

The Effects of Acute or Chronic Immobilization Stress on Serum Levels of T3, T4 or TSH in Male Rats

Rahim Ahmadi¹, Zahra Abbasi^{1*}, Vahid Asgary²

¹Department of Biology, School of Basic Sciences, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran

²Department of Immunology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 26 Jun, 2012 Accepted: 4 Sep, 2012

Abstract

Backgrounds and Objectives: Different types of stress have different effects on the body's endocrine system. The main aim of this study was to determine the effect of acute and chronic immobilization stress on serum level of TSH, T3 and T4 in male rats.

Materials and Methods: In this experimental study, male Wistar rats were randomly divided into controls, acutely immobilized (8h/day for immobilization 8 days) and chronically immobilized (2h/day immobilization for 21 days) groups, 10 in each group. After the periods of experiments, blood samples were collected using cardiac puncture method. Following serum collection, serum levels of TSH, T3 and T4 were measured by Electrochemiluminescence (ECL) method. The Data were statistically analyzed and compared between groups using One-Way ANOVA.

Results: Results showed that serum TSH, T3 or T4 levels were significantly increased in rats during acute immobilization stress compared with control animals ($P<0.001$, $P<0.001$ and $P<0.01$, respectively) but there were not significantly different changed in thyroid hormones between animals with chronic immobilization and controls.

Conclusion: Our findings show that acute immobilization stress enhances serum level of thyroid hormones.

Keywords: T3, T4, TSH, Acute Immobilization, Chronic Immobilization, Rat

*Corresponding author:

E-mail: z.abbasi2020@yahoo.com

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 روش ها: طی این تحقیق تجربی - آزمایشگاهی، موش های نر نژاد ویستار به سه گروه ۱۰ سری شاهد، تحت استرس بی حرکتی 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.

یافته ها: نتایج نشان دادند هورمون های TSH، T3 و T4 در موشهای تحت استرس بی حرکتی حاد، افزایش معناداری یافتند (به ترتیب $P < 0/01$ ، $P < 0/001$ و $P < 0/001$). اما سطح این هورمون ها در موشهای تحت استرس بی حرکتی مزمن، اختلاف معناداری با گروه شاهد نشان ندادند.
نتیجه گیری: استرس بی حرکتی حاد افزایش سطح سرمی هورمونهای TSH، T3 و T4 است. بر این مبنای دیدگاه پاتوفیزیولوژیک، تاثیر استرس بی حرکتی در افزایش هورمون های تیروئیدی و عوارض متعاقب آن قابل توجه است.

کلید واژه ها: استرس بی حرکتی حاد، استرس بی حرکتی مزمن، T4، T3، TSH، رت

مقدمه

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

هورمونهای تیروئیدی شامل تیروکسین (T4) و تری یدوتیرونین (T3)، هورمونهای مشتق شده از اسید آمینه تیروزین می باشند که توسط غده تیروئید ساخته و ترشح می شوند. 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

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 عمدتاً 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 (کولموگراف- اسمیرونوف- Kolmogorov-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 ایمونوتک [IMMUNOTECH A, BECHMAN COULTER/REF 2121] انجام گرفت. در طی 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 T₃, T₄ 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 بی حرکتی حاد نسبت به گروه شاهد نشان می دهند (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 دریافت کننده استرس بی حرکتی مزمن نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد (جدول ۱ و نمودارهای ۱، ۲، ۳).

الکترولیت ها می شود که تمام این موارد می توانند در زمان وقوع استرس باعث ایجاد بیماری شوند (۴). در موجودات مختلف، بی حرکتی در دو شکل حاد و مزمن به عنوان استرس تلقی می گردد که می تواند اثرات گوناگونی بر فیزیولوژی جانوران در حوزه های رشد و نمو و حوزه عملکرد فیزیولوژیک هیپوتالاموس، هیپوفیز، آدرنال و غده تیروئید داشته باشد (۴-۵). استرس منجر به افزایش رهاسازی کاتکول آمین ها و گلوکوکورتیکوئیدها توسط فعالیت اعصاب سمپاتیک غده آدرنال و محور هیپوتالاموس هیپوفیز آدرنال (۵-۶) و همچنین افزایش آزادسازی آمینواسیدهای تحریکی در مغز می شود (۷). بسیاری از مطالعات نشان داده اند که استرس بی حرکتی باعث افزایش کورتیکواسترون، آدرنوکورتیکوتروپین و پرولاکتین و کاهش تستوسترون سرم می شود و بر سطح سرمی LH, FSH و وازوپرسین تاثیر ندارد (۸-۹). 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 (۱۱-۱۲). همچنین گزارشاتی مبنی بر تاثیرگذاری استرس بی حرکتی بر عملکرد غده تیروئید وجود دارد (۴ و ۱۳ و ۱۴ و ۱۵). علی رغم مطالعات انجام شده، ساختار محور تیروئید تحت تاثیر 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 بی حرکتی حاد و مزمن بر سطح سرمی هورمونهای T₃, T₄ و TSH می باشد.

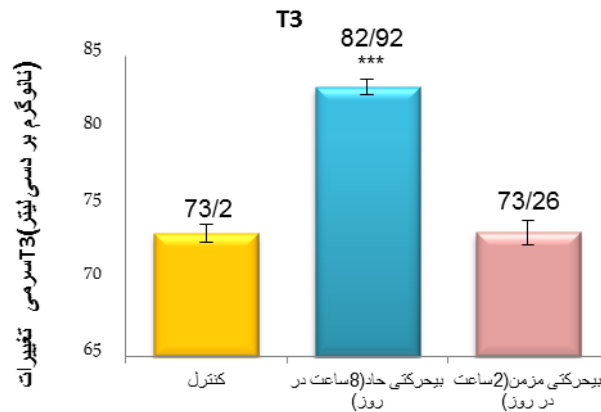
مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۳۰ سر موش نر نژاد ویستار با وزن ۲۰۰-۱۸۰ gr از انستیتو پاستور ایران تهیه گردیدند. حیوانات در حرارت ۲۲±۲°C 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 هر گروه 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

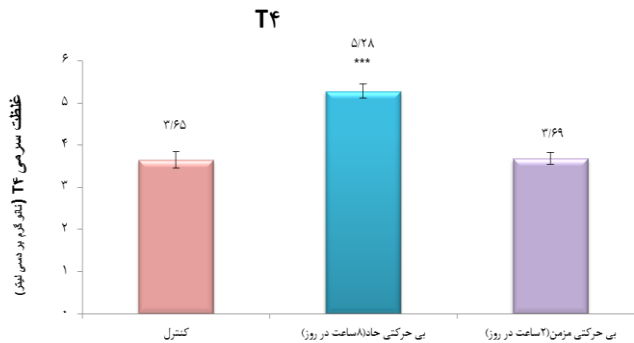
جدول ۱: غلظت هورمونهای T₃, T₄ و TSH سرم خون در موشهای صحرایی نر نژاد ویستار

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	۰/۰۱۳ ± 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 ± ۰/۱۸	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 اند. N.S بیانگر عدم وجود اختلاف معنادار در مقایسه با گروه شاهد است.



نمودار ۱: مقایسه غلظت هورمون T₃ سرم خون در گروههای کنترل، تحت استرس بی حرکتی مزمن (۲ ساعت در روز به مدت ۲۱ روز)، و تحت استرس بی حرکتی حاد (۸ ساعت در روز به مدت ۸ روز)، در موشهای صحرایی نر. مقادیر بیانگر «SEM±Mean» مربوط به ۱۰ موش است. $P < ۰/۰۰۱$ *** (محور عمودی، 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 به مدت ۲۱ روز)، و تحت استرس بی حرکتی حاد (۸ ساعت در روز به مدت ۸ روز)، در موشهای صحرایی نر. مقادیر بیانگر «SEM±Mean» مربوط به ۱۰ موش است. $P < ۰/۰۰۱$ *** (محور عمودی، X و محور افقی، Y)



نمودار ۳: مقایسه غلظت هورمون TSH سرم خون در گروههای کنترل، تحت استرس بی حرکتی مزمن (۲ ساعت در روز به مدت ۲۱ روز)، و تحت استرس بی حرکتی حاد (۸ ساعت در روز به مدت ۸ روز)، در موشهای صحرایی نر. مقادیر بیانگر «SEM±Mean» مربوط به ۱۰ موش است. $P < ۰/۰۱$ *** (محور عمودی، X و محور افقی، Y)

بحث

همچنین برخی پژوهشها نشانگر آنند که استرس بی حرکتی مزمن، سطح TSH پلازما 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 T₃، T₄ 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 T₃ و T₄ افزایش می یابد (۲۱ و ۲۲).

از سویی، با توجه به عدم تأثیر استرس بی حرکتی مزمن بر روی غلظت های T₃ و T₄ و TSH، این امر بیانگر سازش فیزیولوژیکی 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.

نتیجه گیری

در جمع بندی 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 بر این اساس، این نکته باید در مباحث بالینی به خصوص در اختلالات تیروئیدی مورد توجه قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

این پژوهش با حمایت های 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

- 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.
- Selye H, "Confusion and controversy in the stress field". *J Human Stress* 1975; **1**: 37-44.
- Turakulov Y, Burikhanov R, Patkhidinov P, Myslitskaya A. Influence of immobilization stress on the level of secretion of thyroid hormones. *Neurosci Behav Physiol* 1994; **24**(6): 462-464.
- Turakulov Y, Burikhanov R. Role of norepinephrine in the regulation of thyroid gland

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 (T₄)، تری یدوتیرونین (T₃) 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 می شود. در این راستا، پژوهشها نشان می دهند که غده تیروئید فوراً 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 بیماران 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 تأثیری 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 (۱۴ و ۱۵). 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).

- 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. Brødano 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 hormones 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. *Neuropsychoaanal* 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.