مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۲۰، شماره ۲/ خرداد و تیر ۱۳۹۷/ ۳۴-۲۴

مقاله پژوهشی

اثرات پری ناتال و نئوناتال آندروژن ها بر میزان پلاسمایی تستوسترون، هموسیستئین، طول و قطر استخوان های دراز در زاده های نر و ماده موش های صحرایی

نجمه کاربر[۱]، سید ابراهیم حسینی[۱*]، غلامحسین رنجبر عمرانی[۲]

گروه زیست‌شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران؛ [۲]مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۱۵ *تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۱۶*

چکیده:

زمینه و هدف: **هموسیستئین یک اسیدآمینه کوچک حاوی سولفور است که میزان آن تحت تأثیر هورمون‌های آندروژنیک تغییر می‌کند. با توجه به تأثیر هموسیستئین بر رشد بافت‌های استخوانی این مطالعه با هدف بررسی اثرات پری ناتال و نئوناتال هورمون تستوسترون بر میزان سرمی هموسیستئین و رشد طولی و قطری استخوان‌های ران و بازو زاده‌های موش‌های صحرایی انجام گردید.**

روش بررسی: **این مطالعه تجربی بر روی ۲۵۶ سر از زاده‌های نر و ماده ۴۰ سر موش صحرایی ماده که به ٤ گروه کنترل (فاقد تیمار)، شاهد (تیمار با حلال دارو)، تجربی پری ناتال و نئوناتال که در دوران بارداری و شیردهی تحت تیمار با دوز ٦۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم تستوسترون تقسیم شدند، صورت گرفت. سپس نوزادان گروه‌های مختلف در دو دسته نر و ماده در روزهای ۷، ١٤، ۲۱ و بلوغ از نظر میزان تستوسترون، هموسیستئین، طول و قطر استخوان های ران و بازو مورد ارزیابی قرارگرفتند و نتایج به دست آمده با نرم‌افزار SPSS و با کمک آزمون‌های ANOVA و تی مورد آنالیز قرار گرفتند و معنی داری اختلاف داده‌ها در سطح P<۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.**

یافته‌ها: **نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها نشان داد که در زاده‌های موش‌های تحت تیمار با تستوسترون میزان سرمی هموسیستئین و تستوسترون افزایش معنی داری مشاهده می‌گردد (P<۰/۰۵) و تنها در زاده‌های نر و ماده در روزهای ۲۱ ام و زمان بلوغ کاهش معنی داری در طول و قطر استخوان های ران و بازو مشاهده گردید (P<۰/۰۵).**

نتیجه‌گیری: **نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز تستوسترون در دوران بارداری و شیردهی باعث افزایش میزان تستوسترون و هموسیستئین و کاهش طول و قطر استخوان‌های ران و بازو می‌شود.**

واژه‌های کلیدی: **تستوسترون، هموسیستئین، استخوان ران، استخوان بازو، پری ناتال، نئوناتال.**

مقدمه:

هموسیستئین یک اسیدآمینه واسطه‌ای است که از تبدیل متیونین به سیستئین ایجاد می‌شود و به‌عنوان یکی از فاکتورهای مهم در ایجاد بیماری‌های عروقی و ترومبوز وریدی به‌حساب می‌آید (۱). هموسیستئین یک اسیدآمینه کوچک حاوی سولفور است که در صورت افزایش میزان آن در سرم خون، باعث ایجاد عوارض گوناگونی ازجمله بیماری‌های عروقی و قلبی می‌شود، همچنین میزان هموسیستئین در افراد مبتلا به بیماری‌های فشارخون و قلبی- عروقی، سیگاری، کهنسال و در مردان بیشتر از افراد سالم، جوان و زنان می‌باشد (۲). به‌علاوه در یک بررسی نشان داده شد که در ۱۰٪ از بیماران عروق کرونری میزان پلاسمایی هموسیستئین

نویسنده مسئول: شیراز- دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز- گروه زیست‌شناسی- تلفن: ۰۹۱۷۱۱۸۳۹۱۷،
E-mail: ebrahim.hossini@yahoo.com

بالاتر از افراد سالم است و دریافت مقدار ۳ گرم امگا-۳ به‌صورت روزانه و به مدت ۲ ماه موجب کاهش میزان این ماده در خون می‌گردد (۳).

کمبود آنزیم‌های لازم برای متابولیسم هموسیستئین و یا کوفاکتورهایی مانند: فولات، ویتامین B12 و B6 باعث هیپرهموسیستئینمی می‌گردد (۴). میزان بالای مارکرهای پیش التهابی هموسیستئن و پروتئین واکنش گر C (CRP) موجب عوارض متعددی ازجمله آترواسکلروز، ترومبوز وریدی و مشکلات متعدد قلبی- عروقی می‌شود؛ درحالی‌که ۱۲ هفته تمرین تناوبی پر شدت به‌عنوان یک روش غیرتهاجمی، می تواند اثر مثبتی بر کاهش میزان هموسیستئین داشته باشد (۵).

فعالیت بدنی در زنان چاق یا دارای اضافه‌وزن می‌تواند باعث کاهش غلظت سرمی هموسیستئین گردد و از این طریق، باعث کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی- عروقی می‌شود (۶). نشان داده است که افزایش هموسیستئین را می‌توان به‌عنوان یک عامل خطر احتمالی در ایجاد ناهنجاری‌های جنینی مرتبط با کاربامازپین مطرح کرد (۷).

نتایج حاصل از یک مطالعه نشان داد که میزان پلاسمایی هموسیستئین در بیماران مبتلا به هپاتیت B افزایش می‌یابد و درمان با اینترفرون آلفا باعث کاهش میزان آن در پلاسما می‌شود (۸). هموسیستئین و مقاومت به انسولین ازجمله فاکتورهای خطرساز مهم قلبی- عروقی هستند و میزان هموسیستئین می‌تواند به‌وسیله انسولین کاهش و به‌واسطه شرایط مقاومت انسولینی افزایش یابد (۹).

استروژن درمانی در مردان باعث کاهش سطح سرمی هموسیستئین و آندروژن درمانی در زنان منجر به افزایش سطح سرمی هموسیستئین می‌گردد (۱۰). در یک پژوهش نشان داده شده است که ۱۰ هفته تمرین شنای استقامتی با شدت کم تا متوسط باعث بهبود سطح سرمی هموسیستئین و شاخص آتروژنیک در موش‌های صحرایی می‌گردد (۱۱). داده‌های یک مطالعه بیانگر آن است که هموسیستئنمی باعث بروز اختلالات اسکلتی می‌گردد و افزایش هموسیستئین در حین بارداری با چندین اختلال رشد و نموی در جنین همراه می‌باشد (۱۲). بعضی از مطالعات به وجود ارتباط بین میزان هموسیستئین و اختلال استئوپوروتیک اشاره و برخی نیز به وجود چنین ارتباطی اعتقاد ندارند (۱۴،۱۳).

نشان داده شده است که تغییرات بین میزان هموسیستئین، اسیدفولیک، ویتامین B12 و B6 در پلاسما در پدیده استئوپورزیس درگیر هستند (۱۵). در یک بررسی نشان داده شد که میزان غلظت املاح استخوانی در مردان با کم‌کاری غدد جنسی کاهش می‌یابد؛ درحالی‌که درمان با تستوسترون باعث افزایش دانسیته املاح استخوانی می‌شود (۱۶). مطالعات حیوانی نشان داده‌اند که سلول‌های استئوبلاست در بافت‌های استخوانی یکی از اهداف اثر هورمون‌های آندروژنیک می‌باشد که باعث افزایش رشد طولی، حجمی و رسوب املاح استخوانی در استخوان‌های مختلف می‌شود (۱۷).

بر اساس نتایج یک بررسی نشان داده شد که کمبود هورمون‌های جنسی در دوران رشد و نمو نمی‌تواند باعث کاهش املاح کلسیم در بافت‌های استخوانی شود (۱۸). نتایج حاصل از یک مطالعه بیانگر آن است که هورمون تستوسترون دارای اثر مثبت در افزایش سرعت ترمیم در بافت‌های استخوانی موش‌های صحرایی نر می‌باشد (۱۹). هورمون‌های جنسی نظیر استروژن، پروژسترون و آندروژن ها بر میزان رسوب املاح استخوانی در استخوان‌های مختلف دارای اثرات مثبت می‌باشند (۲۰). استروئیدهای جنسی یکی از فاکتورهای کلیدی در رشد ساختار اسکلتی و پیشگیری‌کننده از استئوپورزیس می‌باشند (۲۱).

با توجه به آنکه بر اساس مطالعات متعدد هورمون‌های جنسی بر میزان هموسیستئین در خون دارای تأثیر بوده و افزایش هموسیستئین در بدن نیز با اختلالات متعددی ازجمله بیماری‌های قلبی- عروقی و افزایش احتمال استئوپوروزیس همراه می‌باشد (۱۳) و ازآنجاکه تاکنون مطالعات چندانی در رابطه با تأثیر هورمون‌های جنسی مادری در دوران بارداری و یا

شیردهی بر میزان سرمی هورمون‌های آندروژنیک و هموسیستئین و همچنین بر میزان رشد طولی و قطری استخوان‌های دراز زاده‌های نابالغ و بالغ صورت نگرفته است. لذا این مطالعه با هدف بررسی اثر هورمون تستوسترون در دوران بارداری و شیردهی بر میزان سرمی هورمون‌های تستوسترون و هموسیستئین و طول و قطر استخوان‌های ران و بازوی نوزادان نر و ماده ۷، ۱۴، ۲۱ روزه و بالغ موش‌های صحرایی انجام گردید.

روش بررسی:

این یک مطالعه تجربی است که در سال ۱۳۹۴ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز انجام شد. در این بررسی از ۶۰ سر موش صحرایی ماده بالغ سالم از نژاد ویستار، در محدوده ی وزنی ۲۰۰ تا ۲۲۰ گرم و سن ۱۱۰ تا ۱۰۰ روزه استفاده گردید. حیوانات مورد بررسی در این مطالعه از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تهیه گردیدند. در مطالعه حاضر در طول دوره آزمایش، همه حیوانات از آب و غذای فشرده ساخت شرکت خوراک دام پارس تهران و بدون محدودیت برخوردار بودند و در یک اتاق مخصوص در دمای ۲±۲۰ درجه سلسیوس و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند.

پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حمایت از حیوانات آزمایشگاهی تنظیم و در کمیته اخلاق دانشگاه تحت شماره IR.miau13951016 به تصویب رسید. در این پژوهش جهت هم سیکل نمودن موش ها، ابتدا ۱۰۰ میکروگرم استرادیول والرات را در ۰/۲ میلی لیتر روغن زیتون حل نموده و سپس به‌صورت عضلانی با سرنگ انسولین تزریق شد، آنگاه پس از گذشت ۴۲ ساعت ۵۰ میکروگرم پروژسترون نیز به‌صورت عضلانی به حیوانات تزریق گردید.

۶ ساعت بعد از تزریق، از حیوانات اسمیر واژنی تهیه شد و بر اساس نسبت میان سه نوع جمعیت سلولی (سلول های اپی تلیال، سلول های شاخی و لکوسیت ها) مشاهده شده در اسمیر واژنی مشخص گردید که تمام حیوانات در مرحله استروس هم سیکل شده‌اند (۲۲).

در این تحقیق پس از هم سیکل سازی موش‌های ماده و قرار دادن موش‌های نر در کنار آن‌ها و پس از اطمینان از باردارشدن موش‌های ماده و با توجه به دوره بارداری و شیردهی موش‌ها که معمولاً هردو ۲۱ روزه می‌باشد، حیوانات به ۴ گروه کنترل (فاقد تیمار)، شاهد (تیمار با ۰/۲ میلی‌لیتر روغن زیتون به‌عنوان حلال دارو) و دو دسته تجربی دریافت‌کننده دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم هورمون تستوسترون در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ دوران بارداری و شیردهی تقسیم شدند.

کلیه تجویزها به‌صورت درون صفاقی انجام گردید. سپس با توجه به آنکه تعداد زاده‌های هر موش در این مطالعه بین ۶ تا ۸ سر نوزاد نر و ماده بود و همچنین با عنایت به مرگ‌ومیر حدوداً ۱۰ درصدی نوزادان و عدم وجود تفاوت معنی دار بین تعداد زاده‌های نر و ماده، ازهر گروه ۴۰ سر از زاده‌های نر و ۴۰ سر از زاده‌های ماده به‌صورت تصادفی انتخاب گردیدند و بعد از بی‌هوش نمودن ۸ سر از زاده‌های نر و ۸ سر از زاده‌های ماده هر گروه در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد از تولد و همچنین در زمان بلوغ و یا روز ۶۰ بعد از تولد از قلب آن‌ها جهت اندازه‌گیری میزان سرمی هورمون تستوسترون و هموسیستئین خون‌گیری به عمل آمد و آنگاه طول و قطر استخوان‌های ران و بازو به‌وسیله کولیس اندازه‌گیری گردید.

در این پژوهش هورمون تستوسترون و هموسیستئین به روش رادیوایمونواسی (RIA) با استفاده از دستگاه الیزا ریدر مدل (Eliza Reader Hiperion NP4 plus) اندازه گیری گردیدند. برای اندازه‌گیری هموسیستئین از کیت با مارک Axis-shield ساخت کشور نروژ و برای اندازه‌گیری هورمون های تستوسترون از کیت با مارک IBL, GmbH ساخت کشور آلمان استفاده گردید. در پایان نتایج به‌دست‌آمده از اندازه‌گیری طول و قطر استخوان‌های ران و بازو و همچنین میزان سرمی هورمون

تستوسترون و هموسیستئین در گروه‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و t و دانکن تجزیه و تحلیل و با یکدیگر مقایسه شدند و معنی داری اختلاف داده‌ها در سطح P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

نتایج این بررسی نشان داد که در بین میانگین هورمون تستوسترون و هموسیستئین در زاده‌های نر و ماده حیوانات گروه‌های کنترل و شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نگردید؛ درحالی‌که بین میانگین هورمون تستوسترون و هموسیستئین فرزندان نر در روزهای ۷ و ۱۴ بعد از تولد در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه کنترل به ترتیب تفاوت معنی داری در سطح P<۰/۰۱ و P<۰/۰۵ مشاهده می گردد. همچنین بین میانگین هورمون تستوسترون و هموسیستئین فرزندان نر در گروه تجربی ۲ نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی داری در سطح P<۰/۰۵ مشاهده می گردد. به‌علاوه بین میانگین هورمون تستوسترون و هموسیستئین فرزندان ماده در گروه های تجربی ۱ و تجربی ۲ نسبت به گروه کنترل و شاهد تفاوت معنی داری در سطح P<۰/۰۵ مشاهده می گردد (جداول شماره ۱ و ۲).

جدول شماره ۱: مقایسه میانگین میزان سرمی هورمون تستوسترون در زاده‌های نر و ماده در گروه‌های مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

پارامتر / گروه	کنترل (فاقد تیمار)	شاهد (تیمار با حلال دارو)	تجربی ۱ (تیمار با دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم در دوران بارداری)	تجربی ۲ (تیمار با دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم در دوران شیردهی)
میزان سرمی تستوسترون در زاده‌های نر در روز ۷ ام (نانوگرم بر میلی لیتر)	۰/۳۰±۰/۰۲	۰/۳۹±۰/۰۳	۰/۵۸±۰/۰۴*	۰/۶۵±۰/۰۵**
میزان سرمی تستوسترون در زاده‌های ماده در روز ۷ ام (نانوگرم بر میلی لیتر)	۰/۱۵±۰/۰۱	۰/۱۴±۰/۰۱	۰/۲۱±۰/۰۱**	۰/۲۲±۰/۰۲**
میزان سرمی تستوسترون در زاده‌های نر در روز ۱۴ ام (نانوگرم بر میلی لیتر)	۰/۴۰±۰/۰۵	۰/۴۷±۰/۰۶	۰/۶۰±۰/۰۸*	۰/۷۱±۰/۰۳**
میزان سرمی تستوسترون در زاده‌های ماده در روز ۱۴ ام (نانوگرم بر میلی لیتر)	۰/۱۹±۰/۰۲	۰/۱۸±۰/۰۵	۰/۲۹±۰/۰۱**	۰/۲۸±۰/۰۲**
میزان سرمی تستوسترون در زاده‌های نردر روز ۲۱ ام (نانوگرم بر میلی لیتر)	۰/۶۳±۰/۰۳	۰/۶۸±۰/۰۴	۰/۸۸±۰/۰۴*	۰/۹۴±۰/۰۷**
میزان سرمی تستوسترون در زاده‌های ماده در روز ۲۱ ام (نانوگرم بر میلی لیتر)	۰/۲۶±۰/۰۱	۰/۲۵±۰/۰۱	۰/۳۳±۰/۰۲*	۰/۳۴±۰/۰۲*
میزان سرمی تستوسترون در زاده‌های نر در زمان بلوغ (نانوگرم بر میلی لیتر)	۱/۹۴±۰/۲۲	۱/۷۹±۰/۲۰	۲/۹۰±۰/۲۶*	۳/۷۲±۰/۱۷***
میزان سرمی تستوسترون در زاده‌های نر در زمان بلوغ (نانوگرم بر میلی لیتر)	۰/۵۱±۰/۰۴	۰/۵۲±۰/۰۲	۰/۷۳±۰/۰۴**	۰/۸۵±۰/۰۶***

*: نشان‌دهنده تفاوت معنی دار در سطح P<۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل می باشد؛ **: نشان‌دهنده تفاوت معنی دار در سطح P<۰/۰۱ نسبت به گروه کنترل می باشد؛ ***: نشان‌دهنده تفاوت معنی دار در سطح P<۰/۰۰۱ نسبت به گروه کنترل می باشد.

جدول شماره ۲: مقایسه میانگین میزان سرمی هورمون هموسیستئین در زاده‌های نر و ماده در گروه‌های مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

پارامتر / گروه	کنترل (فاقد تیمار)	شاهد (تیمار با حلال دارو)	تجربی ۱ (تیمار با دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم در دوران بارداری)	تجربی ۲ (تیمار با دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم در دوران شیردهی)
میزان سرمی هموسیستئین در زاده‌های نر در روز ۷ ام (میکرومول بر لیتر)	۶/۰۲±۰/۳۲	۶/۴۶±۰/۳۹	۸/۰۷±۰/۶۶*	۸/۹۰±۰/۳۴**
میزان سرمی هموسیستئین در زاده‌های ماده در روز ۷ ام (میکرومول بر لیتر)	۴/۶۴±۰/۱۵	۴/۶۱±۰/۲۳	۶/۲۵±۰/۳۳**	۷/۱۶±۰/۴۶***
میزان سرمی هموسیستئین در زاده‌های نر در روز ۱۴ ام (میکرومول بر لیتر)	۶/۳۲±۰/۳۵	۶/۳۶±۰/۳۱	۸/۴۷±۰/۲۶*	۸/۸۵±۰/۱۴**
میزان سرمی هموسیستئین در زاده‌های ماده در روز ۱۴ ام (میکرومول بر لیتر)	۴/۹۶±۰/۱۹	۴/۷۱±۰/۲۴	۷/۲۵±۰/۲۳**	۷/۳۶±۰/۱۶***
میزان سرمی هموسیستئین در زاده‌های نر در روز ۲۱ ام (میکرومول بر لیتر)	۶/۲۵±۰/۲۷	۶/۶۳±۰/۳۷	۸/۳۵±۰/۶۴*	۹/۹۷±۰/۳۳***
میزان سرمی هموسیستئین در زاده‌های ماده در روز ۲۱ ام (میکرومول بر لیتر)	۵/۶۹±۰/۲۳	۵/۵۱±۰/۲۳	۷/۳۷±۰/۴۵**	۷/۸۹±۰/۴۲***
میزان سرمی هموسیستئین در زاده‌های نر در زمان بلوغ (میکرومول بر لیتر)	۷/۲۶±۰/۱۸	۶/۶۷±۱/۰۴	۱۰/۰۰±۰/۵۰*	۱۰/۷۳±۰/۵۲**
میزان سرمی هموسیستئین در زاده‌های نر در زمان بلوغ (میکرومول بر لیتر)	۶/۰۷±۰/۱۵	۶/۰۴±۰/۲۳	۷/۶۸±۰/۳۳**	۸/۵۹±۰/۴۶**

*: نشان‌دهنده تفاوت معنی دار در سطح P<۰/۰۵ نسبت به گروه کنترل می باشد؛ **: نشان‌دهنده تفاوت معنی دار در سطح P<۰/۰۱ نسبت به گروه کنترل می باشد؛ ***: نشان‌دهنده تفاوت معنی دار در سطح P<۰/۰۰۱ نسبت به گروه کنترل می باشد.

به‌علاوه نتایج این بررسی نشان داد که بین میانگین طول و قطر استخوان‌های ران و بازو در زاده‌های نر و ماده حیوانات گروه‌های کنترل و شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نگردید(P>۰/۰۵). همچنین داده‌های این مطالعه نشان داد که تجویز تستوسترون در دوران بارداری و شیردهی به موش‌های صحرایی تأثیر معنی داری بر طول و قطر استخوان‌های ران و بازو در زاده‌های ۷ و ۱۴ روزه نر و ماده ندارد اما باعث کاهش معنی دار طول و قطراستخوان های مذکور نسبت به گروه کنترل در سطح P<۰/۰۵ در زاده‌های ۲۱ روزه و بالغ نر و ماده می‌گردد (جداول شماره ۳ تا ۴).

جدول شماره ۳: مقایسه میانگین اندازه طول دیافیز استخوان‌های ران و بازو در زاده‌های نر و ماده در گروه‌های مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

پارامتر / گروه	کنترل (فاقد تیمار)	شاهد (تیمار با حلال دارو)	تجربی ۱ (تیمار با دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم در دوران بارداری)	تجربی ۲ (تیمار با دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم در دوران شیردهی)
طول استخوان بازو در زاده‌های نر در روز ۲۱ ام (سانتی متر)	۱/۶۶±۰/۰۱	۱/۶۹±۰/۰۳	۱/۱۴±۰/۰۳*	۱/۱۵±۰/۰۲*
طول استخوان بازو در زاده‌های ماده در روز ۲۱ ام (سانتی متر)	۱/۶۴±۰/۰۴	۱/۶۶±۰/۰۳	۱/۱۹±۰/۰۱*	۱/۲۷±۰/۰۲*
طول استخوان بازو در زاده‌های نر در زمان بلوغ (سانتی متر)	۲/۹۲±۰/۰۱	۳/۰۰±۰/۰۵	۲/۱۶±۰/۰۲*	۲/۱۸±۰/۰۱*
طول استخوان بازو در زاده‌های ماده در زمان بلوغ (سانتی متر)	۲/۴۷±۰/۰۵	۲/۴۶±۰/۰۱	۲/۰۸±۰/۰۲*	۲/۰۸±۰/۰۱*
طول استخوان ران در زاده‌های نر در روز ۲۱ ام (سانتی متر)	۱/۹۹±۰/۰۷	۱/۹۸±۰/۰۴	۱/۲۲±۰/۰۳*	۱/۲۶±۰/۰۲*
طول استخوان ران در زاده‌های ماده در روز ۲۱ ام (سانتی متر)	۱/۸۵±۰/۰۲	۱/۸۹±۰/۰۳	۱/۳۱±۰/۰۲*	۱/۲۸±۰/۰۳*
طول استخوان ران در زاده‌های نر در زمان بلوغ (سانتی متر)	۳/۱۵±۰/۰۶	۳/۱۹±۰/۰۱	۲/۳۶±۰/۰۲*	۲/۲۷±۰/۰۱*
طول استخوان ران در زاده‌های نر در زمان بلوغ (سانتی متر)	۳/۰۲±۰/۰۲	۳/۰۸±۰/۰۳	۲/۳۸±۰/۰۱*	۲/۴۹±۰/۰۱*

*: نشان‌دهنده تفاوت معنی دار در سطح $P<0/05$ نسبت به گروه کنترل می باشد.

جدول شماره ۴: مقایسه میانگین اندازه قطر دیافیز استخوان‌های ران و بازو در زاده‌های نر و ماده در گروه‌های مختلف (میانگین ± انحراف معیار)

پارامتر / گروه	کنترل (فاقد تیمار)	شاهد (تیمار با حلال دارو)	تجربی ۱ (تیمار با دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم در دوران بارداری)	تجربی ۲ (تیمار با دوز ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم در دوران شیردهی)
قطر دیافیز استخوان بازو در زاده‌های نر در روز ۲۱ ام (سانتی متر)	۰/۲۲±۰/۰۱	۰/۲۱±۰/۰۱	۰/۱۶±۰/۰۱*	۰/۱۷±۰/۰۱*
قطر دیافیز استخوان بازو در زاده‌های ماده در روز ۲۱ ام (سانتی متر)	۰/۲۰±۰/۰۱	۰/۲۰±۰/۰۱	۰/۱۷±۰/۰۱*	۰/۱۶±۰/۰۲*
قطر دیافیز استخوان بازو در زاده‌های نر در زمان بلوغ (سانتی متر)	۰/۲۶±۰/۰۱	۰/۲۵±۰/۰۱	۰/۱۹±۰/۰۲*	۰/۲۰±۰/۰۱*
قطر دیافیز استخوان بازو در زاده‌های ماده در زمان بلوغ (سانتی متر)	۰/۲۶±۰/۰۱	۰/۲۵±۰/۰۱	۰/۲۰±۰/۰۱*	۰/۲۰±۰/۰۲*
قطر دیافیز استخوان ران در زاده‌های نر در روز ۲۱ ام (سانتی متر)	۰/۲۶±۰/۰۱	۰/۲۷±۰/۰۱	۰/۲۰±۰/۰۱*	۰/۱۹±۰/۰۲*
قطر دیافیز استخوان ران در زاده‌های ماده در روز ۲۱ ام (سانتی متر)	۰/۲۸±۰/۰۱	۰/۲۷±۰/۰۱	۰/۲۰±۰/۰۱*	۰/۱۹±۰/۰۲*
قطر دیافیز استخوان ران در زاده‌های نر در زمان بلوغ (سانتی متر)	۰/۳۶±۰/۰۲	۰/۳۵±۰/۰۱	۰/۲۶±۰/۰۲*	۰/۲۷±۰/۰۱*
قطر دیافیز استخوان ران در زاده‌های نر در زمان بلوغ (سانتی متر)	۰/۳۸±۰/۰۱	۰/۳۷±۰/۰۱	۰/۲۸±۰/۰۱*	۰/۲۷±۰/۰۲*

*: نشان‌دهنده تفاوت معنی دار در سطح $P<0/05$ نسبت به گروه کنترل می باشد.

بحث:

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز تستوسترون به موش‌های صحرایی باردار و یا شیرده باعث افزایش میزان سرمی هورمون تستوسترون و هموسیستئین در زاده‌های ۷، ۱۴ و ۲۱ روزه و بالغ نر و ماده آن‌ها می‌شود. همچنین بر اساس نتایج این بررسی نشان داده شد که تجویز تستوسترون به موش‌های باردار و شیرده باعث کاهش طول و قطر استخوان‌های ران و بازو در زاده‌های ۲۱ روزه و بالغ نر و ماده آن‌ها می‌گردد. در یک بررسی نشان داده شد که در مردان سطح هموسیستئین کل پلاسما در اثر مصرف اتینل استرادیول و آنتی آندروژن ها کاهش می‌یابد و در زنان سطح هموسیستئین کل پلاسما تحت تأثیر آندروژن ها افزایش می‌یابد (۲۳). به‌علاوه علت افزایش سطح هموسیستئین پلاسما در بیماران با اختلال تخمدان پلی کیستیک را می‌توان به دلیل افزایش میزان پلاسمایی تستوسترون نسبت داد زیرا که تستوسترون با اثر بر رسپتورهای آندروژنیک در سلول های اریتروئید در مغز قرمز استخوان باعث تحریک ترشح هموسیستئین می‌شود (۲۳). در یک بررسی نشان داده شده است که تستوسترون باعث تنظیم آنزیم تصفیه‌کننده هموسیستئین می‌شود (۲۴) و بنابراین در پژوهش حاضر نیز احتمالاً تستوسترون از طریق تنظیم آنزیم‌های تصفیه‌کننده باعث افزایش میزان هموسیستئین در خون گردیده است. غلظت سطح هموسیستیئین کل پلاسما در حالت ناشتا (THCY) در مردان بیشتر از زنان گزارش‌شده است و استفاده خوراکی آستروئیدهای جنسی آندروژنی اغلب باعث هیپرهموسیستئینما می‌شود (۲۳).

نشان داده شده است که کاهش سطح هموسیستئین در دوران بارداری موجب افزایش استروژن داخلی می‌شود. به‌علاوه تجویز اتینیل استرادیول که به‌عنوان یک داروی آنتی آندروژن به‌حساب می‌آید، در مردانی که تمایل به زنانگی دارند باعث کاهش سطح هموسیستئین کل پلاسما در این افراد می‌شود. همچنین تجویز تستوسترون به زنانی که تمایلی به مردانگی دارند، موجب افزایش هموسیستئین پلاسما می‌گردد. استروژن درمانی در مردان باعث کاهش سطح سرمی هموسیستئین و درنتیجه بعد از آندروژن درمانی در زنان افزایش سطح سرمی هموسیستئین دیده شده است (۲۵).

در یک مطالعه نشان داده شد که سطوح در گردش هورمون‌های جنسی در تنظیم غلظت هموسیستئین در میانسالی و کهنسالی دارای نقش کلیدی است (۲۶). نشان داده شده است که هورمون‌های تیروئیدی دارای نقش کلیدی در تنظیم میزان پلاسمایی هموسیستئین می‌باشد (۲۷). همچنین مشخص‌شده است که کاهش میزان سرمی هورمون‌های تیروئیدی باعث کاهش متابولیسم و رسوب املاح معدنی در بافت‌های استخوانی می‌شوند (۲۸). لذا با توجه به آن‌که در یک بررسی نشان داده شد که تستوسترون باعث افزایش معنی دار میزان پلاسمایی هورمون‌های تیروئیدی می‌شود (۲۹) و همچنین با توجه به تداخل عمل بین هورمون‌های تیروئیدی و آندروژن ها در دوره رشد نمو (۳۰)، احتمالاً تغییرات میزان پلاسمایی هموسیستئین و اندازه قطر و طول استخوان‌های ران و بازو در پژوهش حاضر نیز به دلیل تأثیر هورمون تستوسترون بر میزان سرمی هورمون‌های تیروئیدی اعمال‌شده است.

همسو با نتایج مطالعه حاضر در یک بررسی دیگر نیز نشان داده شده است که تجویز درازمدت استرادیول و آندروژن ها باعث افزایش هموسیستئین می‌گردد (۳۱). در یک بررسی دیگر نشان داده شد که در زنان با اختلال تخمدان پلی کیستیک میزان سرمی هموسیستئین افزایش می‌یابد که درمان با متفورمین نیز قادر به تغییر این افزایش نمی‌باشد (۳۲). نتایج حاصل از یک پژوهش نشان داد که میزان پلاسمایی هموسیستئین وابستگی مستقیمی با میزان پلاسمایی هورمون تستوسترون دارد (۳۳). ازآنجاکه باز

شکل‌گیری بافت‌های استخوانی پدیده بسیار پیچیده‌ای است و هموسیستئین نیز از طریق راه‌های مختلفی نظیر، افزایش عملکرد سلول‌های استئوکلاست، کاهش فعالیت سلول‌های استئوبلاست، اثر مستقیم بر ماتریکس بافت‌های استخوانی، با کاهش جریان خون در استخوان‌ها و همچنین با افزایش فعالیت آنزیم متالوپروتئیناز در ماتریکس استخوانی در این عمل دخالت می‌نماید (۳۴).

نشان داده شده است که متونولون اناتات که یک استروئید آنابولیکی آندروژن می‌باشد موجب افزایش رشد و نمو استخوان بازو در مردان و زنان بالغ می‌شود (۳۵). در یک مطالعه نشان داده شد که تستوسترون باعث افزایش یک‌طرفه در عرض صفحه رشد اپیفیزی ساق پا می‌شود (۳۶). هموسیستئین باعث کاهش دانسیته املاح در بافت استخوانی می‌شود (۳۷).

نشان داده شده است که افزایش هموسیستئن به‌ویژه در موش‌های صحرایی باردار باعث بروز تغییرات متعددی در ساختار اسکلتی جنین و فرزندان ازجمله اختلال در رشد صفحات اپیفیزی می‌گردد (۱۲). لذا در پژوهش حاضر با توجه به افزایش میزان سرمی هموسیستئین در گروه‌های دریافت‌کننده تستوسترون کاهش طول و قطر استخوان‌های بازو و ران را می‌توان به اثرات منفی هموسیستئین بر رشد بافت‌های استخوانی نسبت داد.

نتیجه‌گیری:

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز تستوسترون در دوران بارداری و شیردهی باعث افزایش میزان تستوسترون و هموسیستئین در زاده‌های نر و ماده می‌شود و احتمالاً به دلیل افزایش میزان هموسیستئین باعث کاهش طول و قطر استخوان‌های ران و بازو در زاده‌های نر و ماده ۲۱ روزه و بالغ می‌شود.

تشکر و قدردانی:

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری خانم نجمه کاربر دانشجوی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز می‌باشد که با کد ۴۸۱۳۰۵۱۹۸۹۱۰۱۵ در تاریخ ۱۳۹۳/۱۲/۱۵ در دفتر امور پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز به تصویب رسیده است. بدین‌وسیله نویسندگان از همکاری حوزه معاونت پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز و همچنین کارکنان محترم مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شیراز که در جهت اجرای آن همکاری شایسته‌ای داشته‌اند، تقدیر و تشکر می‌نمایند.

منابع:

1. Moini L, Mousavi AJ. Study of frequency distribution of Homocysteinemia in patients admitted to Intensive Care Unit of Rasoul-Akram hospital. J Arak Univ Med Sci. 2007; 10 (4): 50-6.
2. Parsa H, ShamsNosrati S, Naderi F. Plasma homocysteine level in chronic vascular disease. Alborz Univ Med J. 2015; 4(2): 124-8.
3. Jalali M, Pouya S, Eshraghian A, Rajab A, Chamari M, Fatehi F, et al. Effects of ω3 on serum level of malondialdehyde and homocysteine in type 2 diabetic patients. Armaghane Danesh. 2008; 12(4): 45-53.
4. Nadafi M, Mohammad Hosseini S, Afrasiabyfar A, Momeni E, Malekzadeh G. Association of homocysteine, vitamin and blood factors with preeclampsia in pregnant women. Armaghane danesh. 2010; 15(2): 171-80.
5. Bahram ME, Pourvaghar MJ. The effect of 12 weeks of High-Intensity Interval Training (HIIT) on homocysteine and CRP cardiovascular risk factors and body composition in overweight men. J Fasa Univ Med Sci. 2016; 6(3): 334-42.

6. Soori R, Choopani S, Falahian N, Ramezankhani A. Effect of physical activity on serum homocysteine levels in obese and overweight women. Horizon Med Sci. 2016; 22(4): 307-12.
7. Afshar M, Moallem S, Khayatzadeh J, Taherian N, Hosseini S. Effect of carbamazepine on homocysteine serum level in pregnant mice and fetal malformations outcome. J Gorgan Univ Med Sci. 2013; 15(1): 45-51.
8. Esmaielpour P, Ghochani M. Evaluating the effect of interferon alpha therapy on plasma levels of hemocysteine in patients with Hepatitis B. J Ilam Univ Med Sci. 2016; 23 (7):101-9.
9. Bizheh N, Gharahcholo L. The response of homocysteine and insulin resistance to a single circuit resistance exercise in overweight women. J Shahrekord Univ Med Sci. 2013; 15 (3): 9-17.
10. Sanchez PE, Ren S-G, Huang Z, Cassorla F. The adrenal androgens dehydroepiandrosterone and androstenediol do not stimulate rat tibial growth. Nutr Res. 1990; 10(7): 801-5.
11. Kordi M, Borumand M, Rabbani S, Alimoradi Sheikhha N, Mazraeh A, Siuf M. Effect of endurance swimming training on serum homocysteine level and atherogenic index in rats. J Gorgan Univ Med Sci. 2016; 18(4): 42-8.
12. Azizi ZA, Zamani A, Omrani LR, Omrani L, Dabaghmanesh MH, Mohammadi A, et al. Effects of hyperhomocysteinemia during the gestational period on ossification in rat embryo. Bone. 2010; 46(5): 1344-8.
13. Levasseur R. Bone tissue and hyperhomocysteinemia. Joint Bone Spine. 2009; 76(3): 234-40.
14. Gerdhem P, Ivaska KK, Isaksson A, Pettersson K, Väänänen HK, Obrant KJ, et al. Associations between homocysteine, bone turnover, BMD, mortality, and fracture risk in elderly women. J Bone Miner Res 2007; 22(1): 127-34.
15. Ebesunun M, Umahoin K, Alonge T, Adebusoye L. Plasma homocysteine, B vitamins and bone mineral density in osteoporosis: A possible risk for bone fracture. Afr J Med Sci. 2014; 43(1): 41-7.
16. Snyder PJ, Peachey H, Hannoush P, Berlin JA, Loh L, Holmes JH, et al. Effect of testosterone treatment on bone mineral density in men over 65 years of age. J Clin Endocrinol Metab. 1999; 84(6): 1966-72.
17. Sinnesael M, Boonen S, Claessens F, Gielen E, Vanderschueren D. Testosterone and the male skeleton: a dual mode of action. J Osteoporosis. 2011: 24(3): 203-8.
18. Seifi M, Hedayati M. Effect of the lack of gonadal hormones on the calcium level of tibia bone in rats. Shahid Beheshti Univ Dent J. 2011; 28(4): 219-24.
19. Norouzian M, Fadaei F, Azizi F. Effects of male sexual hormone on bone repair in adult male rats. Iran J Endocrinol Metabol. 2001; 3(2): 107-13.
20. Wolff RB, Gomes RCT, Verna C, Maioral GCCC, Rampazo TC, Simoes RS, et al. Molecular features of sexual steroids on cartilage and bone. Rev Associação Méd Brasil. 2012; 58(4): 493-7.
21. Vanderschueren D, Laurent MR, Claessens F, Gielen E, Lagerquist MK, Vandenput L, et al. Sex steroid actions in male bone. Endocr Rev. 2014; 35(6): 906-60.
22. Hosseini S, Jahandidea A, Mehrabani D. Effect of alcoholic extract of Ginger during fetal life and breastfeeding on serum level of testosterone, LH, FSH and spermatogenic cells line in male mature offspring rats. J Gorgan Uni Med Sci. 2015; 17(1): 29-35.
23. Phillip M, Maor G, Assa S, Silbergeld A, Segev Y. Testosterone stimulates growth of tibial epiphyseal growth plate and insulin-like growth factor-1 receptor abundance in hypophysectomized and castrated rats. Endocrine. 2001; 16(1): 1-6.
24. Prudova A, Albin M, Bauman Z, Lin A, Vitvitsky V, Banerjee R. Testosterone regulation of homocysteine metabolism modulates redox status in human prostate cancer cells. Antioxid Redox Signal. 2007; 9(11): 1875-82.
25. Sanchez PE, Ren S-G, Huang Z, Cassorla F. The adrenal androgens dehydroepiandrosterone and androstenediol do not stimulate rat tibial growth. Nutr Res. 1990; 10(7): 801-5.
26. Pour HRN, Grobbee DE, Muller M, Emmelot-Vonk M, Van der Schouw YT. Serum sex hormone and plasma homocysteine levels in middle-aged and elderly men. Eur J Endocrinol. 2006; 155(6): 887-93.
27. Bicikova M, Tallova J, Stanicka S, Hill M, Vondra K, Hampl R. Levels of testosterone, allopregnanolone and homocysteine in severe hypothyroidism. Clin Chem Lab Med. 2002; 40(10): 1024-7.

28. Dhanwal DK. Thyroid disorders and bone mineral metabolism. Indian J Endocrinol Metab. 2011; 15(2): S107-12.
29. Khazali H, Haghnazari F. The effects of interactions between testosterone and ghrelin on mean plasma thyroid hormones concentration in male rats. Prog Biol Sci. 2016; 6(1): 47-54.
30. Liu R, Xu X, Zhang Y, Zheng X, Kim SS, Dietrich KN, et al. Thyroid hormone status in umbilical cord serum is positively associated with male anogenital distance. J Clin Endocrinol Metab. 2016; 101(9): 3378-85.
31. Kocoska-Maras L, Hirschberg AL, Byström B, Schoultz BV, Rådestad AF. Testosterone addition to estrogen therapy–effects on inflammatory markers for cardiovascular disease. Gynecol Endocrinol. 2009; 25(12): 823-7.
32. Meng Y, Chen X, Peng Z, Liu X, Sun Y, Dai S. Association between high serum homocysteine levels and biochemical characteristics in women with polycystic ovarian syndrome: A systematic review and meta-analysis. PloS one. 2016; 11(6): e0157389.
33. Nervana M, Bayoumy MM, Khaled A. Assessment of homocysteine plasma levels and insulin resistance among obese women with anovulatory infertility. Life Sci J. 2012; 9(4):1599-604.
34. Vacek TP, Kalani A, Voor MJ, Tyagi SC, Tyagi N. The role of homocysteine in bone remodeling. Clin Chem Lab Med. 2013; 51(3): 579-90.
35. Oktenli C, Yesilova Z, Ozata M, Yaman H, Tuzun A, Dundar S, et al. Gonadotropin treatment increases homocysteine levels in idiopathic hypogonadotropic hypogonadism: An indirect effect mediated by changes in body composition. J Endocrinol. 2003; 179(1): 35-9.
36. Karperien M, Van der Eerden BC, Wit JM. Genomic and non-genomic actions of sex steroids in the growth plate. Pediatr Nephrol. 2005; 20(3): 323-9.
37. Fratoni V, Brandi ML. B vitamins, homocysteine and bone health. Nutrients. 2015; 7(4): 2176-92.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2018; 20(2): 24-34. **Original article**

Perinatal and neonatal effects of androgens on plasma levels of testosterone, homocysteine, long bones length and diameter in male and female rats' born

Karbor N[1], Hosseini SE[1*], Ranjbar Omrani GH[2]
[1]Biology Dept., Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, I.R. Iran; [2]Endocrin Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, I.R. Iran.
Received: 3/Feb/2017 Accepted: 6/May/2017

Background and aims: Homocysteine is an amino acid sulfur-containing that its amount under the effects of androgenic hormones changes. The aim of the current study was to study the prenatal and neonatal effects of testosterone on serum homocysteine and growth of Femur and Humerus bones length and diameter of rats' born by considering the homocysteine effect on the growth of bone tissue.
Methods: This experimental study has been performed on 256 born of 40 male and female rats which are divided in four groups: control (no treatment), sham (treatment with drugs), experimental perinatal and neonatal by dosing 600 μg/kg in pregnancy and lactation periods under testosterone treatment. Then, the different groups of both males and females' born in the days 7, 14, 21 and maturation of testosterone levels, homocysteine, and length and diameter of Femur and Humerus bones were evaluated and the results obtained using SPSS-20 software, t-test, and ANOVA were analyzed. The significant differences of the data was considered at $P<0.05$.
Results: Analysis of the results showed that a significant increase in rats' born treated with testosterone in the serum levels of homocysteine and testosterone is observed ($P<0.05$). However, in the male and female born on the 21st and during maturity, the significant reduction in the Femur and Humerus bones length and diameter was observed ($P<0.05$).
Conclusion: The results showed that injection of testosterone during pregnancy and lactation causes increasing testosterone levels and homocysteine and decreasing in the length and diameter of Femur and Humerus bones is concluded.

Keywords: **Testosterone, Homocysteine, Femur, Humerus, Perinatal, Neonatal.**

Cite this article as: Karbor N, Hosseini SE, Ranjbar Omrani GH. Perinatal and neonatal effects of androgens on plasma levels of testosterone, homocysteine, long bones length and diameter in male and female rats' born. J Shahrekord Univ Med Sci. 2018; 20(2): 24-34.

[*]**Corresponding author:**
Biology Dept., Shiraz Islamic Azad University, Shiraz, I.R. Iran. Tel: 00989171183917, E-mail: ebrahim.hossini@yahoo.com