

تأثیر داروی لیراگلوتاید بر تغییرات بافتی رحم، هورمون‌های استرادیول و FSH در موش نژاد NMRI

سارا آتش‌نژاد^۱، نسیم حیاتی رودباری^۱، سیمین محمدی گرجی^۱، کاظم پریور^۱

^۱ گروه آموزش زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران، گروه آموزش زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری، مازندران، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۵/۱۰/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۵/۳

چکیده

زمینه و هدف: داروی لیراگلوتاید برای درمان چاقی‌های مزمن و دیابت نوع دو، که از عوامل ناباروری می‌باشند، مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به این که رحم به عنوان مهم‌ترین عضو دستگاه تولید مثل در معرض آسیب، به ویژه به وسیله داروهای شیمیایی می‌باشد، در این پژوهش تأثیر داروی لیراگلوتاید بر روی تغییرات بافتی رحم، هورمون‌های استرادیول و FSH در شرایط درون تنی بر روی موش نژاد NMRI بود.

روش بررسی: این پژوهش تجربی، بر روی ۲۸ سر موش ماده بالغ نژاد NMRI (۸ تا ۱۲ هفته‌ای) با وزن بین ۲۵ تا ۳۰ گرم انجام گردید. موش‌های ماده به طور تصادفی در چهار گروه (هفت تایی) شامل: کنترل، شم و دو گروه تجربی تقسیم شدند. گروه کنترل بدون تزریق و به گروه‌های شم و تجربی ۱ و ۲ به ترتیب حلال دارو (آب مقطر) و لیراگلوتاید با دوزهای ۰/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۱/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم تزریق گردید. تزریق به صورت روزانه و در یک ساعت معین به صورت زیرجلدی صورت گرفت. پس از ۳۰ روز تزریق، موش‌ها عمیقاً به وسیله اتر بیهوش شده و ضمن خون‌گیری از قلب، رحم از بدن خارج گردید. به دنبال رنگ‌آمیزی، نمونه‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی بافتی قرار گرفتند. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه (آنوا) و تست توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: وزن موش‌ها در گروه‌های تجربی ۱ و ۲ به طور معنی‌دار ($p < 0/01$) و ($p < 0/001$) در مقایسه با گروه کنترل و شم کاهش یافته است. همچنین ضخامت جدار رحم (از لومن تا آخرین لایه) و نیز قطر لومن، به ترتیب کاهش معنی‌دار ($p < 0/05$) و ($p < 0/01$) را در گروه‌های تجربی نشان داد. ضخامت آندومتر در گروه‌های تجربی یک و دو به ترتیب کاهش معنی‌دار ($p < 0/01$) و ($p < 0/001$) و همچنین ضخامت پریمتر در گروه تجربی دو کاهش معنی‌دار ($p < 0/05$) در مقایسه با گروه کنترل و شم یافت. به علاوه در اثر استفاده از دارو، تعداد غدد رحم در گروه‌های تجربی یک و دو به ترتیب افزایش معنی‌دار ($p < 0/05$) و ($p < 0/01$) را نشان داد و نیز قطر آن‌ها در هر دو گروه افزایش یافت. همچنین در میزان هورمون‌های استرادیول و FSH به ترتیب کاهش و افزایش مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: درمان با لیراگلوتاید با کاهش وزن و ضخامت بافتی رحم همراه است. با توجه به اختلال در سیستم هورمونی، که احتمالاً به دلیل ساختار اینکرتینی دارو می‌باشد، همچنین با توجه به کاهش هورمون استرادیول که هورمونی زنانه است، در اثر مصرف لیراگلوتاید سن باروری محدود خواهد شد.

واژه‌های کلیدی: لیراگلوتاید، تغییرات رحمی، هورمون استرادیول، هورمون FSH، موش NMRI

* نویسنده مسئول: نسیم حیاتی رودباری، تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، دانشکده علوم پایه، گروه آموزش زیست‌شناسی
Email: hayati@srbiau.ac.ir

مقدمه

چاقی با اختلالات متابولیک متعدد، از جمله ناباروری، هیپرانسولینی، اختلال در متابولیسم گلوکز آترواسکلروز و فشار خون بالا همراه و یکی از عوامل اصلی بروز دیابت نوع ۲ (T2DM) و بیماری‌های قلبی-عروقی است (۱ و ۲). رژیم غذایی و اصلاح سبک زندگی نشان دهنده خط اول درمان در مدیریت چاقی است، اما اغلب این موارد موفق به کاهش وزن پایدار نیستند، احتمالاً جهت تحقق بلند مدت و درمان کاهش وزن مداخله داروی مناسب لازم است (۳-۵).

تحقیق‌ها نشان می‌دهد که چاقی مفرط باعث بروز مشکلات جدی در فرایند تولید مثل می‌گردد، هم چنین با اختلالات تخم‌گذاری در افراد سالم همراه است. کاهش نرخ لقاح، ناباروری، سقط زودرس، اختلالات مادرزادی و کیفیت اووسیت ضعیف در زنان چاق گزارش شده است (۶-۸). زنان جوان چاق بیشتر در خطر افزایش ابتلا به بیماری‌هایی مانند دیابت نوع ۲ و فیبروز کبد هستند. درمان با داروهای مبتنی بر گلوکاگون شبه پپتید ۱ (GLP-1)، مانند لیراگلویتاید، سبب کاهش در وزن و بهبود قابل توجهی در مقاومت به انسولین، التهاب و فیبروز کبد شده است. در زنان با چاقی مفرط که بیش از ۵ درصد از وزن خود را از دست می‌دهند، قدرت باروری افزایش می‌یابد (۹ و ۱۰).

اینکرتین‌ها جزء هورمون‌های گوارشی هستند که باعث افزایش ترشح انسولین، کاهش ترشح گلوکاگون، کاهش سرعت تخلیه معده و ایجاد احساس سیری می‌شوند. GLP-1 یکی از انواع اینکرتین‌ها می‌باشد، که در پاسخ به مصرف گلوکز به وسیله سلول

های روده ترشح شده و در هموستاز گلوکز نقش مهمی دارد (۱۱). به علاوه GLP-1 در کاهش قند خون ناشتا و افزایش ترشح انسولین وابسته نقش داشته و مانع از ترشح گلوکاگون و منجر به تخلیه آهسته معده می‌گردد. علاوه بر این، مطالعه‌های بالینی و غیربالینی افزایش سیری، کاهش مصرف مواد غذایی و در پی آن کاهش در وزن بدن به علت حضور GLP-1 را نشان داده‌اند، که خود دلیلی برای تحقیق‌ها درباره توانایی بالقوه آن برای درمان چاقی شد (۱۲-۱۴).

لیراگلویتاید با نام تجاری ویکتوزا، آنالوگ GLP-1 انسانی با ۹۷ درصد تشابه توالی آمینو اسید است، که به صورت تزریق روزانه و یکبار در روز تا دوز ۱/۸ میلی‌گرم، برای درمان چاقی‌های مزمن و T2DM مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۵). این دارو بر خلاف حالت آزاد، که به وسیله اندوژنوس پپتیداز تخریب می‌شود، به میزان ۹۹ درصد به آلبومین متصل است. هم‌چنین دارای نیمه عمر ۱۳ ساعت می‌باشد و به حداکثر غلظت خود بعد از ۱۴-۱۰ ساعت پس از مصرف می‌رسد و بعد از آن به وسیله سوخت و ساز بدن، حذف می‌گردد (۱۷ و ۱۶). مکانیزم عملکرد این دارو به این صورت است که با جایگزین‌سازی یک اسید آمینه (Arg34Lys) و C-16 پالمیتیک اسید، موجب جذب آهسته و مقاومت در برابر غیرفعال شدن به وسیله دی پپتیدیل پپتیداز ۴ (DPP-4) می‌شود (۱۸).

بررسی تحقیق‌ها بر روی تأثیرات داروی لیراگلویتاید نشان می‌دهد که تاکنون مطالعه‌ای بر روی رابطه این دارو با تغییرات بافتی رحم و هورمون‌های

های تجربی یک و دو، به ترتیب میزان ۰/۶ و ۱/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به مدت ۳۰ روز و به صورت زیرجلدی انجام شد. موش‌های گروه شم، به مقدار مشابه گروه‌های تجربی آب مقطر دریافت نمودند، هم چنین موش‌های گروه کنترل نیز سیکل طبیعی داشتند. برای تشریح همه گروه‌ها، موش‌ها عمیقاً به وسیله اتر بیهوش شدند و پس از استریل کردن قسمت شکمی، یک برش طولی بر روی آن ایجاد گردید. پس از جدا کردن پوست این ناحیه و سپس پرده دیافراگم، جناق سینه نمونه‌ها باز گردید و به منظور تهیه نمونه‌ی خون موش‌های مورد بررسی، با استفاده از سرنگ ۲ سی‌سی مستقیماً از بطن چپ قلب خونگیری و در لوله‌های آزمایشی جمع‌آوری شد (۲۰).

نمونه‌های جمع‌آوری شده با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ و سرم آن جدا شد و جهت ادامه مراحل به فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد. برای اندازه‌گیری غلظت سرمی هورمون‌های FSH و استرادیول، از کیت استاندارد الیزا طبق دستور کیت استفاده گردید. سپس رحم از بدن جدا و به درون پتری‌های حاوی سرم فیزیولوژی، که از قبل آماده شده بودند، انتقال داده شد. پس از شستشو و جدا کردن بافت‌های اطراف و چربی از رحم در زیر میکروسکوپ استریو، با استفاده از کاغذ صافی آب نمونه گرفته شد و سپس به وسیله ترازوی (satorioue آلمان) با دقت ۰/۰۰۱ گرم نمونه‌ها وزن شدند. در مرحله بعد از یک سوم میانی شاخ راست رحم به آرامی با استفاده از اسکالپل جدا و به درون فیکساتور بوئن منتقل شد، هم‌چنین زمان

استرادیول و FSH صورت نگرفته است. هم‌چنین از آنجا که عوامل مختلفی روی عملکرد اساسی آندومتر تأثیر می‌گذارد و یکی از مهم‌ترین عوامل مداخله دارویی است، در مطالعه حاضر به بررسی تأثیر داروی لیراگلو تاید بر روی تغییرات احتمالی بافت رحم، هورمون‌های استرادیول و FSH در شرایط درون تنی بر روی موش نژاد NMRI پرداخته شده است.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، ۲۸ سر موش سوری ماده از نژاد NMRI، با سن ۸ تا ۱۲ هفته و وزن ۲۵ تا ۳۰ گرم، انتخاب و به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، شم، تجربی یک و تجربی دو (هر گروه شامل ۷ سر موش) تقسیم شدند (۱). پس از تهیه موش‌ها از انستیتو پاستور تهران و انتقال به اتاق حیوانات آزمایشگاه رازی، در شرایط مناسب قرار داده شدند. نگهداری موش‌ها درون قفس‌هایی از جنس پلی‌کربنات شفاف با قابلیت اتوکلاو انجام گرفت و به منظور عادت به شرایط و محیط جدید، پیش از شروع تزریق به مدت یک هفته در حیوان‌خانه با درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی به وسیله تنظیم‌کننده الکترونیکی نور سالن نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد و در تمام طول دوره پژوهش نیز آب و غذای کافی در اختیار آنها قرار داده شد (۱۹ و ۶). در این پژوهش کلیه نکات اخلاقی در رابطه با نگهداری و کار با حیوانات آزمایشگاهی به وسیله شورای اخلاق پژوهشی دانشکده علوم و تحقیقات تأیید گردید. تزریق داروی لیراگلو تاید به هر یک از موش

تثبیت در بوئن برای قطعات رحمی، برابر ۸ ساعت بود (۵-۱۰). یک سوم میانی شاخ رحم دارای بیشترین تراکم سلولی بوده و از لحاظ بافت‌شناسی شاخ چپ و راست رحم تفاوتی با یکدیگر ندارند (۲۱ و ۲۰).

نمونه‌ها پس از طی مراحل پردازش بافتی و برش‌گیری سریالی (با ضخامت ۷ میکرومتر)، با استفاده از میکروتوم (Leitz 1512، ات‌ریش)، با هماتوکسیلین - ائوزین رنگ‌آمیزی و سپس سطح مقطع رحم با کولیس اندازه‌گیری شد. مقادیر مربوط به اندازه‌گیری ضخامت بخش‌های مختلف رحم (آندومتر، میومتر، پریمتر) در شکل ۱ نشان داده شده است. آماده‌سازی نمونه‌ها در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات، با نظارت کارشناس مربوطه انجام گرفت.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه (آنوا) و تست توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

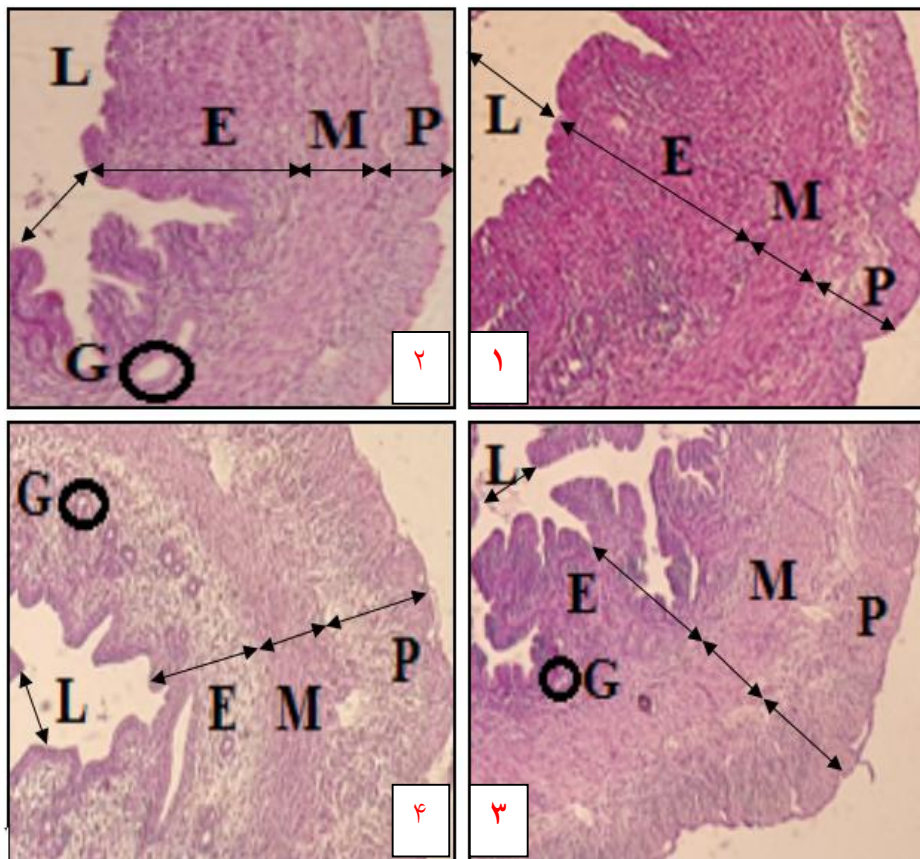
در بررسی قسمت‌هایی از بافت رحم، ضخامت لایه‌های رحمی، تعداد و قطر غدد ترش‌حی آندومتر، مشاهده گردید که قطر رحم و قطر لومن در گروه‌های تجربی یک و دو به ترتیب کاهش معنی‌دار ($p < 0/05$) و ($p < 0/01$) را نسبت به گروه شم و کنترل نشان داده است (نمودار ۱). ضخامت لایه‌ی پریمتر رحم در گروه تجربی دو کاهش معنی‌دار ($p < 0/05$) و ضخامت میومتر در گروه‌های تجربی کاهش یافت (نمودار ۲ و

۳). همچنین در ضخامت لایه آندومتر در گروه‌های تجربی یک و دو به ترتیب کاهش معنی‌دار ($p < 0/01$) و ($p < 0/001$) مشاهده گردید (نمودار ۴). به علاوه ضخامت جدار (از لومن تا آخرین لایه رحم) در گروه‌های تجربی یک و دو به ترتیب کاهش معنی‌دار ($p < 0/05$) و ($p < 0/01$) را نشان دادند (جدول ۱). بر طبق مشاهده‌های انجام شده از بررسی تعداد غدد و قطر آنها، تعداد غدد ترش‌حی رحم در گروه تجربی یک و دو به ترتیب افزایش معنی‌دار ($p < 0/05$) و ($p < 0/01$) مشاهده گردید، همچنین قطر غدد در این گروه‌ها افزایش یافت (جدول ۲). با بررسی سطح سرمی هورمون استرادیول (بر حسب پیکوگرم بر میلی‌لیتر)، گروه تجربی یک و دو به ترتیب کاهش معنی‌دار ($p < 0/05$) و ($p < 0/01$) نسبت به گروه کنترل و شم نشان دادند. در میزان هورمون FSH بر حسب نانوگرم بر میلی‌لیتر نیز در دو گروه تجربی، نسبت به گروه کنترل و شم افزایش مشاهده شد (جدول ۳). شکل ۲ فتومیکروگراف رحم موش را در اثر استفاده از داروی لیراگلو‌تاید در مقایسه با گروه کنترل و شم نشان می‌دهد.

در جدول ۱ مقادیر مربوط به بافت رحم شامل؛ قطر رحم، ضخامت لایه‌های رحمی و ضخامت جدار (از لومن تا آخرین لایه) نشان داده شده است. همچنین در جدول ۲ نتایج مربوط به تعداد و قطر غدد ترش‌حی آندومتر مشاهده می‌گردد. جدول ۳ نیز میزان سطح سرمی هورمون‌های استرادیول و FSH را نشان می‌دهد.



شکل ۱: اندازه‌گیری ضخامت بخش‌های مختلف رحم (آندومتر، میومتر، پریمتر)، بزرگنمایی ×۴۰



شکل ۲: فتومیکروگراف رحم موش: ۱، گروه کنترل ۲، گروه شم ۳، گروه تجربی یک ۴، گروه تجربی دو (بزرگنمایی ۱۰۰) لومن: L، پریمتر: P، میومتر: M، آندومتر: E، غدد: G

جدول ۱: نتایج تحلیل مقایسه‌ای حاصل از بررسی قطر لایه‌های رحمی (بر حسب میکرومتر) در گروه‌های آزمایشی کنترل، شم و تجربی ۱ و ۲ در شرایط درون تنی ($p < 0.05$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.001$)

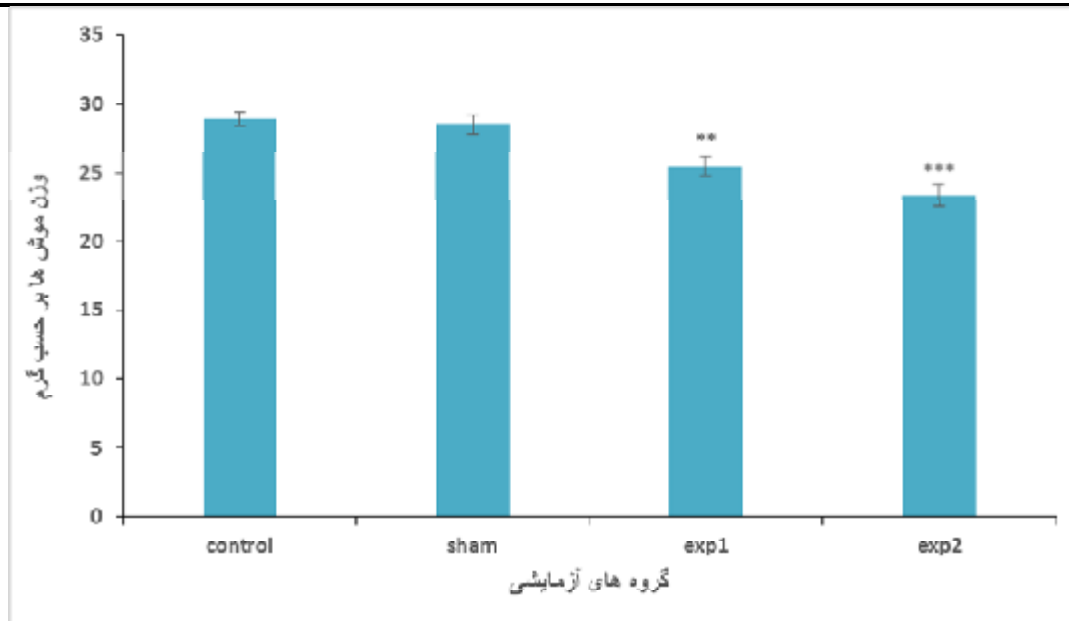
ردیف	پارامتر / گروه آزمایشی	کنترل	شم	تجربی یک	تجربی دو
۱	قطر رحم	۱۴۵۲.۵±۷۹.۴۴	۱۳۹۵±۴۸.۱۳	۱۲۲۵±۶۲.۸*	۱۱۲۵±۳۳.۳۳**
۲	ضخامت از لومن تا آخرین لایه (جدار)	۷۴۰±۳۷.۱۷	۶۵۹±۸۰.۱۷	۵۱۷±۴۸.۸۷*	۴۶۹±۲۶.۶۰**
۳	قطر لومن رحم	۴۰۲±۴۶.۴۴	۳۰۲±۴۶.۸۲	۲۵۱±۲۵.۶۲*	۲۰۲±۳۰.۹۷**
۴	ضخامت پریمتر	۱۸۰±۹.۱۸	۱۵۲±۱۸.۱۸	۱۳۷±۱۴.۹۱	۱۲۲±۱۲.۲۷*
۵	ضخامت میومتر	۱۲۸±۱۲.۳۶	۱۲۰±۱۷.۱۲	۱۱۴±۱۰.۸۷	۸۴±۸.۱۹
۶	ضخامت آندومتر	۴۸۸±۱۲.۹۷	۴۱۶±۳۳.۸۶	۳۵۱±۲۶.۵۱**	۲۹۶±۱۷.۹۰***

جدول ۲: نتایج حاصل از بررسی تعداد و قطر غدد رحمی در گروه‌های آزمایشی کنترل، شم و تجربی ۱ و ۲ در شرایط درون تنی ($p < 0.05$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.001$)

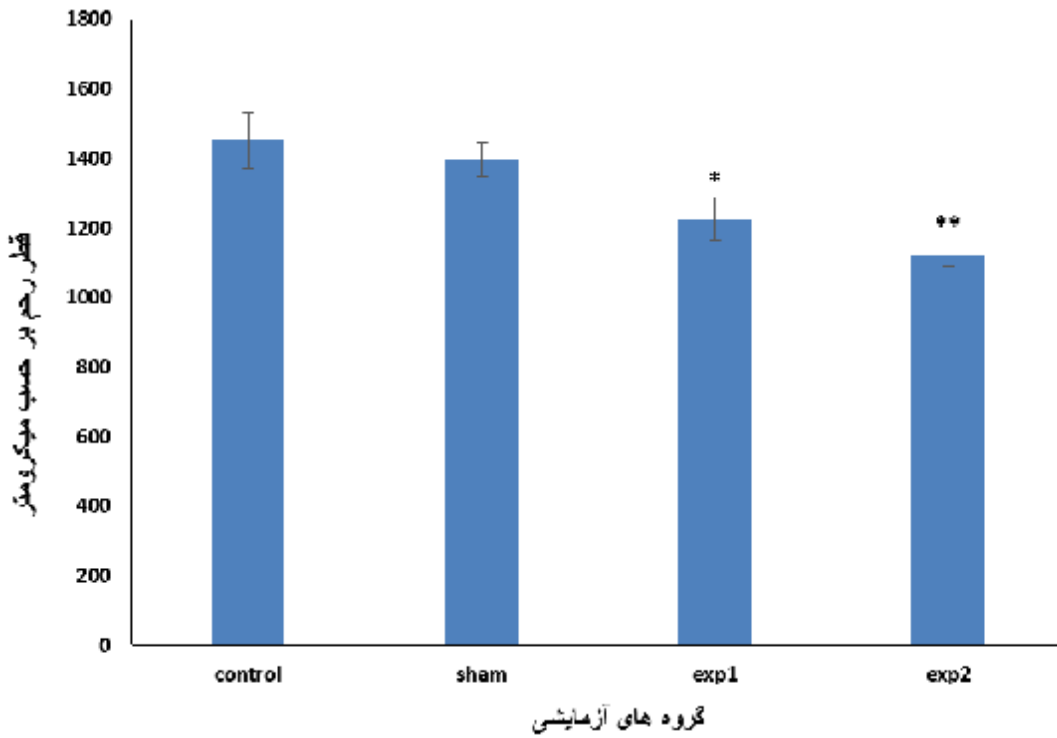
پارامتر / گروه آزمایشی	کنترل	شم	تجربی یک	تجربی دو
تعداد غدد رحم	۳۳.۳±۲.۴۶	۳۱.۶±۱.۴۸	۴۵.۵±۲.۳۹*	۴۷.۴±۳.۶۴**
قطر غدد رحم	۵۶±۲.۷۱	۵۶±۲.۰۸	۶۲.۲۵±۵.۰۷	۶۵.۲۵±۵.۶۲

جدول ۳: نتایج تحلیل مقایسه‌ای تعیین سطح سرمی هورمون‌های استرادیول و FSH در گروه‌های آزمایشی کنترل، شم و تجربی ۱ و ۲ در شرایط درون تنی ($p < 0.05$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.001$)

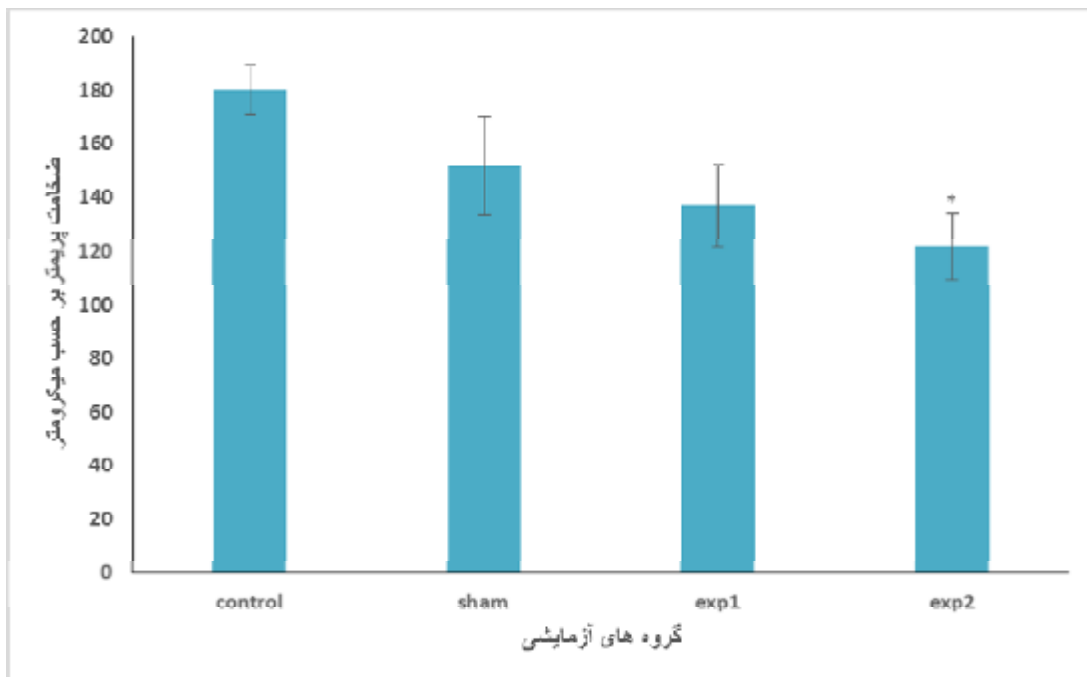
پارامتر / گروه آزمایشی	کنترل	شم	تجربی یک	تجربی دو
میزان هورمون استرادیول	۹۵/۴۲±۱۵/۴۱	۸۲.۶۶±۶.۹۲	۷۱.۳۶±۱۷.۹۲*	۶۱.۵۱±۲۶.۲۵**
میزان هورمون FSH	۰/۰۱	۰.۰۱±۰.۰۰۲۵	۰.۰۱±۰.۰۰۲۸	۰.۰۱±۰.۰۰۲۸



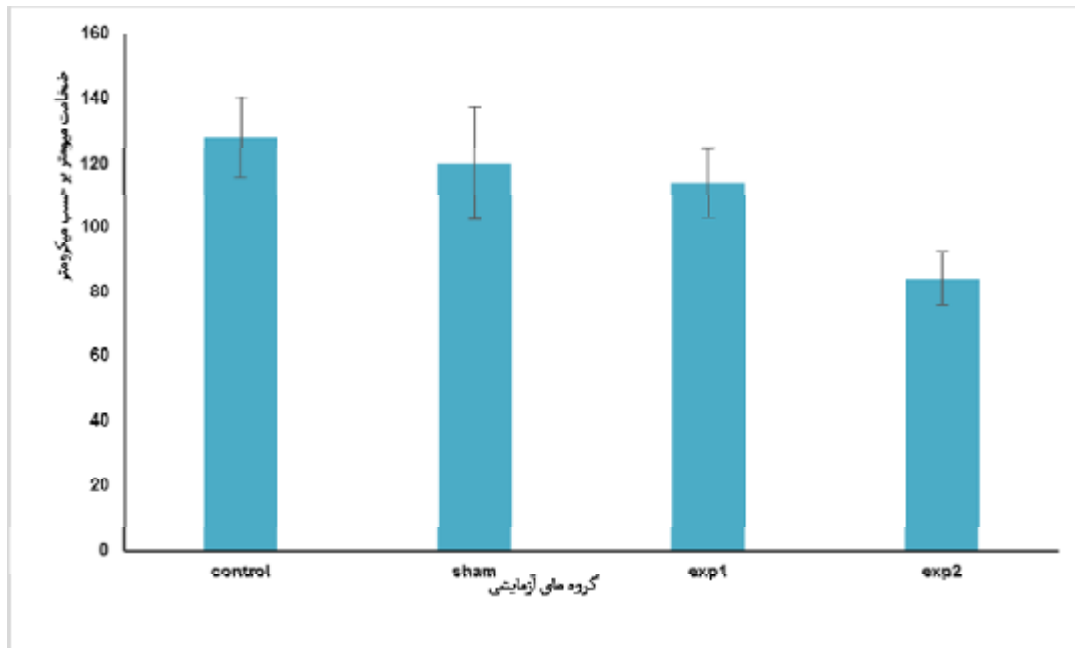
نمودار ۱: مقایسه وزن موش‌ها در گروه‌های آزمایشی کنترل، شم و تجربی ۱ و ۲ در موش نژاد NMRI در شرایط درون تنی ($p < 0.05$ ، $p < 0.01$ ، $p < 0.001$)



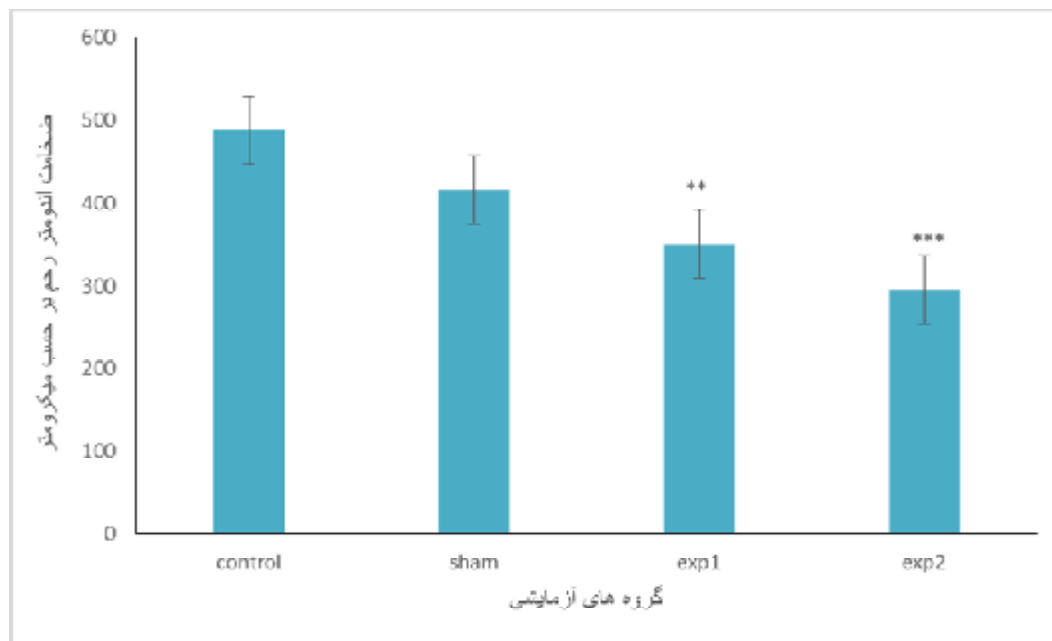
نمودار ۲: مقایسه قطر رحم در گروه های آزمایشی کنترل، شام و تجربی ۱ و ۲ در موش نژاد NMRI در شرایط درون تنی (* $p < 0.05$ ، ** $p < 0.01$ ، *** $p < 0.001$)



نمودار ۳: مقایسه ضخامت پریمتر در گروه های آزمایشی کنترل، شام و تجربی ۱ و ۲ در موش نژاد NMRI در شرایط درون تنی (* $p < 0.05$ ، ** $p < 0.01$ ، *** $p < 0.001$)



نمودار ۴: مقایسه ضخامت میومتر در گروه های آزمایشی کنترل، شام و تجربی ۱ و ۲ در موش نژاد NMRI در شرایط درون تنی (* $p < 0.05$ ، ** $p < 0.01$ ، *** $p < 0.001$)



نمودار ۵: مقایسه ضخامت آندومتر در گروه های آزمایشی کنترل، شام و تجربی ۱ و ۲ در موش نژاد NMRI در شرایط درون تنی (* $p < 0.05$ ، ** $p < 0.01$ ، *** $p < 0.001$)

بحث

در مطالعه حاضر تغییرات بافت رحم به دنبال استفاده از داروی لیراگلوتااید مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که استفاده از داروی لیراگلوتااید باعث کاهش وزن در دو گروه تجربی، در مقایسه با گروه شم و کنترل می‌گردد، نتایج حاصل از مطالعه‌های قبلی نیز حاکی از اثرات کاهش وزن می‌باشد. در این رابطه نقش هورمون استرادیول در کاهش وزن بدن، کاهش مصرف غذا و در نتیجه کاهش توده بافت چربی مورد توجه قرار گرفته است (۱۹ و ۲۲). به همین ترتیب، گزارش‌های دیگری وجود دارد که نشان می‌دهند سطح هورمون استرادیول در زنان چاق بیشتر از افراد با وزن نرمال است. مصرف داروی لیراگلوتااید باعث کاهش استرادیول و بهبود وزن، در زنان با چاقی مفرط می‌شود. چنین به نظر می‌رسد که این دارو به علت تشابه ساختاری با GLP-1 انسانی، احتمالاً با افزایش پیام‌های ضد اشتها و کاهش پیام‌های اشتها آور موجب کاهش مصرف غذا و پایین آمدن وزن می‌گردد (۲۳ و ۲۴).

مطالعه‌های قبلی نشان دادند که درمان با لیراگلوتااید موجب کاهش چشم‌گیری در خشکی دهان از نظر بالینی و غلظت گلوکز پس از غذا می‌گردد. همچنین این درمان باعث کاهش هموگلوبین گلیکوزیله HbA1C خواهد شد که این فرآیند نیز منجر به کاهش وزن در حد متوسط و داشتن ریسک بسیار پایین هیپوگلیسمی می‌شود (۲۵). در این بین نتایج حاصل از یک آزمایش تصادفی کنترل شده با پلاسبو

(دارونما) لیراگلوتااید (۳-۲/۱ میلی گرم) در ۵۶۴ فرد غیردیابتی با چاقی مزمن، نشان داد که لیراگلوتااید، نسبت به لیپونیل (داروی لاغری) و یا فقط رژیم غذایی و ورزش، باعث کاهش وزن بیشتر و معنی‌دار در مدت ۵۲ هفته شده است، همچنین کاهش وزن به دوز وابسته می‌باشد. به علاوه نتایج مطالعه حاضر نشان داد وزن رحم در گروه‌های تجربی در مقایسه با گروه شم و کنترل کاهش یافته است (۲۶ و ۱۱).

تحقیق‌های قبلی نشان می‌دهند که استرادیول مترشح از تخمدان بر رشد و نمو رحم اثر گذاشته و با افزایش سطح استرادیول میزان رشد رحم افزایش می‌یابد. بنابراین کاهش وزن رحم در گروه‌های تجربی ناشی از کاهش سطح این هورمون است. همچنین هورمون FSH رابطه معکوس با وزن دارد، نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که افزایش FSH کاهش اشتها و در پی آن لاغری را به دنبال داشت (۲۸ و ۲۷).

از آنجا که داروی لیراگلوتااید علاوه بر درمان چاقی برای درمان دیابت نوع ۲ هم تجویز می‌گردد، در مطالعه‌های قبلی نشان داده شده است که آگونیست‌های GLP-1 باعث کاهش وزن در بیماران دیابتی پیشرفته می‌شود. به علاوه در این بیماران لیراگلوتااید باعث کاهش متوسطی در وزن می‌گردد و کنترل گلوکز خون را بهبود می‌بخشد. همچنین در مطالعه دیگری نشان داده شده است، بیماری دیابت به علت سمیت گلوکز، روی آندومتر رحم اثر می‌گذارد و باعث کاهش قطر آندومتر و کاهش لایه‌های رحمی رحم می‌شود (۲۹). مطالعه حاضر نشان داد مصرف

داروی لیراگلو تاید نیز روی لایه‌های رحم اثر می‌گذارد و باعث کاهش ضخامت و سطح مقطع آندومتر و پریمتر، کاهش ضخامت میومتر و افزایش تعداد و غدد آندومتر می‌شود.

چاقی و بیماری دیابت نوع ۲ می‌توانند باعث اختلال در تولید مثل گردند، به طوری که چاقی مفرط در رحم التهاب به وجود می‌آورد. با توجه به نتایج پژوهش حاضر از آنجا که داروی لیراگلو تاید باعث لاغری می‌شود به بهبود التهاب رحم کمک می‌کند، اما با توجه به کاهش لایه‌های رحمی و تغییر در میزان سطح هورمونی، احتمال باروری را محدود می‌کند.

داروی اکساناتید، یک آگونیست GLP-1 بوده و برای درمان دیابت نوع ۲ استفاده می‌گردد. مطالعه‌های انجام شده بر روی اثرات این دارو بر روی عملکرد رحم نشان می‌دهد که اکساناتید باعث کاهش غدد آندومتر و فیروز استروما می‌گردد. در صورتی که مطابق نتایج مطالعه حاضر داروی لیراگلو تاید، برخلاف این دارو، باعث افزایش غدد آندومتر شده است (۳۰). هم‌چنین مقایسه لیراگلو تاید با داروهای سیتاگلیپتین و پیوگلیتازون نشان می‌دهد که مصرف هر سه دارو باعث بهبود زیادی در میزان سطح هموگلوبین A1C و قند خون می‌شود، اما بر خلاف لیراگلو تاید، پیوگلیتازون باعث افزایش وزن می‌گردد و مصرف سیتاگلیپتین تغییر چشم‌گیری در وزن ایجاد نمی‌کند (۳۱ و ۳۲).

ریز آران‌آی‌ها (miRNAs) نقشی حیاتی در سیستم ایمنی و فعالیت‌های متابولیسمی بدن دارند.

نتایج مطالعه‌هایی که به بررسی رابطه miRNAs با چاقی، هم‌چنین ارتباط بین اضافه وزن با هورمون‌های جنسی و سندرم پلی‌کیستیک تخمدان پرداخته شده نشان می‌دهد که، miRNA-21، miRNA-27b، miRNA-155 و miRNA-103 با بی‌نظمی‌های متابولیکی مانند چاقی و بیماری‌های دیابت و P-COS تحت تأثیر قرار می‌گیرند. نتایج مربوط به این پژوهش نشان می‌دهد که چاقی و تغییر غلظت آندروژن، باعث کاهش این miRNAs می‌گردد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که داروی لیراگلو تاید با ایجاد اختلال در هورمون جنسی استرادیول احتمال باروری را محدود خواهد کرد و هم‌چنین با افزایش سوخت و ساز بدن باعث لاغری می‌شود (۳۳).

نتیجه‌گیری

با توجه به مطالعه حاضر و نتایج به دست آمده، با وجود آن که داروی لیراگلو تاید از طریق افزایش هورمون FSH باعث کاهش اشتها و در پی آن لاغری می‌شود و کاهش وزن بهبود التهاب رحم را به دنبال خواهد داشت، اما مصرف این دارو موجب اختلال در سیستم هورمونی و کاهش هورمون استرادیول، که هورمونی زنانه است، می‌گردد که با توجه به کاهش لایه‌های رحمی و افزایش تعداد و غدد آندومتر به نظر می‌رسد که این دارو احتمال باروری را محدود خواهد کرد. با توجه به نتایج به دست آمده، آزمایش‌های تکمیلی در خصوص بررسی اثرات مستقیم داروی لیراگلو تاید بر روی جنین و نوزاد تازه

متولد شده، بررسی اثرات کاهش میزان استرادیول بر روی تکوین جنین و همچنین امکان‌سنجی استفاده هم‌زمان از داروی لیراگلوتاید به همراه داروهای مورد استفاده در درمان چاقی و دیابت نوع ۲ پیشنهاد می‌گردد.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته زیست سلولی تکوینی بود که با حمایت مالی دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات انجام شد.

REFERENCES

1. Van Can J, Sloth B, Jensen C, Flint A, Blaak E, Saris W. Effects of the once-daily GLP-1 analog liraglutide on gastric emptying, glycemic parameters, appetite and energy metabolism in obese, non-diabetic adults. *International Journal of Obesity* 2014; 38(6): 784-93.
2. Schon S, Butts S. Obesity, reproductive outcomes, and access to infertility treatments: a clinical and ethical debate. *Obesity and Fertility: Springer New York*; 2015; 161-8.
3. Bullon P, Newman, Hubert N, Battino M. Obesity, diabetes mellitus, atherosclerosis and chronic periodontitis: a shared pathology via oxidative stress and mitochondrial dysfunction?. *Periodontology 2000* 2014; 64(1): 139-53.
4. Wooltorton E. Obesity drug sibutramine (Meridia): hypertension and cardiac arrhythmias. *Canadian Medical Association Journal* 2002; 166(10): 1307-8.
5. Dietrich Marcelo O, Horvath Tamas L. Limitations in anti-obesity drug development: the critical role of hunger-promoting neurons. *Nature reviews Drug Discovery* 2012; 11(9): 675-91.
6. Grindler Natalia M, Moley Kelle H. Maternal obesity, infertility and mitochondrial dysfunction: potential mechanisms emerging from mouse model systems. *Molecular Human Reproduction* 2013; 19(8): 486-94.
7. Taimor A. Female obesity and infertility. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* 2015; 29(4): 498-506.
8. Legler J, Fletcher T, Govarts E, Porta M, Blumberg B, Heindel J, Trasande L. Obesity, diabetes, and associated costs of exposure to endocrine-disrupting chemicals in the European Union. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2015; 100(4): 1278-88.
9. Bakker K, Apelqvist J, Schaper NC. Practical guidelines on the management and prevention of the diabetic foot 2011. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 2012; 28(1): 225-31.
10. Kurdiová T, Balaz M, Vician M, Maderova D, Vlcek M, Valkovic L, et al. Effects of obesity, diabetes and exercise on Fndc5 gene expression and irisin release in human skeletal muscle and adipose tissue: in vivo and in vitro studies. *The Journal of Physiology* 2014; 592(5): 1091-107.
11. Astrup A, Rössner S, Van Gaal L, Rissanen A, Niskanen L, Al Hakim M, et al. Effects of liraglutide in the treatment of obesity: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *The Lancet* 2009; 374(9701): 1606-16.
12. Kahal H, Abouda G, Rigby A, Coady M, Kilpatrick E, Atkin S. Glucagon-like peptide-1 analogue, liraglutide, improves liver fibrosis markers in obese women with polycystic ovary syndrome and nonalcoholic fatty liver disease. *Clinical Endocrinology* 2014; 81(4): 523-8.
13. Hegedüs L, Moses A, Zdravkovic M, Le Thi, Daniels G. GLP-1 and calcitonin concentration in humans: lack of evidence of calcitonin release from sequential screening in over 5000 subjects with type 2 diabetes or nondiabetic obese subjects treated with the human GLP-1 analog, liraglutide. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2011; 96(3): 853-60.
14. Moffett Charlotte R, Vasa S, Thorens B, Drucker D, Flatt P. Incretin receptor null mice reveal key role of GLP-1 but not GIP in pancreatic beta cell adaptation to pregnancy. *PloS one* 2014; 9(6): e96863.
15. D'Alessio D, Häring H, Charbonnel B, de Pablos Velasco P, Candelas C, Dain M, Yki-Järvinen H. Comparison of insulin glargine and liraglutide added to oral agents in patients with poorly controlled type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2015; 17(2): 170-8.
16. Pratley R, Nauck M, Bailey T, Montanya E, Cuddihy R, Filetti S. 1860-LIRA-DPP-4 Study Group. Liraglutide versus sitagliptin for patients with type 2 diabetes who did not have adequate glycaemic control with metformin: a 26-week, randomised, parallel-group, open-label trial. *The Lancet* 2010; 375(9724): 1447-56.
17. Fadini GP, Avogaro A. Cardiovascular effects of DPP-4 inhibition: beyond GLP-1. *Vascular Pharmacology* 2011; 55(1): 10-6.
18. Scheen AJ. DPP-4 inhibitors in the management of type 2 diabetes: a critical review of head-to-head trials. *Diabetes & Metabolism* 2012; 38(2): 89-101.
19. Guideline, ICH Harmonised Tripartite. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Note for Guidance on Statistical Principles for Clinical Trials, ICH Topic E 1998; 9.
20. World Medical Association. Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA* 2000; 284: 3043-45.
21. Ohki T, Isogawa A, Iwamoto M, Ohsugi M, Yoshida H, Toda N, et al. The effectiveness of liraglutide in nonalcoholic fatty liver disease patients with type 2 diabetes mellitus compared to sitagliptin and pioglitazone. *The Scientific World Journal* 2012; 11(3): 1-8.

- 22.Meier JJ. GLP-1 receptor agonists for individualized treatment of type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology* 2012; 8(12): 728-42.
- 23.Fonseca VA, Alvarado-Ruiz R, Raccach D, Boka G, Miossec P, Gerich JE. Efficacy and Safety of the Once-Daily GLP-1 Receptor Agonist Lixisenatide in Monotherapy A randomized, double-blind, placebo-controlled trial in patients with type 2 diabetes (GetGoal-Mono). *Diabetes Care* 2012; 35(6): 1225-31.
- 24.Christensen A, Pike G. Diet-Induced Obesity in Middle-Aged Female 3xTg-AD Mice: Protective Effects of Estradiol and Progesterone. In: *Obesity: Basic Science*. Endocrine Society 2015; FRI-570-FRI-570.
- 25.Vallejo-Vaz AJ, Seshasai SRK, Kurogi K, Michishita I, Nozue T, Sugiyama S, et al. Effect of pitavastatin on glucose, HbA1c and incident diabetes: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials in individuals without diabetes. *Atherosclerosis* 2015; 241(2): 409-18.
- 26.Adeyemo M, McDuffie J, Brady S, Condarco T, Garcia R, Hubbard V, et al. Effect of orlistat on ratings of fat-containing foods among obese adolescents. In: *Human Obesity: Targets and Therapies*. Endocrine Society 2014; SAT-0938-SAT-0938.
- 27.Grazul-Bilska A, Khanthusaeng V, Bass C, Kaminski S, Navanukraw C, Redmer D. Lipid droplets in the ovine uterus during the estrous cycle: Effects of nutrition, arginine, and FSH. *Theriogenology* 2017; 87: 212-20.
- 28.Stilley J, Guan R, Santillan D, Mitchell B, Lamping K, Segaloff D. Differential regulation of human and mouse myometrial contractile activity by fsh as a function of fsh receptor density 1. *Biology of Reproduction* 2016; 95(2): 36, 1-10.
- 29.Yki-Järvinen H, Bergenstal R, Ziemer M, Wardecki M, Muehlen Bartmer I, Boelle E, et al. New insulin glargine 300 units/mL versus glargine 100 units/mL in people with type 2 diabetes using oral agents and basal insulin: glucose control and hypoglycemia in a 6-month randomized controlled trial (EDITION 2). *Diabetes Care* 2014; 37(12): 3235-43.
- 30.Buse JB, Nauck M, Forst T, Sheu WH, Shenouda SK, Heilmann CR, et al. Exenatide once weekly versus liraglutide once daily in patients with type 2 diabetes (DURATION-6): a randomised, open-label study. *The Lancet* 2013; 381(9861): 117-24.
- 31.Davidson JA, Schernthaner G, Hieronymus L, Jodon H, Vijapurkar U, Meininger G, et al. Canagliflozin Is Superior to Sitagliptin in Reducing Both A1C and Body Weight in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. In: *Type 2 Diabetes Therapies*. Endocrine Society 2015; THR-653.
- 32.Kovacs C, Seshiah V, Swallow R, Jones R, Rattunde H, Woerle HJ, et al. Empagliflozin improves glycaemic and weight Control as add-on therapy to pioglitazone or pioglitazone plus metformin In Patients With Type 2 diabetes: a 24-week, randomized, placebo- controlled trial. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2014; 16(2): 147-58.
- 33.Murri M, Insenser M, Fernández-Durán E, San-Millán JL, Escobar-Morreale HF. Effects of polycystic ovary syndrome (P-COS), sex hormones, and obesity on circulating miRNA-21, miRNA-27b, miRNA-103, and miRNA-155 expression. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2013; 98(11): E1835-44.

Investigation of Liraglutide Effects on Changes of Uterine Tissue, Estradiol and FSH Hormones in NMRI Mice

Atashnezhad S¹, Hayati Roudbari N^{1*}, Mohammadi Gorji S², Parivar K¹

¹Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University Science and Research
Branch, Tehran, Iran ²Department of Biology, Islamic Azad University, Sari, Iran

Received: 15 Jan 2017

Accepted: 24 Jul 2017

Abstract

Background & aim: Liraglutide has used for treatment of obesity and type 2 diabetes, which are main factors of infertility. Regarding that, uterus as the most important organ reproductive system is under vulnerable, particularly by chemical drugs, the purpose of this research was to investigated the effects of Liraglutide on uterine tissue changes and Estradiol and FSH hormones in NMRI mice in In vivo condition has been investigated.

Methods: This experimental study was performed on 28 adult NMRI female rats (8 to 12 weeks old) weighing between 25 and 30 grams. Mice were randomly divided into four groups (seven) including control, sham and two experimental groups. The control group was no injected and the sham and experimental groups 1 and 2 respectively received a solvent (distilled water) and liraglutide at doses of 0.6 mg / kg and 1.8 mg / kg respectively. The injections were subcutaneously administered daily and in one hour. After 30 days of injection, the mice were deeply anesthetized by the ether and blood was removed from heart. After staining, samples were examined by optical microscopy. The collected data were analyzed using one-way ANOVA and Tukey's test.

Results: The weight of the mice in the experimental groups 1 and 2 significantly ($p < 0.01$) and ($p < 0.01$) compared with control and sham groups has decreased. Also, the thickness of the uterus (from the lumen to the last layer) and the diameter of the lumen showed a significant decrease ($p < 0.05$) and ($p < 0.01$) in the experimental groups. A significantly decreased was seen on endometrial thickness in the experimental groups 1 and 2 ($p < 0.01$) and ($p < 0.001$). Also, the thickness of primer in the experimental group also decreased significantly ($p < 0.05$) in comparison with the control group. In addition, using the drug the number of uterine glands in experimental groups 1 and 2 showed a significant increase ($p < 0.05$) and ($p < 0.01$), and their diameter increased in both groups. Also, estradiol and FSH levels were decreased and increased, respectively.

Conclusion: Treatment with liraglutide is associated with weight loss and tissue thickness of the uterus. Due to the disturbance in the hormonal system, which is probably due to the specificity of the drug, it will also be limited due to the reduction in estradiol, which is a female hormone.

Key words: Liraglutide, uterine changes, estradiol hormone, FSH hormone, NMRI mouse strain

Corresponding author: Hayati Roudbari N, Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University Science and Research Branch, Tehran, Iran

Email: hayati@srbiau.ac.ir

Please cite this article as follows:

Atashnezhad S, Hayati Roudbari N, Mohammadi Gorji S, Parivar K. Investigation of Liraglutide Effects on Changes of Uterine Tissue, Estradiol and FSH Hormones in NMRI Mice. Armaghane-danesh 2017; 22 (3): 405-418.