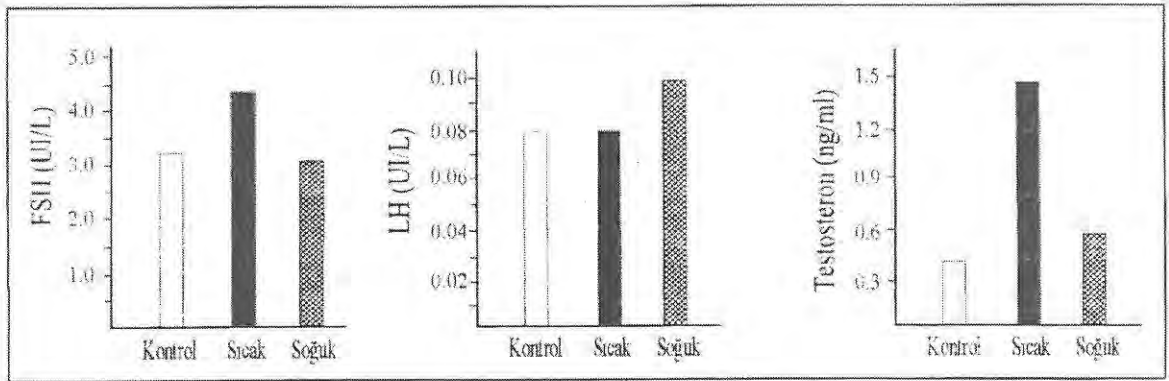
(Kontrol-Soğuk)  
 $P=0.2243$  ve  $P>0.05$

(Kontrol-Sıcak)  
 $P=0.0088$  ve  $P<0.05$

(Soğuk-Sıcak)  
 $P=0.0548$  ve  $P>0.05$



Şekil 1. Dişi kontrol ve deney gruplarındaki FSH, LH ve östradiol hormonlarının değişimi



Şekil 2. Erkek kontrol ve deney gruplarındaki FSH, LH ve testosteron hormonlarının değişimi

## TARTIŞMA

Testosteron sekresyonu, spermatogenez ve libidonun kronik strese yanıt olarak genellikle baskılandığı bilinmektedir. Ancak, akut stresin hipotalamo-hipofizer-gonadal yanıt üzerine etkileri hakkındaki bilgiler oldukça azdır (11).

Stresin akut fazında LH ve T konsantrasyonları baskılanabilirken, bu hormonların konsantrasyonlarının geçici olarak arttığı yolunda da raporlar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda stresin akut fazında LH ve T' nin konsantrasyonlarında paralel

değişiklikler gerçekleşmeyebileceği de belirtilmektedir (11- 13).

Büyük gruplar halinde yaşayan erkek Olive Baboonlarda (bir cins maymun) yapılan araştırmada (11), üreme fonksiyonları açısından üst seviyede olan baboonların, stres uygulamasının akut fazında LH konsantrasyonları değişmemesine karşın, T sekresyonlarında geçici bir yükselme gerçekleştiği belirlenmiştir. LH ve T konsantrasyonlarındaki bu farklı değişimler, akut stresteki geçici T yükselişinden sorumlu, LH' dan başka periferik bir mekanizmanın olabileceğini düşündürmektedir. T'

deki bu geçici yükselmeden, strese yanıt olarak artan ACTH' in neden olduğu, adrenal androjenlerin sekresyonundaki artışın sorumlu olabileceği belirtilmiştir. Ancak aynı çalışmada, hayvanlara egzojen ACTH uygulaması, androjenleri anlamlı bir şekilde arttıramamıştır. Bu konuya ilişkin diğer bir görüş, strese yanıt olarak yükselen katekolaminlerin çeşitli mekanizmalar yolu ile, T konsantrasyonunu geçici olarak arttırabileceği yolundadır. Chlorisondamine (sempatik ganglion blokleri) verilen erkeklerde geçici T konsantrasyonu yükselişinin gerçekleşmediği bildirilmektedir (11). Katekolaminlerin bu olayı çeşitli mekanizmalar yolu ile gerçekleştirebileceği düşünülmektedir; kan akımını arttırmak üzere testiküler damarlanmaya etki edebilirler. Bu durum T salınımına çeşitli şekillerde etki edebilir. Bunlar; interstisyel hücrelere ulaşan LH, kolesterol, glukoz ve oksijen konsantrasyonunu arttırmak veya yeni sentezlenen T' nin dolaşıma verilme oranını arttırmak olabilir (11). Bu mekanizmaya ait bazı bulgular ratlarda da gösterilmiştir. Ratlarda, testiküler parenkimaya gelen adrenerjik projeksiyonların denervasyonu, T konsantrasyonlarındaki strese bağlı geçici artışı önlemektedir (14). Bu etkinin zamansal durumuna da dikkat etmek gerekir, daha uzamış katekolamin uygulamaları hem testiküler kan akımını, hem de T konsantrasyonlarını inhibe eder. İkinci alternatif mekanizma, interstisyel hücrelerin otonomik innervasyonudur. Bu innervasyon, stres esnasındaki sekresyonun veya steroidogenezin direkt olarak stimülasyonuna aracılık edebilir. Üçüncü ve daha spekülatif bir ihtimal de, katekolaminlerin, T' nin östrojene periferik aromatisasyonunu geçici olarak baskılayarak, T seviyelerini yükseltiyor olabileceğidir (11).

Başka bir çalışmada, akut strese yanıt olarak T seviyelerinde gözlenen geçici yükselmenin, strese karşı verilen adrenokortikal yanıtın azalmasına değil, glukokortikoidlerin baskılayıcı etkilerine verilen testiküler yanıtın azalmasına bağlı olabileceği şeklinde görüşler bildirilmiştir. Bu azalma, testisteki kortizol reseptörlerinin sayısının düşmesiyle sağlanabilmektedir. Sonuçta; T konsantrasyonlarının geçici artışının, bu steroidin

testiküler sekresyonu ile veya ACTH' dan başka bir faktörün adrenal steroid sekresyonunu stimüle etmesiyle gelişebileceği düşünülmüştür (12).

Diğer bir araştırmanın sonucunda, ratlarda akut strese yanıt olarak T sekresyonunda gözlenebilen artışların, T stres yanıtının muhtemelen bifazik olmasına bağlı olabileceği ancak bu yükselmenin kesin nedenlerinin tam olarak belli olmadığı belirtilmiştir. LH' dan başka faktörlerin T sekresyonundan sorumlu olabileceği düşünülmüş ve testiküler aktiviteyi modüle eden direkt nöral mekanizmaların bu konuda rol alabileceği belirtilmiştir. Hipotalamus ile adrenal korteks arasında ve hipotalamus ile ovaryumlar arasında fonksiyonel bağlantı olduğu bilinmektedir. Testislerde de buna benzer bir sinir modülasyonu olabileceği düşünülmüştür (15). Akut sıcak stresi uygulamasının tam hipotalamik diafferentiasyon uygulanan ratlarda T seviyelerinde bir yükselme yaptığı belirlenmiştir. Bu durum LH stimülasyonuna bağlanamamıştır. Çünkü, LH seviyelerinde bir değişiklik olmamıştır. Bu duruma açıklama olarak, akut sıcak stresinin direkt olarak testisler üzerine etki edebileceği fikri öne sürülebilir. MSS' de lokalize olmuş sıcaklık düzenleme merkezlerinin de gonadlar üzerine direkt nöral stimülasyonda bulunabileceği bildirilmektedir (15). Bizim çalışmamızda da erkeklerde akut sıcak stresine maruz kalma sonrasında LH seviyelerinde bir değişim olmaksızın, T seviyelerinde anlamlı bir artış gerçekleşmiştir. Fakat soğuk stresine yanıt olarak LH ve T seviyelerinde bir değişim olmamıştır. T seviyelerinde bir artma gerçekleşmiştir, ancak istatistiksel olarak anlamsızdır. T konsantrasyonlarının strese bifazik olarak yanıt verebileceği göz önüne alınırsa belki de kan alım zamanı T artışının tam olarak pik yaptığı zamana denk gelmemiş olabilir.

Dişilerde ise, hem soğuk hem de sıcak stresi sonrasında östradiol seviyelerinde istatistiksel olarak anlamsız bulunan artışlar gerçekleşmiştir. Hipotalamusla ovaryum arasında direkt nöral bağlantılar bulunduğu bilinmektedir (15). Belki de daha uzun ve şiddetli soğuk ve sıcak uygulamaları

akut strese yanıt olarak anlamlı artışların gelişmesine neden olabildi.

Ayrıca, çalışmamızın sonucunda, FSH seviyelerinin hem erkek hem de dişide anlamlı olarak değişmediği görülmektedir. Siegel ve arkadaşları (15), FSH ve LH'nın sekresyonunu düzenleyen nöral bölgelerin anatomik olarak farklı olduğunu, FSH için -dorsal anterior hipotalamik ventriküler alanın, LH için -preoptik alanının dominant olarak görev yapabileceğini belirtmektedirler. Ayrıca FSH yanıtının anlamlı olarak ortaya çıkabilmesi için oldukça güçlü bir nöral stimulusun varlığının gerekliliğine dikkat çekmektedirler. Çalışmamızda, ılımlı streslerin uygulanmasından dolayı böyle bir değişimin ortaya çıkmamış olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda farklı streslerin erkek ve dişide farklı hormonal yanıtlara neden olabileceği sonucuna varılmıştır. Çeşitli streslerin akut veya kronik olarak uygulanması, deneysel koşullar, denek farklılıkları, psikolojik etkenler gibi bazı faktörlerin, strese yanıt modellerinde farklılıklar yaratabileceği göz önünde tutulmalıdır. Biz bu çalışmada FSH, LH, testosteron ve östradiol hormonlarının akut strese yanıtlarını araştırdık. Çalışmada uygulanan stresörlerin şiddetinin ve süresinin arttırılması daha belirgin sonuçların ortaya çıkmasını sağlayabilir. Devam edecek çalışmalarda, strese yanıtta görev aldığı düşünülen CRH, ACTH, kortizol, -end, PRL ve GH gibi hormonların çalışılması bu konuyla ilgili daha kapsamlı yorumlar yapmaya olanak verecektir.

## KAYNAKLAR

1. Khansari D N, Murgo A J, Faith R E. *Effects of stress on the immune system. Immunology Today* 1990; 11: 170-175.
2. Mills F J M, Chir B. *The endocrinology of stress. Aviat Space Environ Med* 1985; 56: 642-650.
3. Greenspan F S. *Basic and Clinical Endocrinology. 3rd Edition, Appleton & Lange, San Francisco* 1991, pp 47.
4. Porth C M: *Pathophysiology. Concept of altered health states, Lippincott, Philadelphia* 1998, pp 1238.
5. Abd El Mohsen M M, Fahim A T, Motawi T M K, Ismail N A. *Nicotine and stress: effect on sex hormones and lipid profile in female rats. Pharmacol Res* 1997; 35(3): 181-187.
6. Rivier C, Rivier J and Vale W: *Stress-induced inhibition of reproductive functions: role of endogenous corticotropin-releasing factor. Sci* 1986; 231: 607-609.
7. Brenner I K M, Zamecnik J, Shek P N, Shephard R J. *The impact of heat exposure and repeated exercise on circulating stress hormones. Eur J Appl Physiol* 1977; 76: 445-454.
8. Kukkonen K, Kauppinen K: *How the sauna effects the endocrine system. Ann Clin Res* 1988; 20: 262-266.
9. Vescovi P P, Maninetti L, Gerra G, Pedrazzoni M, Pioli G, Girasole G, Passeri M: *Effects of sauna-induced hyperthermia on pituitary secretion of prolactin and gonadotrophin hormones. Neuroendocrinol Letter* 1990; 12: 143-147.
10. Leppaluoto I, Korhonen P, Huttunen P, Hossi J. *Serum levels of thyroid and adrenal hormones, testosterone, TSH, LH, GH, and prolactin in men after a 2-h stay in a cold room. Acta Physiol Scand* 1988; 132: 543-548.
11. Sapolsky R M: *Stress-induced elevation of testosterone concentrations in high ranking baboons: Role of catecholamines. Endocrinol* 1986; 118: 1630-1635.
12. Sapolsky R M. *Stress-induced suppression of testicular function in the wild baboon: Role of glucocorticoids. Endocrinol* 1985; 116: 2273-2278.
13. Dessypris A, Kuoppasalmi K, Adlercreutz H. *Plasma cortisol, testosterone, androstenedione and luteinizing hormone in a non-competitive marathon run. J Steroid Biochem* 1976; 77: 33-40.

14. Frankel A and Ryan E. Testicular innervation is necessary for the response of plasma testosterone levels to acute stress. *Biol Reprod* 1981; 24: 491-499.
15. Siegel R A, Weidenfeld S, Feldman S, Conforti N, Chowes I. Neural pathways mediating basal and stress-induced secretion of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and testosterone in the rat. *Endocrinol* 1981; 108: 2302-2307.