

مجله غدد درون ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی
سال ششم، شماره ۲، صفحه‌های ۱۳۷ - ۱۳۳ (تابستان ۱۳۸۳)

تأثیر هورمون رشد و فاکتور شبه انسولین ۱ بر ترشح هورمون تستوسترون در موش صحرایی نابالغ نر

دکتر محسن فیروززای^(۱)، دکتر فاروق اورنج^(۲)، سیامک شهیدی^(۳)

چکیده

مقدمه: هورمون رشد و فاکتورهای مربوط به آن می‌توانند بر ترشح هورمون‌های جنسی مؤثر باشند. نشان داده شده است که درمان با هورمون رشد (GH) موجب پیشبرد بلوغ می‌شود. این احتمال وجود دارد که هورمون رشد و عوامل مرتبط با آن نظیر فاکتور رشد شبه انسولین ۱ (IGF-I) با افزایش توانایی ترشحات سلول‌های لیدیگ سبب سرعت بخشیدن به روند بلوغ شود. با در نظر گرفتن درصد نسبتاً بالای افراد مبتلا به بیماری‌های مربوط به تغییرات ترشح هورمون‌های جنسی، در این مطالعه اثر هورمون رشد و IGF-I بر تحریک گنادها برای ترشح تستوسترون مورد مطالعه قرار گرفته است. **مواد و روش‌ها:** موش‌های صحرایی نژاد Wistar نابالغ در ده گروه مورد بررسی قرار گرفتند. هورمون رشد، IGF-I و hCG به طور منفرد یا با یکدیگر به موش‌های گروه‌های مختلف تزریق شد و عصاره سلول‌های لیدیگ نیز از گروه‌هایی از موش‌های مورد مطالعه استخراج و در معرض هورمون رشد، IGF-I و hCG به طور منفرد یا با یکدیگر قرار گرفت. سپس از موش‌هایی که تزریق روی آنها انجام شده بود نمونه خون گرفته شد و میزان تستوسترون در سرم و در عصاره سلول‌های لیدیگ اندازه‌گیری شد. یافته‌ها: تزریق GH سبب افزایش چشمگیر ترشح تستوسترون شد ($p=0/0001$) اما تزریق GH به همراه تزریق IGF-I و hCG افزایش معنی‌داری در ترشح تستوسترون ایجاد نکرد. تزریق IGF-I به همراه hCG در مقایسه با گروه دریافت کننده hCG منفرد کاهش ترشح تستوسترون را سبب شد ($p=0/001$). تزریق GH و IGF-I با افزایش ترشح تستوسترون همراه بود ($p=0/02$) و سلول‌های لیدیگ در حضور GH مقدار بیشتری تستوسترون ترشح کردند ($p<0/0001$). ترشح تستوسترون توسط سلول‌های لیدیگ در حضور IGF-I و نیز در حضور GH و IGF-I به یک میزان بود. نتیجه‌گیری: IGF-I بر ترشح تستوسترون و لذا بلوغ جنسی موش‌های نابالغ مؤثر نبوده، حتی اثر GH و hCG را بر ترشح تستوسترون کاهش می‌دهد. به نظر می‌رسد که اثر مستقیم هورمون رشد بر ترشح تستوسترون بیشتر از اثر غیرمستقیم آن بر هیپوتالاموس است. LH (یا hCG) به عنوان هورمون اصلی در این امر مطرح است، اما IGF-I اثر بارزی بر بلوغ جنسی نداشته است.

واژگان کلیدی: هورمون رشد، فاکتور رشد شبه انسولین ۱، تستوسترون، موش صحرایی نابالغ

مقدمه

هورمون رشد و فاکتورهای مربوط به آن از جمله موادی به شمار می‌روند که بر ترشح هورمون‌های جنسی اثر کنترل‌کننده یا تعدیل‌کننده به جا می‌گذارند.^۱ مشخص شده

(۱) گروه بیوشیمی - دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران
(۲) گروه فیزیولوژی - دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی
نشانی مکاتبه: تهران، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی، دکتر محسن فیروززای
E-mail: stdntres@iums.ac.ir

است که درمان با هورمون رشد (GH) موجب پیشبرد شروع بلوغ و یا سرعت روند بلوغ می‌شود،^{۲-۴} اما مشخص نیست که آیا هورمون رشد مستقیماً بر گنادها اثر تحریکی به جا دارد و موجب پیشبرد بلوغ گنادها در مرحله قبل از بلوغ می‌شود یا به شکل غیر مستقیم بر عملکرد گنادها تأثیر می‌گذارد.^۵ نتایج به دست آمده از مطالعه بر پسران مبتلا به کوتاهی قد نشان داده است که برای پاسخگویی به هورمون رشد عوامل مختلف باید مورد نظر قرار گیرد، زیرا با نزدیک شدن به زمان بلوغ از میزان پاسخگویی به هورمون رشد کاسته شده، از این رو نقش گنادها در این زمینه اهمیت پیدا می‌کند.^۶ از طرف دیگر مشاهده شده است که بیماران مبتلا به کاهش ترشح هورمون رشد در صورت عدم درمان مناسب با این هورمون، دچار تأخیر در بلوغ (معادل ۲-۳ سال) می‌شوند.^۷ این احتمال وجود دارد که هورمون رشد و عوامل مرتبط با آن نظیر فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-I)، با افزایش دادن غلظت پایه تستوسترون از طریق افزایش توانایی ترشحات سلول‌های لیدیک عمل کنند.^۸ به عقیده برخی، این احتمال وجود دارد که هورمون رشد اثر هورمون LH را بر سلول‌های لیدیک برای ترشح تستوسترون تسهیل می‌کند^۹ و این اثر به صورت اثر مستقیم تحریکی بر بیضه‌هاست. با توجه به این واقعیت که سلول‌های لیدیک رسپتورهای ویژه برای فاکتور رشد شبه انسولین دارند، آیا این ماده نیز می‌تواند مستقیماً بر سلول‌های لیدیک اثر تحریکی یا تسهیل‌کننده داشته باشد؟ گزارش‌های زیادی از وجود رسپتور ویژه هورمون رشد در دست نیست. در این مطالعه اثرات تجویز هورمون رشد و IGF-I در دوره پیش از بلوغ در پیشرفت بلوغ غدد جنسی از طریق اندازه‌گیری تغییرات ترشح هورمون تستوسترون در پاسخ به تزریق کوتاه مدت هورمون رشد و IGF-I در موش صحرایی نر نابالغ بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از موش‌های نر نابالغ نژاد ویستار که در شروع آزمایش‌ها چهار تا پنج هفته سن داشتند استفاده شد (انستیتو پاستور ایران). حداقل یک هفته قبل از شروع موش‌ها برای تطبیق با محیط، در اتاق حیوانات و در قفس‌هایی ۵-۷ تایی نگهداری شدند. درجه حرارت اتاق حیوانات 22 ± 2 درجه سانتیگراد و دوره روشنایی و تاریکی

۱۲/۱۲ بود. آب و غذا آزادانه در اختیار موش‌ها قرار داشت. موش‌ها به طور تصادفی در ۱۲ گروه تقسیم شدند. هورمون رشد (سیگما) که به صورت لیوفیلیزه بود در محلول نرمال سالین حل و به غلظت مورد نیاز تهیه شد. فاکتور رشد شبه انسولین، IGF-I، (سیگما) که به صورت محلول بود در حلال ABS^۱ به غلظت مناسب رقیق شد. هورمون گنادوتروپین کوریونیک انسانی hCG (N.V. Organon) که به صورت لیوفیلیزه خریداری گردید با محلول ABS به غلظت مناسب رسانده شد. هورمون رشد (1/5 U/kg)، فاکتور رشد شبه انسولین (1/5 mg/kg) به صورت زیرپوستی و هورمون hCG (5001 U/kg) به صورت داخل صفاقی تزریق شدند.^۸ تزریق هورمون رشد ساعت ۷ بعد از ظهر و تزریق هورمون IGF-I در دو نوبت ساعت ۸ صبح و ۷ بعد از ظهر به مدت ۶ روز صورت گرفت. هورمون hCG ساعت ۷ بعد از ظهر تزریق شد به گروه ۱ و ۲ هورمون رشد و در روز هفتم به گروه ۱ نرمال سالین و به گروه ۲، hCG تزریق شد. به گروه ۲ و ۴، هورمون رشد و IGF-I تزریق و در روز هفتم به گروه ۳ نرمال سالین و به گروه ۴، hCG تزریق شد. به گروه ۵ شش روز متوالی روزی دوبار IGF-I و پس از ۱۲ ساعت hCG تزریق شد. گروه ۶ پس از شش روز مصرف سالین hCG، دریافت نمودند. به گروه ۷ نیز پس از شش روز متوالی تزریق IGF-I، نرمال سالین تزریق شد.^۸ گروه ۸ هفت روز متوالی تنها سالین دریافت نمود. به عصاره حاوی سلول‌های لیدیک که از بیضه موش‌های گروه ۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ استخراج شده بود به ترتیب محلول‌های سالین، IGF-I، GH، IGF-I+GH اضافه شد. انکوبه نمودن سلول‌های لیدیک با محلول‌های فوق در حضور hCG انجام شد. از تمامی موش‌های هشت گروه ۱۲ ساعت بعد از آخرین تزریق با جدا کردن سر آنها نمونه خون گرفته شد. سرم خون تهیه و هورمون تستوسترون آنها اندازه‌گیری شد. عصاره سلول‌های لیدیک از بیضه موش‌ها با استفاده از روش تغییر داده شده دوفو^{۱۱} تهیه شد.^{۱۱} به این صورت که سلول‌های لیدیک بیضه‌های هر گروه از موش‌ها با محلول کربس رینگر بیکربنات و ABS و گلوکز به یک میلیون سلول در هر میلی‌لیتر رسانده شد. سپس یک میلی‌لیتر از این عصاره به همراه هورمون یا هورمون‌ها به ترتیبی که ذکر شد در حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد در همان‌روز به مدت سه ساعت

i- Albumine Bovine serum

ii- Dufau

جدول ۲- میزان تستوسترون سرم خون (ng/mL) موش‌هایی که سالی، IGF-I و hCG دریافت نمودند.

تستوسترون	
IGF-I + سالی	۰/۵۷±۰/۰۵۲
سالی	۰/۶۳±۰/۴۰
hCG+IGF-I	۱/۵۶±۰/۹۳*
hCG + سالی	۶/۵۹±۰/۷۸

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند.

* $p < 0.001$ در مقایسه با hCG و سالی

افزایش میزان تستوسترون سرم خون در موش‌های دریافت کننده hCG و IGF-I نسبت به موش‌های دریافت کننده hCG و سالی به طور چشمگیری کاهش داشت ($p < 0.001$) (جدول ۲). در گروه موش‌های دریافت کننده سالی، IGF-I و GH نسبت به گروه شاهد دریافت کننده سالی افزایش میزان تستوسترون سرم خون معنی‌داری بود ($p < 0.02$) (جدول ۳). اگر چه افزایش میزان تستوسترون در گروه موش‌های دریافت کننده hCG، GH و IGF-I در مقایسه با گروه دریافت کننده hCG و سالی دیده می‌شد اما از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p < 0.096$) (جدول ۳). نتایج به دست آمده از میزان تستوسترون ترشح شده توسط عصاره سلول‌های لیدیک به شرح زیر است:

میزان ترشح تستوسترون توسط سلول‌های لیدیک در حضور hCG و سالی 10^6 cells 28.00 ± 2.20 ng/mL بود اما ترشح تستوسترون در سلول‌های لیدیک با حضور hCG و GH بیشترین میزان را نشان داد 10^6 cells 85.42 ± 5.37 ng/mL و در مقایسه با گروه شاهد (سلول‌های لیدیک در حضور hCG و سالی این افزایش معنی‌دار بود ($p < 0.0001$) (شکل ۱).

جدول ۳- میزان تستوسترون سرم خون (ng/mL) موش‌هایی که سالی، IGF-I، GH و hCG دریافت نمودند

تستوسترون	
IGF-I+GH + سالی	۳/۸۶±۱/۷۹*
سالی	۰/۶۳±۰/۴۰
IGF-I+GH+hCG	۱۳/۲±۱/۷۳†
hCG+ سالی	۶/۵۹±۰/۷۸

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند

* $p < 0.02$ در مقایسه با سالی

† $p < 0.09$ در مقایسه با سالی و hCG

انکوبه شد. پس از انکوباسیون، محلول سانتیفریژ و میزان تستوسترون اندازه‌گیری شد. میزان بازیافت تستوسترون با افزایش مقادیر مختلف تستوسترون سرم و عصاره سلول‌های لیدیک تعیین شد. بازیافت تستوسترون بیش از ۶۵٪ بود. اندازه‌گیری غلظت هورمون تستوسترون در نمونه‌های سرم و عصاره لیدیک به روش الیزا و با استفاده از کیت کاپ DRG انجام شد.

نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شد. برای آنالیز آماری مقایسه‌ای گروه‌ها، از آنالیز واریانس و آزمون t استفاده شد. مقدار p کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل آماری نتایج توسط نرم‌افزار SPSS ۹ انجام و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شد.

یافته‌ها

در گروه موش‌هایی که شش روز مصرف GH و یک بار تزریق سالی زیرپوستی داشتند نسبت به گروه شاهد (بدون دریافت GH) افزایش معنی‌داری در میزان تستوسترون سرم خون مشاهده شد ($p < 0.0001$). تفاوت میزان تستوسترون سرم خون در گروه موش‌هایی که hCG و GH دریافت کرده بودند نسبت به گروه دریافت کننده hCG و سالی معنی‌دار نبود (جدول ۱).

جدول ۱- میزان تستوسترون سرم خون (ng/mL) موش‌هایی که سالی، GH و hCG دریافت نمودند.

تستوسترون	
GH + سالی	۲/۱۰±۰/۰۱*
سالی	۰/۶۳±۰/۴۰
hCG+GH	۸/۴۰±۱/۹۹
hCG + سالی	۶/۵۹±۰/۷۸

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند

* $p < 0.0001$ در مقایسه با سالی

میزان تستوسترون سرم خون در گروه موش‌های دریافت کننده سالی و IGF-I نسبت به گروه شاهد دریافت کننده سالی، تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول ۲).

تستوسترون در تمام موارد توسط سلول‌های لیدیک افزایش بسیار بیشتری دارد ($p < 0.001$).

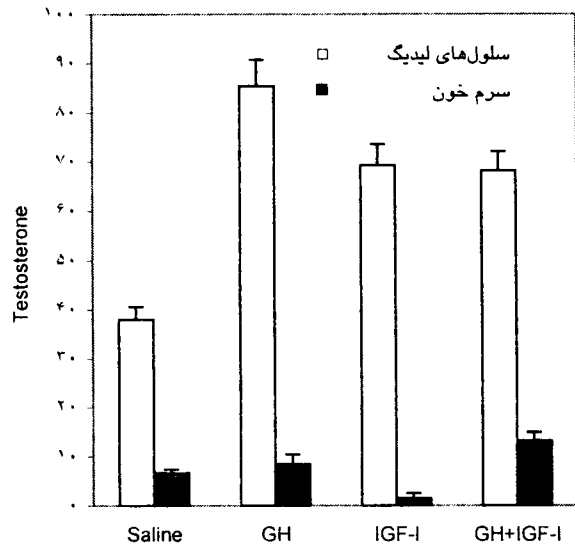
بحث

بلوغ جنسی در پسرهایی که در دوران بلوغ جنسی کمبود هورمون رشد دارند، به تعویق می‌افتد.^۷ چگونگی تأثیر هورمون رشد و نیز هورمون رشد شبه انسولین (IGF-I) بر بلوغ جنسی به خوبی روشن نشده است. در این بررسی اثر هورمون رشد تزریق شده بر ترشح تستوسترون در موش‌ها و نیز اثر آن بر سلول‌های لیدیک جدا شده از بیضه اثری تحریکی بوده که می‌تواند این اثر به صورت تأثیر مستقیم بر سلول‌های لیدیک بوده باشد (شکل ۱). اثر هورمون رشد بر سلول‌های لیدیک جدا شده احتمال وجود گیرنده‌های هورمون رشد را بر این سلول‌ها تأیید می‌کند.^{۱۱} نتایج به دست آمده در این بررسی و مطالعات دیگر وجود اثر غیرمستقیم GH را از طریق هیپوتالاموس بر بیضه‌ها برای تولید تستوسترون رد نمی‌کند (جدول ۱). گرچه در برخی مطالعات^{۱۲} اثر مستقیم GH را بر سلول‌های لیدیک نتوانسته‌اند نشان دهند، نتایج مطالعه حاضر و مطالعات دیگر وجود گیرنده‌های GH در سلول‌های لیدیک را تأیید می‌کند.^۸ hCG تزریق شده که اثری مشابه LH دارد به عنوان مهمترین هورمون تحریک کننده بیضه و سلول‌های لیدیک در ترشح تستوسترون مطرح شده است (جدول‌های ۱ تا ۳). تزریق hCG به تنهایی بیشترین اثر را بر ترشح تستوسترون داشته است و چنانچه همراه با هورمون رشد تزریق گردد اثر آن بیشتر می‌شود.^۲ در این مطالعه اگر چه GH اثر hCG را افزایش می‌دهد، این اثر باعث افزایش معنی‌دار تستوسترون نمی‌شود (جدول ۱).

از نتایج قابل توجه بررسی حاضر، اثر کاهش دهنده IGF-I بر ترشح تستوسترون است. در این بررسی تزریق IGF-I به تنهایی یا همراه با hCG سبب کاهش ترشح تستوسترون گردید (جدول ۲).

برخی مطالعات نشان داده‌اند که سلول‌های لیدیک برای IGF-I گیرنده دارند و IGF-I اثر GH و LH را بر این سلول‌ها برای تولید تستوسترون تحریک می‌کند.^{۱۱} اما مطالعه حاضر، اثر کاهش دهنده IGF-I بر ترشح تستوسترون وجودگیرنده‌های تحریکی IGF-I را در سلول‌های لیدیک رد می‌کند (شکل ۱). آنچه از نتایج به دست آمده می‌توان دریافت، آن است که IGF-I در دوران بلوغ

اگرچه میزان ترشح هورمون تستوسترون توسط سلول‌های لیدیک در حضور hCG و IGF-I کمتر بود (10^6 cells $1.0 \pm 0.28/0.69$ ng/mL)، نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد ($p < 0.001$) (شکل ۱).



شکل ۱- میزان تستوسترون ترشح شده از سلول‌های لیدیک (10^6 cells/ng/mL) در حضور هر یک از محلول‌های سالین GH + IGF-I / GH و مقایسه آن با میزان تستوسترون در سرم خون موش‌های مورد مطالعه (ng/mL) پس از تزریق هر یک از محلول‌های فوق ($p < 0.001$)

میزان ترشح هورمون تستوسترون توسط سلول‌های لیدیک در حضور hCG، IGF و GH نیز تقریباً مشابه میزان آن در سلول‌ها در حضور hCG و IGF بود (10^6 cells/ng/mL $1.0 \pm 0.28/0.69$) که نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0.001$). نتایج فوق نشان می‌دهد که حضور GH به تنهایی در کنار سلول‌های لیدیک سبب ترشح بیشتر هورمون تستوسترون شده، حضور IGF-I در کنار GH به ترشح بیشتر هورمون تستوسترون نمی‌انجامد.

شکل ۱ میزان ترشح هورمون تستوسترون را در گروه‌های مختلف موش‌های دریافت‌کننده محلول‌های هورمونی در مقایسه با هورمون تستوسترون ترشح شده توسط سلول‌های لیدیک در حضور هورمون‌های مختلف نشان می‌دهد. به طوری که مشاهده می‌شود ترشح هورمون

سپاسگزاری

از زحمات آقای محمد سراسکانی که در انجام برخی آزمایش‌ها ما را یاری نمودند قدردانی می‌گردد. در طول انجام طرح از پیشنهادات خانم دکتر معتمدی استفاده گردید. نویسندگان از همکاری خانم نادری و نظری جهت تایپ پرسشنامه، گزارش نهایی طرح و مقاله تشکر می‌نمایند. این مقاله بر اساس طرح تحقیقاتی مصوب در معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهیه گردید.

موش‌های مورد مطالعه به عنوان یک هورمون مؤثر بر بلوغ جنسی عمل نمی‌کند و حتی اثر GH و hCG را بر ترشح تستوسترون کاهش می‌دهد. بررسی اثر IGF-I تزریق شده به موش‌ها نتایج مطالعات دیگری را^{۱۳} که نشان دهنده اثر فیدبک IGF-I بر ترشح GH از هیپوفیز است، تأیید می‌کند. در مجموع این بررسی نشان داد که اثر مستقیم هورمون‌های رشد بر ترشح تستوسترون و ارتقای بلوغ جنسی بیشتر از اثر غیرمستقیم آن بر هیپوتالاموس بوده است. hCG (LH) به عنوان هورمون اصلی در این امر مطرح بود و IGF-I اثر بارزی بر بلوغ جنسی نداشت.

References

1. Darendeliler F, Hindmarsh PC, Preece MA, Cox L, Brook CG. Growth hormone increases rate of pubertal maturation. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1990 Mar;122(3):414-6.
2. Giustina A, Scalvini T, Tassi C, Desenzani P, Poiesi C, Wehrenberg WB, et al. Maturation of the regulation of growth hormone secretion in young males with hypogonadotropic hypogonadism pharmacologically exposed to progressive increments in serum testosterone. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997 Apr;82(4):1210-9.
3. Wilson JD, Foster, DW, (editors): *Williams Textbook of Endocrinology*, 8th edition. New York: WB. Saunders Co.; 1992. P. 799-803.
4. Mani Maran RR, Sivakumar R, Ravisankar B, Valli G, Ravichandran K, Arunakaran J, et al. Growth hormone directly stimulates testosterone and oestradiol secretion by rat Leydig cells in vitro and modulates the effects of LH and T3. *Endocr J*. 2000 Apr;47(2):111-8.
5. Odell WD, Swerdloff RS. Etiologies of sexual maturation: a model system based on the sexually maturing rat. *Recent Prog Horm Res*. 1976;32:245-88.
6. Hibi I, Tanaka T, Tanaka A, Kagawa J, Hashimoto N, Yoshizawa A, et al. The influence of gonadal function and the effect of gonadal suppression treatment on final height in growth hormone (GH)-treated GH-deficient children. *J Clin Endocrinol Metab*. 1989 Aug;69(2):221-6.
7. Fisker S, Norrelund H, Juul A, Skakkebaek NE, Christiansen JS, Jorgensen JO. The growth hormone (GH)-insulin-like growth factor axis during testosterone replacement therapy in GH-treated hypopituitary males. *Growth Horm IGF Res*. 2001 Apr;11(2):104-9.
8. Ohya K, Ohta M, Nakagomi Y, Yamori T, Sano T, Shimura Y, et al. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor I on testosterone secretion in premature male rats. *Endocr J*. 1995 Dec;42(6):817-20.
9. Eakman GD, Dallas JS, Ponder SW, Keenan BS. The effects of testosterone and dihydrotestosterone on hypothalamic regulation of growth hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996 Mar;81(3):1217-23.
10. Vierhapper H, Nowotny P, Waldhausl W. Unchanged testosterone production rates in growth hormone-treated healthy men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998 Oct;83(10):3735-6.
11. Zadik Z, Chalew S, Zung A, Landau H, Leiberman E, Koren R, et al. Effect of long-term growth hormone therapy on bone age and pubertal maturation in boys with and without classic growth hormone deficiency. *J Pediatr*. 1994 Aug;125(2):189-95.
12. Ovesen P, Moller J, Jorgensen JO, Moller N, Christiansen JS. Effect of growth hormone administration on circulating levels of luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and testosterone in normal healthy men. *Hum Reprod*. 1993 Nov;8(11):1869-72.
13. Mauras N, Rogol AD, Haymond MW, Veldhuis JD. Sex steroids, growth hormone, insulin-like growth factor-1: neuroendocrine and metabolic regulation in puberty. *Horm Res*. 1996;45(1-2):74-80.