

تأثیر الکتروشوک بر هورمونهای استروژن و پروژسترون تخمدان در مراحل مختلف چرخه استروسی موش سوری ماده بالغ

رعنا پوزش (MSc)^۱، محمدعلی حسین پور فیضی (PhD)^{۱*}، سیدمهدی بانان خجسته (PhD)^۱، فرزاد شیخ زاده حصاری (PhD)^۱

۱- گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز

دریافت: ۹۲/۵/۲۶، اصلاح: ۹۲/۸/۱۵، پذیرش: ۹۲/۱۰/۱۵

خلاصه

سابقه و هدف: چرخه جنسی نامنظم در نتیجه ترشح نامناسب هورمونهای شایع‌ترین علت ناباروری است با توجه به اینکه میزان افسردگی در زنان دو برابر مردان است و الکتروشوک یکی از روشهای درمانی مورد استفاده در افسردگی می‌باشد. لذا این مطالعه به منظور بررسی تأثیر شوک الکتریکی بر ترشح هورمونهای جنسی انجام گردید. **مواد و روشها:** در این مطالعه تجربی ۶۰ موش سوری نژاد آلبینو (وزن $28 \pm 1/5$ گرم و ۹-۱۲ هفتگی) با سیکل جنسی منظم پس از تعیین مراحل چرخه استروس با اسمیر واژن، به ۱۲ گروه ۵ تایی: چهار گروه کنترل در مراحل چهارگانه چرخه استروس، چهار گروه دریافت کننده یک شوک در هر یک از مراحل چهارگانه و چهار گروه با دریافت دو بار شوک (فاصله شوکها ۴ ساعت) در هر مرحله چرخه جنسی تقسیم شدند. اعمال شوک با دستگاه الکتروشوک آزمایشگاهی و شوک قابل تحمل برای موشها صورت گرفت. نمونه خون از موشها در همان مرحله دریافت شوک، برای اندازه گیری هورمونهای جنسی جمع‌آوری و با روش الایزا مورد سنجش و مقایسه قرار گرفت. **یافته ها:** میانگین سطح سرمی هورمون استروژن تنها در گروه دو بار شوک دریافت کرده مرحله متاستروس ($3/92 \pm 0/074$) نسبت به گروه کنترل این مرحله ($4/36 \pm 0/118$) اختلاف معنی دار نشان داد ($P < 0/05$). تنها در مرحله دی‌استروس میانگین سطح سرمی پروژسترون گروه یک شوک ($5/264 \pm 0/243$) و گروه دو بار شوک ($5/24 \pm 0/29$) از نظر آماری نسبت به گروه کنترل ($5/466 \pm 0/102$) اختلاف معنی دار نداشت.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشان داد که اعمال شوک الکتریکی تنها در مرحله دی‌استروس چرخه استروس بر سطح سرمی هر دو هورمون جنسی تأثیر ندارد.

واژه های کلیدی: الکتروشوک، موش سوری ماده، چرخه استروس، استروژن، پروژسترون.

مقدمه

تقریباً دو برابر افسردگی در مردان است میزان شیوع آن در طول زندگی برای زنان $21/3\%$ و $12/7\%$ برای مردان است (۹-۱۱). برای درمان این نوع افسردگی الکتروشوک درمانی موثرتر از دارو و در اکثر موارد تنها روش درمانی است، بنابراین حدود 70% از بیماران تحت الکتروشوک درمانی (ECT)، زن هستند (۱۲). اثرات ضدافسردگی الکتروشوک درمانی از طریق تأثیر آن بر سیستم انتقال دهنده عصبی مونوآمین نظیر نوراپی‌نفرین، سروتونین، گابا و دوپامین صورت می‌پذیرد (۱۳). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که شوک الکتریکی بر سطح سرمی پروژسترون و استروژن تأثیر ندارد (۱۴ و ۱۵). ولی مطالعات اندکی در مورد تأثیر شوک الکتریکی بر سطح سرمی هورمونهای جنسی استروئیدی با در نظر گرفتن مراحل مختلف چرخه جنسی وجود دارد. نظر به اهمیت باروری و نیاز به استفاده از الکتروشوک جهت درمان، این مطالعه به منظور بررسی تأثیر شوک الکتریکی بر میزان سطح سرمی هورمون‌های جنسی تخمدان در مراحل مختلف چرخه جنسی موش سوری ماده بالغ انجام شد تا مرحله‌ای را که کمتر متأثر از شوک الکتریکی است به عنوان

ناباروری مشکل قابل توجهی در جوامع است و زندگی بسیاری از زوجها را تحت تأثیر قرار داده است. طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی حدود ۱۵-۱۰ درصد (حدود ۵ میلیون نفر) در سراسر دنیا نابارور هستند (۱). براساس مطالعات دیگر میزان ناباروری حدود ۲۶-۱۷٪ است و ۸۰-۶۰ میلیون زوج نابارور با رشد سالانه ۲ میلیون نفر در سراسر جهان را شامل می‌شود (۲). در ناباروری زنان، چرخه جنسی نامنظم و اختلال در عملکرد تخمدان و ترشح نامناسب هورمونها نقش دارند (۳). عوامل محیطی و فیزیکی نیز در باروری موثر هستند. مشخص شده قرارگیری در معرض میدانهای الکترومغناطیسی باعث وقفه تخمک گذاری، افزایش تراکم هسته سلولهای گرانولوزا، بروز کیست و اختلال در باروری می‌شود (۴). یکی دیگر از مشکلات جوامع، شیوع بالای بیماریهای روانی از جمله اختلال افسردگی عمده (ماژور) است که با مرگ و میر قابل توجه و اختلال عملکردی همراه است (۵-۸). مطالعات اپیدمیولوژیک همواره نشان داده که میزان بیماری افسردگی در زنان نسبت به مردان بالاتر است. در واقع میزان افسردگی در زنان

این مقاله حاصل پایان رعنا پوزش دانشجوی رشته فیزیولوژی جانوری دانشگاه تبریز می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر محمدعلی حسین پور فیضی

آدرس: استان آذربایجان شرقی، تبریز، خیابان آزادی، دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، گروه علوم جانوری تلفن: ۰۴۱۱-۳۳۷۰۴۹۷

e-mail: pouefeizi@eastp.ir

برای رعایت طول مدت هر مرحله چرخه استروس، پانزده دقیقه بعد از شوک دهی در هر گروه با بیهوش کردن، از قلب موشها نمونه خونی تهیه شد. نمونه‌های خون بعد از ۳۰ دقیقه قرار گرفتن در محیط آزمایشگاه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند و بعد از جمع آوری سرم، سنجش هورمونها با آنزیم وابسته به سنجش ایمنی کیت الایزا (ساخت شرکت امریکایی ایمنو) انجام گرفت. برای بررسی آماری داده‌ها از نرم افزار Spss و روش آنالیز واریانس یکراهه (One-way ANOVA) و آزمون توکی استفاده شد. با استفاده از آنالیز واریانس یکطرفه هر مرحله چرخه استروس در گروههای مورد آزمایش به طور جداگانه (گروه کنترل مرحله پرواستروس با گروههای آزمایش همین مرحله و...) بررسی و مقایسه شدند و $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

۶۰ موش سوری ماده بالغ با مراحل چرخه استروس طبیعی با میانگین وزنی $28 \pm 1/5$ در این مطالعه وارد شدند. در مرحله پرواستروس چرخه جنسی، میانگین سطح سرمی هورمون استروژن برای موشهای گروه کنترل $4/24 \pm 0/34$ و به ترتیب برای گروههای آزمایش یک شوک دریافت کرده، $4/25 \pm 0/55$ و دو بار شوک دریافت کرده این مرحله $4/52 \pm 0/13$ بود که از نظر آماری اختلاف بین میانگین این دو گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل معنی دار نبود. در مرحله استروس چرخه جنسی، میانگین سطح سرمی استروژن در گروه کنترل $4/28 \pm 0/29$ ، گروه یک شوک دریافت کرده این مرحله $4/41 \pm 0/67$ و گروه دو بار شوک دریافت کرده این مرحله $4/38 \pm 0/37$ بود که این اختلاف میانگین از نظر آماری معنی دار نبود. در مرحله دی استروس، میانگین سطح سرمی استروژن برای گروه کنترل $5/16 \pm 0/112$ ، گروه یک شوک دریافت کرده $4/18 \pm 0/224$ و گروه دو بار شوک $4/18 \pm 0/19$ بود که از نظر آماری اختلاف بین میانگین گروههای آزمایش نسبت به گروه کنترل معنی دار نبود. در مرحله مت استروس میانگین سطح سرمی استروژن برای گروه کنترل $4/36 \pm 0/118$ ، گروه یک شوک این مرحله $4/38 \pm 0/69$ و گروه دو بار شوک $3/92 \pm 0/74$ بود که از نظر آماری میانگین گروه دو بار شوک نسبت به گروه کنترل و گروه یک شوک اختلاف معنی داری نشان داد ($p < 0.05$) (نمودار ۱).

میانگین سطح سرمی هورمون پروژسترون در مرحله پرواستروس برای گروه کنترل $4/96 \pm 0/220$ ، گروه یک شوک $4/93 \pm 0/807$ و گروه دو بار شوک این مرحله $4/32 \pm 0/14$ بود و میانگین سطح سرمی پروژسترون در مرحله استروس در گروه کنترل $4/1 \pm 0/08$ ، گروه یک شوک $4/32 \pm 0/48$ و گروه دو بار شوک این مرحله $4/38 \pm 0/37$ بود که از نظر آماری اختلاف میانگین گروههای شوک دریافت کرده مراحل پرواستروس و استروس نسبت به گروههای کنترل این مراحل معنی دار بود ($p < 0.05$). میانگین سطح سرمی پروژسترون در مرحله مت-استروس در گروه کنترل $5/042 \pm 0/115$ ، گروه یک شوک $4/98 \pm 0/9$ و گروه دو بار شوک این مرحله $4/62 \pm 0/78$ بود که از نظر آماری گروه دو بار شوک نسبت به گروه کنترل و گروه یک شوک این مرحله اختلاف معنی داری نشان داد ($p < 0.05$). در مرحله دی استروس میانگین سطح سرمی پروژسترون برای گروه کنترل $5/466 \pm 0/102$ ، گروه یک شوک $5/264 \pm 0/243$ و گروه دو بار شوک این مرحله $5/24 \pm 0/29$ بود که از نظر آماری اختلاف، معنی دار نبود (نمودار ۲).

زمان مناسب استفاده از آن، بدون ایجاد اختلال در چرخه جنسی تعیین شود به امید آنکه راهگشای متخصصان و محققان بالینی در مطالعات انسانی گردد.

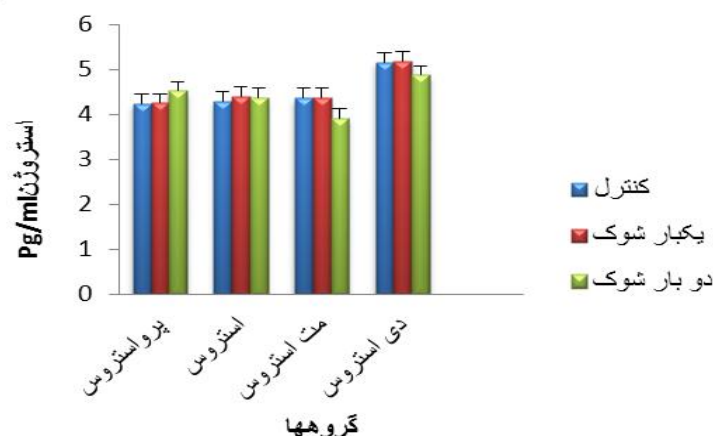
مواد و روشها

در این مطالعه تجربی ۶۰ موش سوری ماده بالغ (۹-۱۲ هفتگی) از محل پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه شد و در قفسهای استاندارد با دسترسی آزاد به آب و غذا قرار داده شدند و تحت شرایط دما و رطوبت ثابت، ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی بمنظور حفظ ریتم بیولوژیکی پایدار قرار گرفتند. روزانه مراحل چرخه استروس موشها با روش اسمیر واژینال با نمونه‌گیری از ترشحات واژن و مشاهده سلولهای موجود در زیر میکروسکوپ نوری بر اساس نوع سلولها تعیین شد (۱۶) و موشها حداقل دو دوره متوالی چرخه جنسی ۴-۵ روزه را سپری کردند و از نظر نظم مراحل سیکل جنسی اطمینان حاصل شد (در موش سوری چرخه جنسی (استروس) دارای چهار مرحله اصلی پرواستروس (Proestrus)، استروس (Estrus)، مت استروس (Metestrus) و دی استروس (Diestrus) است. سپس موشها به ۱۲ گروه تقسیم شدند. گروه ۱ الی ۴ شامل بیست سر موش در چهار مرحله چرخه استروس بعنوان گروههای کنترل (هر گروه به تعداد ۵ سر) قرار گرفتند. گروههای ۵ الی ۸ شامل بیست سر موش برای دریافت یک بار شوک در هر مرحله چرخه استروس، گروههای ۹ الی ۱۲ نیز با بیست سر موش، برای دریافت دو بار شوک در هر مرحله چرخه استروس (فاصله بین دو شوک ۴ ساعت) در داخل دستگاه الکتروشوک سکویی به ابعاد 30×45 سانتیمتر با اندازه الکترود ۱ سانتیمتر و فاصله الکترودی ۰/۲ سانتیمتر (ساخت شرکت قطعه آرای تبریز) با ولتاژ ورودی ۲۲۰ ولت و فرکانس ۵۰ هرتز و با خروجی قابل تنظیم قرار گرفتند (۱۷). مراحل چرخه استروس و وزن موشها در طول آزمایش ثبت شد. میانگین وزنی موشها $28 \pm 1/5$ گرم بود (جدول ۱).

جدول ۱. مشخصات گروههای مورد آزمایش

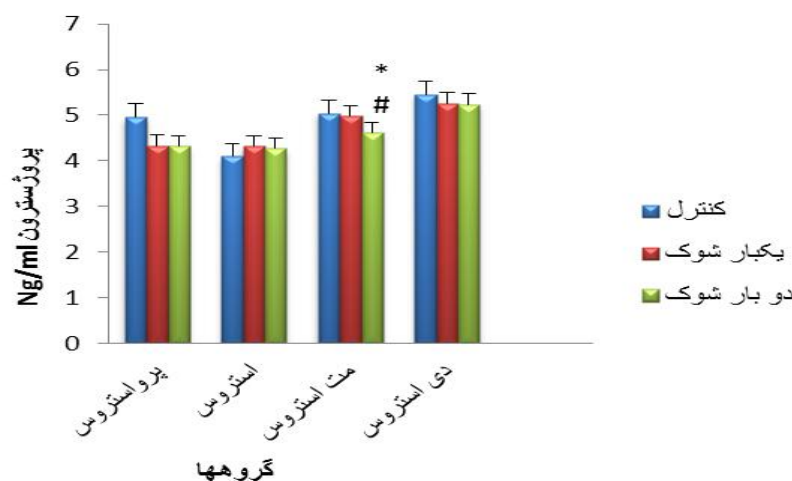
نام گروه	تعداد شوک اعمالی*	تعداد نمونه
گروه ۱-۴ (کنترل)	-	۲۰
۱- پرواستروس	-	۵
۲- استروس	-	۵
۳- مت استروس	-	۵
۴- دی استروس	-	۵
گروه ۵-۸	یکبار در هر مرحله	۲۰
۵- پرواستروس	۱	۵
۶- استروس	۱	۵
۷- مت استروس	۱	۵
۸- دی استروس	۱	۵
گروه ۹-۱۲	دو بار در هر مرحله	۲۰
۹- پرواستروس	۲	۵
۱۰- استروس	۲	۵
۱۱- مت استروس	۲	۵
۱۲- دی استروس	۲	۵

*میزان ولتاژ ۱۳ در فرکانس ثابت ۳۵ کیلوهرتز



نمودار ۱. مقایسه مقادیر میانگین سطح سرمی استروژن در گروههای شوک دریافت کرده نسبت به کنترل در مراحل چهارگانه چرخه استرون، $n=5$ ، تغییرات سطح سرمی استروژن به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد بیان شد.

اختلاف معنی دار گروههای تحت شوک نسبت به کنترل ($p < 0.05$) با علامت * و اختلاف معنی دار بین دو گروه تحت شوک هر مرحله چرخه ($p < 0.05$) با علامت # مشخص شده است.



نمودار ۲. مقایسه مقادیر میانگین سطح سرمی پروژسترون در گروههای شوک دریافت کرده نسبت به کنترل در مراحل چهارگانه چرخه استرون، $n=5$ ، تغییرات سطح سرمی پروژسترون به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد بیان شدند.

اختلاف معنی دار گروههای تحت شوک نسبت به کنترل ($p < 0.05$) با علامت * و اختلاف معنی دار بین دو گروه تحت شوک هر مرحله چرخه ($p < 0.05$) با علامت # مشخص شدند.

بحث و نتیجه گیری

استرون نیز نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری در سطح سرمی پروژسترون نشان داد. در مرحله مت استرون نیز اعمال دو بار شوک میانگین سطح سرمی استرون را نسبت به گروه کنترل بطور قابل توجهی کاهش داد. در مطالعه بالینی انجام شده توسط Ozosoy و همکاران شامل ۲۵ نفر (۱۱ مرد و ۱۴ زن) ۱۰ دقیقه بعد از اولین الکتروشوک و ۳ روز بعد از آخرین الکتروشوک سطح سرمی ۱۷- هیدروکسی پروژسترون به طور قابل توجهی کاهش یافت و این کاهش تنها در زنان مشاهده شد (۱۹) که با کاهش سطح سرمی هورمون پروژسترون در گروه دو بار شوک مرحله مت استرون و گروههای شوک پرواسترون مطالعه ما، تا حدودی از جهت کاهش غلظت مطابقت دارد. مطالعه ما و مطالعات مذکور از لحاظ جامعه آماری، ابتلا یا عدم ابتلا به افسردگی در هنگام شوک دهی، زمان استفاده از شوک متناسب با جنسیت، مقدار و دفعات آن و نوع مطالعه متفاوت است با این وجود یافته‌های هر کدام از این مطالعات با بخشی از یافته‌های مطالعه ما مطابقت دارد دلیل این تشابه را می‌توان با مکانیسم عمل الکتروشوک (اثر بر انتقال

نتایج مطالعه حاکی از آن است که اعمال شوک تنها در مرحله دی استرون چرخه جنسی تاثیری بر سطح سرمی هر دو هورمون جنسی (استرون و پروژسترون) ندارد. در مطالعه بالینی Motta و همکاران، ۱۵ دقیقه، ۲، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از اعمال الکتروشوک در افراد با میانگین سنی 34.20 ± 8.70 سال تفاوت معنی داری در میانگین غلظت سرمی هورمونهای استرون و پروژسترون در مقایسه با قبل از الکتروشوک درمانی مشاهده نگردید (۱۵). در مطالعه بالینی Baghai و همکاران ۳۱ نفر (۱۶ زن و ۱۵ مرد) با میانگین سنی 50.5 ± 14.5 ساله و میانگین سنی زنان 53.4 ± 15.9 ساله اعمال الکتروشوک تاثیری بر غلظت سرمی مشتقات پروژسترون به عنوان پیش ساز نورواستروئیدها نداشت (۱۸) که با نتایج بدست آمده از مطالعه ما در مراحل پرواسترون، استرون برای استرون و دی استرون برای هر دو هورمون استروئید جنسی مشابه است. از دیگر نتایج مطالعه ما تاثیر شوک الکتریکی در کاهش قابل توجه سطح سرمی هورمون پروژسترون در هر دو گروه شوک، مرحله پرواسترون بود. گروه دو بار شوک مت

نیز فعال شدن نوع گیرنده‌های آنها مرتبط است. تحقیقات پیشین اثرات مراکز بالایی مغز شامل سیستمهای اپیوئیدرژیک، سروتونرژیک و آدرنرژیک را بر سنتز استروئیدهای جنسی نشان داده بودند (۲۱ و ۲۲).

به طور کلی می‌توان گفت که در مرحله دی‌استروس میزان غلظت سرمی هورمونهای استروئیدی جنسی تغییری حاصل نکرده است و می‌تواند مرحله مناسب برای اعمال شوک بدون اختلال در طول مدت هر یک از مراحل چرخه استروس و باروری باشد. گرچه این نتایج قابل تعمیم به انسان نیستند ولی این احتمال را مطرح می‌سازند که اعمال شوک الکتریکی می‌تواند تغییرات مشابهی را در انسان ایجاد نماید. پیشنهاد می‌شود مطالعات آینده به صورت بالینی و با در نظر گرفتن مراحل چرخه جنسی انجام شود.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه تبریز به دلیل حمایت مالی از تحقیق و از کارکنان مرکز تحقیقات علوم دامپزشکی دانشگاه تبریز تشکر و قدردانی می‌گردد.

دهنده‌های عصبی) مرتبط دانست (۱۳). در یک چرخه استروس طبیعی، در هر مرحله، میزان سرمی هورمون‌ها توسط مکانیسمهای خود تنظیمی مثبت و منفی کنترل می‌شود و در مراحل مختلف چرخه استروس تنظیم بازخوردی استروئیدهای جنسی از طریق اثر بر گیرنده‌های متفاوت انتقال دهنده عصبی گابا صورت می‌پذیرد (۳). احتمالاً شوک الکتریکی از طریق تغییر میزان انتقال گابا از طریق گیرنده‌های مرکزی گابا A و B تغییرات قابل ملاحظه‌ای را در میزان استروئید سرمی ایجاد می‌کند. نوع اثر گابا بسته به نوع گیرنده متفاوت است (۲۱ و ۲۰). با فعال شدن گیرنده A گابا، غلظت سرمی پروژسترون کاهش و چند ساعت پس از مهار گیرنده، افزایش قابل ملاحظه‌ای در میزان سرمی هورمون پروژسترون ایجاد می‌شود (۲۱). استروژن در زمان تخمک‌گذاری با مکانیسم خودتنظیمی مثبت تنظیم می‌شود و در سایر مراحل چرخه با مکانیسم خود تنظیمی منفی ترشح آن کنترل می‌شود. علت کاهش سطح سرمی استروژن در مرحله متاستروس با تعداد شوک بیشتر احتمالاً مربوط به تاثیر شوک الکتریکی با دوز اعمال شده بر روی گیرنده‌های متفاوت گابا می‌باشد که در مکانیسم خود تنظیمی آن نقش دارند (۲۱ و ۳). تاثیر شوک الکتریکی با دوز، دفعات اعمال و به کارگیری کوتاه و طولانی مدت از طریق میزان تغییر انتقال دهنده‌های عصبی گابا، سروتونین و دوپامین و

The Effect of Electro Shock on Estrogen and Progesterone Hormones in Different Stages of Estrous Cycle in Adult Female Mice

R. Pozesh (MSc)¹, M.A. Hosseinpour Feizi (PhD)^{1*}, S.M. Banan Khojasteh (PhD)¹,
F. Sheikhzadeh Hesari (PhD)¹

1. Department of Animal Science, Faculty of Natural Sciences, Tabriz University, Tabriz, Iran

J Babol Univ Med Sci; 16(6); Jun 2014; pp: 57-63

Received: Aug 17th 2013, Revised: Nov 6th 2013, Accepted: Jan 5th 2014.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Irregular sexual cycle due of improper hormone secretion is most common cause of infertility. Considering fact that women experience twice the rate of depression as men and electroconvulsive therapy (ECT) is one of used treatment methods, therefore this study was conducted to investigate the effect of electric shock on secretion of sex hormones.

METHODS: In this experimental study 60 albino mice (weighting 28 ± 1.5 g and 9-12 weeks) with normal sex cycle were divided into 12 groups of 5 mice in each group after determining estrous cycle stages with vaginal smear: four control groups in our estrous cycle stages, four groups receiving one shock in each of four stages and four groups receiving two-shocks (with interval of 4 hours) in each stage of sex cycle. Shock operation was conducted with laboratory shock device and tolerable shock for mice. Blood samples were collected from mice in the same stage of receiving shock to measure sex hormones and assayed by ELISA method and compared.

FINDINGS: Mean serum level of estrogen hormone showed significant difference only in the group receiving two shocks in metestrus stage (3.92 ± 0.074) in comparison to control group of this stage (4.36 ± 0.118) ($p < 0.05$). Only in diestrus stage, mean serum level of progesterone of one-shock group (5.264 ± 0.243) and two shock group (5.24 ± 0.029) showed no statistically significant difference in comparison to control group (5.466 ± 0.102).

CONCLUSION: The result of study indicated that electroshock operation had no effect on serum level of both hormones just in diestrus stage of estrous cycle.

KEY WORDS: *Electroshock, Female mice, Estrous cycle, Estrogen, Progesterone.*

Please cite this article as follows:

Pozesh R, Hosseinpour Feizi MA, Banan Khojasteh SM, Sheikhzadeh Hesari F. The effect of electro shock on estrogen and progesterone hormones in different stages of estrous cycle in adult female mice. J Babol Univ Med Sci 2014;16(6):57-63.

* Corresponding Author; M.A. Hosseinpour Feizi (PhD)

Address: Department of Animal Science, Faculty of Natural Sciences, Tabriz University, Azadi St., Tabriz, East Azarbaijan Province, Iran

Tel: + 98 411 3370497

E-mail: Pouefeizi@eastp.ir

References

1. Younesi SJ, Salagegheh A. Body image in fertile and infertile women. *J Reprod Infertil* 2001;2(4):1-14. [in Persian]
2. Dohle GR, Colpi GM, Hargreave TB, et al. EAU guidelines on male infertility. *Eur Urol* 2005;48(5):703-11.
3. Fritz MA, Speroff L. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. Translated by: Valadan M, Ghorbani MH, Gouranorimi O. 8th ed. Tehran: Arjmand Publications c2011; pp: 11-582.[in Persian]
4. Soleimani Rad J, Karimi KH, Roshanger L. Effect of electromagnetic fields on the formation process of follicle and its growth in the ovaries. *Anatomical Sci J* 2002;1(1):47-51. <http://search.ricest.ac.ir/ricest/show1.aspx?enc=m3k5Q5uqVdSYBS78L9umWvk8Rp2lnCXEo5hs1ipSz/Y=> [in Persian]
5. Pincus HA, Pettit AR. The societal costs of chronic major depression. *J Clin Psychiatry* 2001;62(suppl 6):5-9.
6. Wittchen H-U, Hoyer J. Generalized anxiety disorder: nature and course. *J Clin Psychiatry* 2001;62(suppl 11):15-19.
7. Rice DP, Miller LS. Health economics and cost implications of anxiety and other mental disorders in the United States. *Br J Psychiatry Suppl* 1998;34:4-9.
8. Wells KB, Stewart A, Hays RD, et al. The functioning and well-being of depressed patients, results from the medical outcomes study. *JAMA* 1989;262(7):914-9.
9. Weissman MM, Bland R, Joyce PR, Newman S, Wells JE, Wittchen HU. Sex differences in rates of depression: cross-national perspectives. *J Affect Disord* 1993;29(2-3):77-84.
10. Kessler RC, McGonagle KA, Zhao S, et al. Lifetime and 12-month prevalence of DSM-III-R psychiatric disorders in the United States: results from the National Comorbidity Survey. *Arch Gen Psychiatry* 1994;51:8-19
11. Weissman MM, Bland RC, Canino GJ, et al. Cross-national epidemiology of major depression and bipolar disorder. *JAMA* 1996;276(4):293-9.
12. Rudorfer MV, Henry ME, Sackeim HA. Electroconvulsive therapy. In: Tasman A, Kay J, Lieberman JA (eds). *Psychiatry*. 2nd ed. Chichester: John Wiley & Sons Ltd 2003; pp:186-90.
13. Mann JJ. Neurobiological correlates of the antidepressant action of electroconvulsive therapy. *J ECT* 1998;14(3):172-80.
14. Cooper AJ, Finlayson R, Velamoor VR, Magnus RV, Cernovsky Z. Effects of ECT on prolactin, LH, FSH and testosterone in males with major depressive illness. *Can J Psychiatry* 1989;34(8):814-17.
15. Motta E, Ostrowska Z, Kazibutowska Z, et al. The effect of a single electroconvulsive shock on pituitary-thyroid-adrenal-gonadal axis function in men with severe depression--preliminary report. *Psychiatr Pol* 2005;39(3):469-79.
16. Zarrow MX, Yochim JM & McCarthy JL. *Experimental endocrinology: a sourcebook of basic techniques*. 1st ed. New York: Academic Press 1964; pp: 339.
17. Hosseinpour Feizi MA, Karimi KH, Saebinia R, Azrfam P. Effect of sinusoidal- vibration ECT on leydig cells, Sertoli cells, FSH, LH hormones. *Iran J Basic Med Sci* 2006;9(2):91-5. [in Persian] http://www.mums.ac.ir/shares/basic_medical/basicmedjou/85/Summer85/IJBMS%20Hossinpour.pdf.
18. Baghai TC, Michele F, Schule C, et al. Plasma concentrations of neuroactive steroids before and after electroconvulsive therapy in major depression. *Neuropsychopharmacology* 2005;30(6):1181-6.
19. Ozsoy S, Esel E, Hacimusalar Y, Candan Z, Kula M, Turan A. Chronic effects of electroconvulsive therapy on neuroactive steroids in patients with major depressive disorder, *Turk Psikiyatri Dergisi* 2008;19(4):341-8.
20. Christian CA, Moenter SM. Estradiol induces diurnal shifts in GABA transmission to gonadotropin-releasing hormone neurons to provide a neural signal for ovulation. *J Neurosci* 2007;27(8):1913-21.
21. Bahrebar M, Bahaoddini A, Taherianfard M. The central effects of GABAergic system on the steroidogenesis. *J Med Sci Islamic Azad Univ* 2007;17(1):9-15. <http://journals.prsid.com/ViewPaper.aspx?ID=72147> [in Persian]

22.Scacchi P, Caarbone S, Szwarcfarb B, Rondina D, Wuttke W, Moguilevsky JA. Interactions between GABAergic and serotonergic systems with excitatory aminoacid neurotransmission in the hypothalamic control of gonadotropin secretion in prepubertal female rats. *Brain Res Dev Brain Res* 1998;105(1):51-8.