Birjand University of Medical Sciences

Journal of Birjand University of Medical Sciences

Original Article

Effects of liraglutide on the Biochemical characteristics of plasma parameters and testicular tissue induced diabetes and obesity in mice

Saied Mohammadzadeh[1]*, **Mosayeb Amiri**[1]

ABSTRACT

Background and Aims: Obesity and diabetes are the most common metabolic disorders that have negative effects on organisms, including the reproductive system. The drug treatments cause fertility disorders. One of the candidate drugs is liraglutide. The present study sought to assess the effect of liraglutide on testicular tissue and blood parameters, especially C-reactive protein (inflammation index).

Materials and Methods: A total of 40 adult male mice were assigned to five groups with eight replications. These groups included control, obese, obese+liraglutide injected 1.2 mg/kg of body weight, diabetes, and the last group, diabetes+liraglutide injected 1.2 mg/kg of body weight. Liraglutide was injected subcutaneously daily. The duration of the experiment was six weeks. After the end of the experiment, the animals were anesthetized, and blood samples and testicular sections were taken. Animals were euthanized (cervical dislocation). The testicles were removed and fixed. The tissue sections were prepared according to the usual protocol.

Results: The results demonstrated that the diameter of seminiferous tubules in obese and diabetic groups was increased by liraglutide injection ($P<0.01$). Diabetes and obesity decreased the thickness of the germ cell epithelium of seminiferous tubules ($P<0.01$). The C-reactive protein decreased in diabetic and obese groups when injected with liraglutide ($P<0.01$).

Conclusion: As evidenced by the results obtained, liraglutide can improve the male reproductive system and reduce chronic inflammation caused by obesity and diabetes.

Keywords: Diabetes, Liraglutide, Mice, Obesity, Testis

Citation: Mohammadzadeh S, Amiri M. [Effects of liraglutide on the Biochemical characteristics of plasma parameters and testicular tissue induced diabetes and obesity in mice]. J Birjand Univ Med Sci. 2024; 31(?): In press. [Persian]

DOI http://doi.org/10.32592/JBirjandUnivMedSci.

Received: March 17, 2024 **Accepted:** June 29, 2024

[1] Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khoramabad, Iran

***Corresponding author:** Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khoramabad, Iran
Tel: +986633120100 Fax: +986632120090 E-mail: Mohammadzadeh.s@lu.ac.ir

مقاله اصیل پژوهشی

اثرات لیراگلوتاید روی شاخص‌های بیوشیمیایی پلاسما و بافت بیضه با القاء دیابت و چاقی در موش

سعید محمدزاده[۱]*، مسیب امیری[۱]

چکیده

زمینه و هدف: چاقی و دیابت از شایع‌ترین اختلالات متابولیکی هستند و هردو اثرات منفی بر سیستم بدن از جمله دستگاه تولیدمثلی می‌گذارند، از طرفی درمان داروئی آن‌ها باعث اختلال در باروری می‌شوند. از جمله داروهای کاندید برای درمان این بیماری‌ها لیراگلوتاید است. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر داروی لیراگلوتاید روی بافت بیضه و فراسنجه‌های خونی به‌ویژه پروتئین واکنشی C (شاخص التهاب) انجام شد.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی تعداد ۴۰ سر موش نر سوری به ۵ گروه با ۸ تکرار تقسیم شدند که شامل گروه‌های شاهد، چاق، گروه چاق دریافت کننده لیراگلوتاید ۱/۲mg/kg، گروه دیابتی و گروه دیابتی دریافت کننده لیراگلوتاید با دوز ۱/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بودند. لیراگلوتاید به‌صورت روزانه و زیر جلدی تزریق گردید. پس از شش هفته مطالعه حیوانات بیهوش و نمونه سرم تهیه و مقاطع بافت بیضه تهیه شدند. مقاطع بافتی براساس روش‌های رایج تهیه گردید.

یافته‌ها: لیراگلوتاید قطر لوله‌های اسپرم‌ساز را در گروه‌های چاق و دیابتی افزایش داد (P<۰/۰۱). دیابت و چاقی ضخامت لایه اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز را کاهش دادند (P<۰/۰۱). پروتئین واکنشی C در گروه‌های دیابتی و چاق که به آن‌ها لیراگلوتاید تزریق شد کاهش یافت (P<۰/۰۱).

نتیجه‌گیری: لیراگلوتاید می‌تواند سبب بهبود سیستم تولیدمثلی جنس نر (بافت بیضه) و کاهش التهابات مزمن در زمان چاقی و دیابت شود.

واژه‌های کلیدی: دیابت، لیراگلوتاید، موش، چاقی، بیضه

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۳؛ ۳۱ (؟): در حال انتشار.

دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۲۷ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۰۹

[۱] گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

***نویسنده مسئول:** گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

آدرس: استان لرستان – خرم‌آباد- دانشگاه لرستان- دانشکده کشاورزی- گروه علوم دامی

تلفن: ۰۶۶۳۳۱۲۰۱۰۰ نمابر: ۰۶۶۳۳۱۲۰۰۹۰ پست الکترونیکی: Mohammadzadehsa@gmail.com

مقدمه

در چند دهه اخیر، چاقی به‌شدت در کشورهای توسعه‌یافته و در حال توسعه افزایش یافته و این وضعیت در حال حاضر به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل زمینه‌ساز بسیاری از بیماری‌های جهان است (۱). عوامل مختلفی مانند اختلالات هورمونی، متابولیکی و روانی با چاقی مرتبط هستند؛ زیرا بین مقاومت به انسولین و چاقی همبستگی مثبت وجود دارد. از عوامل مهم مرتبط با چاقی اختلالات هورمونی مرتبط با اشتها و هورمون GLP-1 می‌باشد. این هورمون اینکرتینی و از سلول‌های L در بافت روده ترشح می‌شود. تولید و ترشح این هورمون در پاسخ به گلوکز و سایر متابولیت‌ها افزایش می‌یابد و به واسطه اتصال به گیرنده‌های خود در سلول‌های بتا پانکراس سبب افزایش ترشح انسولین می‌شود (۲). همچنین این هورمون دارای اثر آنوروکسی (مهارکننده) اشتها است. بنابراین تجویز آن باعث کاهش مصرف غذا می‌شود. سازو کار تأثیر آن از طریق گیرنده‌های GLP-1 در هسته پاراونتریکولار و هسته سوپرااپتیک هیپوتالاموس، هسته سلول‌های ترشحی و پس از آن منطقه ساقه مغز با میانجیگری عصب واگ صورت می‌گیرد.

در طول چند دهه اخیر بر اساس آزمایشات کلینیکی و مطالعات متاآنالیزی در اروپا و امریکا مشخص شد که عوامل مختلفی روی تولیدمثل تأثیر منفی دارند. از جمله بیماری دیابت ملیتوس و نوع دوم آن که از بیماری‌های متابولیکی شایع و فراگیر است که نقش اساسی را در کاهش سلامت جامعه ایفا می‌کند. به‌طور ویژه این بیماری موجب افزایش قند خون در بدن می‌شود. از جمله عوارض دیابت ملیتوس بروز بسیاری از بیماری‌ها مانند التهاب اعصاب (نوروپاتی)، اختلال در شبکیه (رتینوپاتی)، اختلالات کلیوی (نفروپاتی) و اختلالات میکرو و ماکرو عروق خونی است (۳). بر اساس یافته‌های تحقیقات، دیابت از جمله بیماری‌های مهم متابولیکی در مردان بوده و می‌تواند روی سیستم تولیدمثل تأثیر منفی ایجاد کند. دیابت سبب کاهش یکپارچگی اسپرم شده و به‌دنبال آن ناباروری ایجاد می‌شود (۴).

بر اساس یافته‌های تحقیقات، دیابت روی سیستم تولیدمثل تأثیر منفی ایجاد می‌کند. در جنس نر این بیماری متابولیکی یکپارچگی اسپرم را کاهش داده و به‌موجب آن سبب کاهش ناباروری می‌شود (۵) بنابراین جهت درمان بیماران دیابتی ترکیبات مختلفی مانند انسولین و شبه انسولین استفاده می‌شود. علاوه بر این انجمن داروئی امریکا و اروپا داروهایی بر پایه اینکرتین را در سال‌های ۲۰۰۶ و ۲۰۰۷ به بازار عرضه نمود؛ زیرا به‌طور مؤثری روی سطح گلوکز خون تأثیر داشتند. این ترکیبات از سلول‌های گوارشی ترشح و وارد جریان خون می‌شوند. اینکرتین‌هائی مانند IP و GLP-1 پس از مصرف غذا روی پانکراس تأثیر گذاشته و ساخت و ترشح انسولین را تحریک می‌کنند. هورمون GLP-1 سبب مهار گلوکاگون شده و با این عمل بیوسنتز انسولین را افزایش می‌دهد و با این عمل هیپرگلایسمی منتج از دیابت را مهار می‌نماید. بر اساس تحقیقات جدید در امریکا و اروپا، GLP-1 با نام جدید لیراگلوتاید، اگونیست استیله شده مورد تأیید قرار گرفت و وارد بازار شد. توالی آمینواسید این ترکیب تا حدود ۹۷٪ مشابه GLP-1 انسانی است. لیراگلوتاید سبب مهار گلوکاگون شده و ترشح انسولین وابسته به گلوکز را افزایش می‌دهد. این ترکیب سبب مهار اشتها از طریق تأخیر در تخلیه معده می‌شود؛ بنابراین در چاقی از آن نیز استفاده می‌شود. از دیگر ویژگی‌های لیراگلوتاید فعالیت ضدسرطانی کبد (کارسینومای کبدی) و رحم (سرطان آندومتر) از طریق PI3K/AKT/mTOR می‌باشد (۶). با توجه به کاهش کیفیت منی در اثر دیابت، چاقی و تأثیر لیراگلوتاید در درمان این بیماری، این فرضیه وجود دارد که این دارو به نحوی می‌تواند در ترشح هورمون‌های جنسی و فعال‌سازی فرایند اسپرماتوژنز در بافت بیضه مؤثر باشد. اگرچه تحقیقات زیادی در حوزه لیراگلوتاید صورت گرفته؛ لیکن هنوز تأثیر آن روی بافت بیضه به‌خوبی روشن نیست. هدف از این تحقیق بررسی تأثیر لیراگلوتاید روی بافت بیضه و فراسنجه‌های خونی به‌ویژه پروتئین واکنشی C [1] است.

روش تحقیق

جهت انجام این تحقیق داروی لیراگلوتاید (شرکت سیناژن [2]) کشور ایران و استرپتوزوتوسین (شرکت سیگما – امریکا) تهیه شد.

[1] C Protein Reaction
[2] Cinnagen

القا دیابت با یک بار تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین[1] در بافر سیترات ۱/۰ مولار حل شده و به میزان ۵۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن، در داخل صفاق تزریق شد. روش القای دیابت به‌گونه‌ای بود که برای هر کیلوگرم وزن زنده مقدار ۲۰۰ میلی‌گرم استرپتوزوتوسین محلول در بافر سیترات ۲۰ میلی‌مولار به صورت داخل صفاقی تزریق شد. برای تأیید دیابتی شدن موش‌ها پس از ۲۴ ساعت نمونه خون تهیه و با استفاده از گلوکومتر فریسنس[2] کشور چین مقدار گلوکز خون سنجش شد. گلوکز در خون موش‌های بالای ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان حیوان دیابتی و در آزمایش شرکت داده شدند (۷). در این مطالعه از ۴۰ سر موش سوری آزمایشگاهی NMRI[3] با سن ۱۰ هفته استفاده شد. حیوانات از مرکز تولید حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی لرستان با میانگین وزن ۳/۲±۳۰–۲۵ گرم خریداری شدند. در این مطالعه تمامی مقررات مرتبط با کمیته کار با حیوانات آزمایشگاهی و رعایت اخلاق و حمایت از حقوق حیوانات با کد IR.LUMS.REC.1403.125 صورت گرفت. در طول مدت آزمایش، حیوانات در شرایط تغذیه‌ای یکسان از نظر نور، رطوبت و درجه حرارت قرار گرفتند. طول دوره نوری و خاموشی ۱۲:۱۲ بود. برای القای چاقی، رژیم غذائی پرچرب (۱۳۸۲ کیلوکالری) استفاده شد (۸). محدودیتی برای حیوانات جهت دسترسی به آب و غذا وجود نداشت. پس از ۱۰ روز دوره مقدماتی و سازگاری، موش‌ها به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم‌بندی شدند. گروه‌های آزمایشی شامل کنترل، گروه دیابتی، گروه چاق، گروه چاق به همراه تزریق لیراگلوتاید به مقدار ۱/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن زنده، گروه دیابتی به همراه تزریق لیراگلوتاید به مقدار ۱/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن زنده بود. مدت زمان آزمایش شش هفته و تزریق داروی لیراگلوتاید به صورت زیر جلدی انجام گرفت.

تهیه نمونه خون و بافت بیضه

برای تهیه نمونه خون و بافت بیضه ابتدا موش‌ها با استفاده از مخلوط کتامین (۸۰) و زایلازین (۱۰میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن) بیهوش و سپس با جابجائی مهره‌های گردن آسان‌کشی شدند. بلافاصله پس از آسان‌کشی، با استفاده از سرنگ ۲ میلی‌لیتر مستقیماً از بطن چپ قلب خونگیری به‌عمل آمد. نمونه‌های خون با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ، سرم آن‌ها جدا و در درجه ۷۰ــ سانتیگراد قرار داده شدند. تست‌های بیوشیمیایی شامل گلوکز، اوره، کراتینین، کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL,HDL,AST,ALT,ALP، آلبومین، پروتئین و CRP بر روی سرم با کمک کیت بیوتست شرکت دلتا درمان پارت و دستگاه اتوآنالیزر المپوس ۲۷۰۰ شرکت بکمن (Bekman) – کشور امریکا انجام گرفت. برای تهیه بافت بیضه، پس از استریل نمودن پوست ناحیه شکمی با اتانول و ایجاد برش در ناحیه شکمی، بیضه‌ها خارج و بخشی از بافت مجاور محور میانی بیضه (مدیاستاینوم) به ابعاد ۰/۵ سانتیمتر جدا و در فیکساتیو (فرمالین ۱۰ درصد) قرار داده شد. مراحل آبگیری و شفاف‌سازی به ترتیب با استفاده از الکل با درجات صعودی و زایلن انجام شد. در مرحله بعد نمونه‌ها با پارافین قالب‌گیری شدند. با استفاده از میکروتوم مقاطع بافتی با ضخامت ۵ میکرون تهیه شد. مقاطع تهیه شده توسط رنگ هماتوکسیلین– ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. مقادیر کمی نمونه‌های بافتی به کمک میکروسکوپ نوری Olympus-Japan با بزرگنمایی ۱۰Xو نرم‌افزار IScapture با حداقل ۲۰۰ میدان دید تعیین شد. مقادیر کمی شامل قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، لومن و ضخامت لایه زاینده (اپیتلیوم) در نظر گرفته شد. داده‌های حاصل از این تحقیق با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 مورد ارزیابی آماری قرار گرفته شد و مقایسه بین گروه‌ها از طریق آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون‌های مقایسه‌ای چنددامنه‌ای دانکن صورت گرفت. سطح معنی‌داری بین گروه‌ها (P<۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

غلظت گلوکز در گروه‌های دیابتی و چاق با لیراگلوتاید به ترتیب ۲۵۴/۷ و ۱۳۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود. لیراگلوتاید سبب کاهش قند خون در موش‌های چاق و دیابتی شد. غلظت اوره در گروه چاق به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. تزریق لیراگلوتاید به موش‌های چاق

[1] Streptozotocin (STZ)
[2] Freesens
[3] Nawal Medical research Institute

سبب کاهش کراتینین گردیده همچنین لیراگلوتاید غلظت کلسترول و تری‌گلیسرید را به‌طور معنی‌داری کاهش داد. غلظت HDL در گروه موش‌های چاق حداکثر بود و با مصرف لیراگلوتاید غلظت آن کاهش یافت. در گروه دیابت و چاق، غلظت LDL افزایش معنی‌داری داشت و تغییرات معنی‌داری در AST مشاهده نشد، در عوض غلظت‌های ALT و ALP با تزریق لیراگلوتاید به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. تغییرات معنی‌داری در آلبومین و پروتئین مشاهده نشد ولی غلظت CRP در گروه‌هائی که لیراگلوتاید به آن‌ها تزریق شد، کاهش معنی‌داری یافت (جدول ۱).

جدول ۱- تغییرات فراسنجه‌های خون موش در تیمارهای مختلف آزمایشی

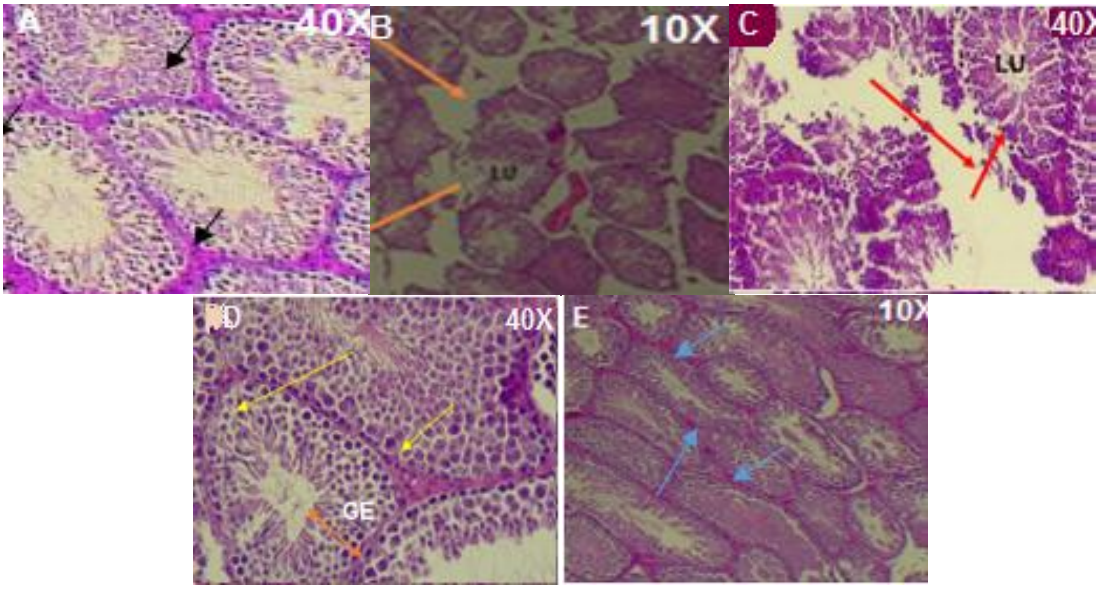
فراسنجه (واحد)	شاهد	دیابت	چاق	چاق لیراگلوتاید	دیابت لیراگلوتاید
گلوکز (mg/dL)	۱۰۰/۸±۳۲/۵	۲۵۴/۷±۹۵/۷ **	۱۲۰/۷±۳۸/۱ **	۱۳۰/۸±۴۰/۹ **	۲۰۸±۲۳/۸ **
اوره (mg/dL)	۴۴/۴±۱۴/۲	۶۶/۲±۶/۶ ***	۲۹/۵±۶/۲ ***	۶۵/۵±۱۴/۳ ***	۶۳/۲±۱۳/۸ ***
کراتینین (mg/dL)	۰/۵۳±۰/۰۲	۰/۳۳±۰/۰۳	۰/۲۶±۰/۰۱	۰/۱۸±۰/۰۹ **	۰/۳۱±۰/۰۴
کلسترول (mg/dL)	۹۳/۳±۲۲/۵	۱۹۹/۲±۱۹/۹ ***	۱۹۱/۷±۲۲/۳ ***	۱۱۳/۵±۱۰/۵ ***	۱۴۵/۷±۳۶/۳ ***
تری‌گلیسرید (mg/dL)	۹۲/۲±۱۲/۲	۳۱۳±۵۸/۳ **	۱۹۰/۷±۷۱/۱ **	۸۸±۶/۹ ##	۸۴±۱۱/۱
HDL (mg/dL)	۸۳/۳±۱۵/۹	۶۰/۲±۷/۱ *	۹۵±۱۲/۳	۶۳/۲±۷/۲ #*	۷۶/۵±۱۶/۷ *
LDL (mg/dL)	۳۷/۵±۹/۸	۳۹/۷±۲/۸	۴۰±۲/۵	۱۲/۷±۲/۱ ##**	۲۰/۵±۴/۴ **
AST (IU/L)	۷۶/۲±۱۸/۸	۴۹۴/۲±۴۴/۲	۴۳۴/۵±۱۵۰/۶	۳۲۴/۷±۱۱۱/۳	۳۲۸/۲±۱۶۶/۴
ALT (IU/L)	۲۷±۹/۸	۱۳۳±۵/۷ *	۵۴/۲±۱۵/۲ *	۴۶/۷±۱۲/۶ *	۸۰/۲±۵۱/۷ *
ALP (IU/L)	۱۸۳/۷±۳۶/۵	۳۷۴/۷±۵۸/۲ **	۲۶۷/۵±۱۲۶/۴ **	۲۲۸±۲۳/۶ **	۲۴۲±۱۹/۰۱ **
آلبومین(g/dL)	۳/۷±۱/۵	۲/۹۷±۰/۴۲	۲/۷۷±۰/۱۵	۳±۰/۱۷	۲/۷۵±۰/۱۷
پروتئین (g/dL)	۵/۳±۱/۲۵	۷/۲±۲/۰۸	۵/۵±۱/۱	۶/۳±۰/۳۱	۵/۶±۰/۳۴
CRP(نانوگرم در میلی‌لیتر)	۶/۲±۱/۵	۱۰/۵±۱/۹ **	۵/۲۵±۱/۲۵	۳/۵±۰/۵۷ ##**	۳/۷۵±۰/۵ **

در هر ردیف مقادیر بیانگر میانگین±انحراف معیار مربوط به موش است و علامت * یا # معنی‌داری را از نظر آماری نشان می‌دهد. مقایسه میانگین در گروه‌های مختلف آزمایشی توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون چند دامنه‌ای دانکن است.

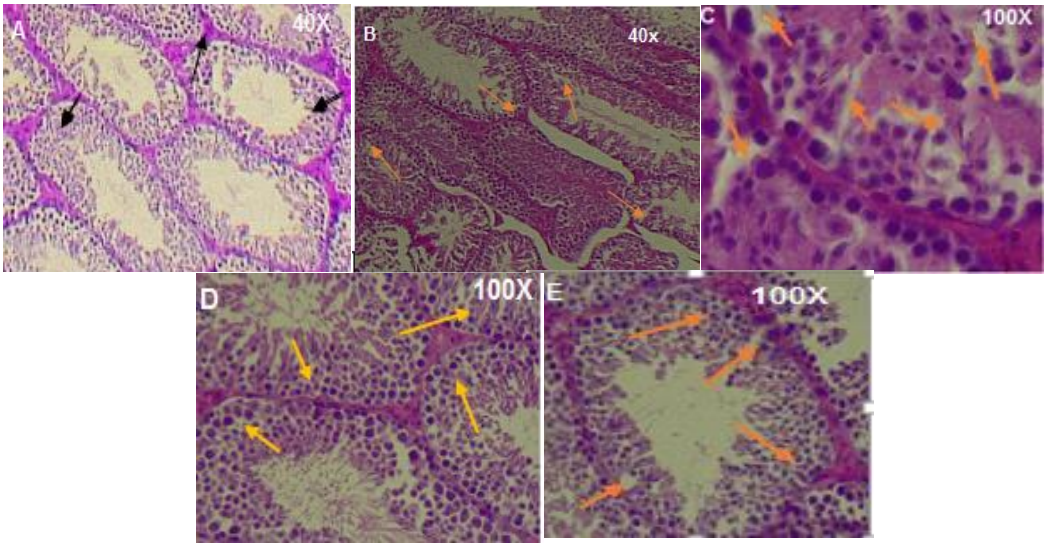
*P<۰/۰۵، **P<۰/۰۱، ***P<۰/۰۰۱: اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد و # P<۰/۰۵ و ## P<۰/۰۱ : اختلاف معنی‌داری با گروه چاق را نشان می‌دهد.

تغییرات مقاطع بافت بیضه رنگ شده توسط ائوزین و هماتوکسیلین در جدول ۲ و اشکال بافتی نشان داده شده است. ساختار لوله‌های اسپرم‌ساز در بافت بیضه به همراه سلول‌های جنسی در لایه‌زاینده آن به‌وضوح در کنترل و گروه‌های درمان با لیراگلوتاید با بزرگنمائی‌های مختلف میکروسکوپ در تصاویر ۱و۲ نشان داده شده است. در گروه دیابت و چاقی القاشده تحلیل (آتروفی) لایه زاینده (اپیتلیوم) بافت بیضه ملاحظه می‌شود. قطر لوله‌های اسپرم‌ساز در گروه‌های چاق و دیابتی کاهش یافت و با تزریق لیراگلوتاید به

این دو گروه افزایش معنی‌داری ایجاد شد. بیشترین قطر لومن (حفره لوله‌های اسپرم‌ساز) ابتدا در گروه دیابت و سپس در گروه موش‌های چاق مشاهده شد و تزریق لیراگلوتاید به این دو گروه سبب افزایش ضخامت لایه زاینده (اپیتلیوم) لوله‌های اسپرم‌ساز گردید.



تصویر ۱- تغییرات یکپارچگی و از هم گسیختگی لوله‌های اسپرم‌ساز در موش در گروه‌های مختلف آزمایشی. A گروه کنترل، B گروه القای دیابت با استروپتوزوتوسین، C گروه القای چاقی با جیره پرانرژی،D تأثیر لیراگلوتاید روی چاقی القا شده و E تأثیر لیراگلوتاید روی دیابت القاشده. لایه زاینده لوله‌های اسپرم‌ساز (GE) و LU (لومن)، بزرگنمائی با X نمایش داده شده است. چاقی و دیابت سبب از هم گسیختگی لوله‌های اسپرم‌ساز شده و با درمان لیراگلوتاید مجدداً این فضا بازسازی و تا حدی به هم نزدیک شد.



تصویر ۲- تغییرات یکپارچگی و از هم گسیختگی سلول‌های جنسی در لوله‌های اسپرم‌ساز موش در گروه‌های مختلف آزمایشی. A گروه کنترل، B گروه القای دیابت با استروپتوزوتوسین، C گروه القای چاقی با جیره پرانرژی، D تأثیر لیراگلوتاید روی چاقی القا شده و E تأثیر لیراگلوتاید روی دیابت القاشده. بزرگنمائی با X نمایش داده شده است. چاقی و دیابت (B و C) سبب ازهم‌گسیختگی سلول‌های جنسی شده و از طریق درمان با لیراگلوتاید (D و E) مجدداً این فواصل بازسازی و تا حدی کاهش یافت.

جدول ۱- تغییرات فراسنجه‌های بافت بیضه در تیمارهای مختلف آزمایشی

فراسنجه	شاهد	دیابت	چاق	چاق+لیراگلوتاید	دیابت+لیراگلوتاید
وزن بدن (گرم)	۲۸/۳۷±۱/۱	۲۴/۷۷±۰/۵۳ **	۳۶/۴۵±۰/۶۱ **	۳۲/۸۵±۰/۸۷ ##	۳۰/۲۵±۱/۲
قطر لوله اسپرم‌ساز (میکرومتر)	۶۵۴/۱±۹/۱	۵۵۱/۴±۷/۵ **	۵۵۵/۸±۱۰/۷ **	۶۵۰/۵±۱۴/۹ ##	۶۳۱/۴±۸/۸
قطر لومن لوله اسپرم‌ساز (میکرومتر)	۲۲۰±۴/۱	۳۸۸±۹/۹ **	۳۳۶±۷/۳ **	۲۲۵±۴/۵ ##	۲۳۸±۴/۹
ضخامت لایه اپیتلیوم لوله اسپرم‌ساز(میکرومتر)	۲۰۲±۲/۳	۹۷±۲/۵ **	۱۰۷/۵±۲/۴ **	۱۹۶/۶±۳/۳ ##	۱۹۱±۳/۵ **
مساحت لوله اسپرم‌ساز (میکرومترمربع)	۳۸۴۲۰۰±۱۱۶۹۸	۲۹۶۲۷۰±۵۴۱۵ **	۳۱۱۴۵۲±۹۰۶۸ **	۳۶۶۶۹۸±۱۰۰۳۰ ##	۳۵۰۴۳۹±۶۶۷۱ **
محیط لوله اسپرم‌ساز (میکرومتر)	۲۱۸۵±۳۳/۲	۱۹۲۴±۱۸ **	۱۹۶۷±۲۷/۹ **	۲۱۳۴±۲۸/۳ ##	۲۰۹۳±۱۹/۸ **
شعاع لوله اسپرم‌ساز (میکرومتر)	۳۴۸±۵/۳	۳۰۶±۲/۸ **	۳۱۳±۴/۴ **	۳۳۹±۴/۵ ##	۳۳۳±۳/۱ **

در هر ردیف مقادیر بیانگر میانگین±انحراف معیار مربوط به موش است و علامت * یا # معنی‌داری را از نظر آماری نشان می‌دهد. مقایسه میانگین در گروه‌های مختلف آزمایشی توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون چند دامنه‌ای دانکن است.

P<۰/۰۱ **: اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد و P<۰/۰۱ ## اختلاف معنی‌دار با گروه چاق را نشان می‌دهد.

بحث

در این تحقیق تزریق لیراگلوتاید، گلوکز خون را در موش‌های چاق و دیابت القا شده به‌وسیله جیره با کالری بالا و استرپتوزوتوسین را کاهش داد. ساز و کار لیراگلوتاید به‌گونه‌ای است که ترشح انسولین را افزایش و بدین ترتیب اثر هیپوگلیسمیک را دارد. در حیوانات مورد آزمایش با القای بیماری متابولیکی دیابت وابسته به انسولین و چاقی و تزریق لیراگلوتاید، گلوکز در سرم حیوانات کاهش یافت. بر اساس داده‌های جدول ۱ مشخص شد که با القای دیابت، کلیه سلول‌های بتا جزایر لانگرهانس این حیوانات تخریب شدند. استفاده از لیراگلوتاید به مقدار ۱/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن قادر به افزایش غلظت انسولین پلاسما و کاهش گلوکز شد.

لیراگلوتاید به عنوان یک داروی مؤثری در درمان دیابت برای افراد چاق مطرح است. در چاقی ترکیباتی موسوم به CRP به عنوان شاخص التهاب مطرح هستند و با توجه به تخریب و تحلیل بافت بیضه افراد چاق، هنوز تأثیر مصرف این دارو در افزایش باروری مشخص نشده است. لیراگلوتاید ویژگی آنتی‌آپوپتوتیک و آنتی-اکسیدانی دارد (۱۱-۹) در تحقیق حاضر چاقی و دیابت سبب تخریب لوله‌های اسپرم‌ساز و صدمه به بافت زاینده آن شد و در نتیجه اجتماعاتی از سلول‌های خسارت دیده به صورت پلاک در لوله‌های اسپرم‌ساز تشکیل می‌شود. بنابراین یکی از علت‌های مهم ناباروری کاهش ضخامت لایه زاینده لوله‌های اسپرم‌ساز بود. به نظر می‌رسد علت کاهش ناباروری در افراد چاق و دیابتی را می‌توان بدین دلیل عنوان نمود. استفاده از داروهای ضدسرطان مانند داکس روی بافت بیضه همین نتیجه را ایجاد کرد. استفاده از این ترکیب سبب کاهش دانسیته سلول‌های جنسی و ضخامت دیواره لوله‌های اسپرم ساز شد (۱۲). در عوض استفاده از لیراگلوتاید (ملیتاید) سبب افزایش شمار و تحرک اسپرم و کاهش نرخ اسپرم‌های غیرطبیعی شد (۱۳). بر اساس جدول ۲، استفاده از لیراگلوتاید در گروه دیابت و چاقی سبب افزایش ضخامت لایه زاینده لوله‌های اسپرم‌ساز شد (۵۵۰ در مقابل ۶۵۰ میکرومتر). در تحقیقی دیگر استفاده از GLP-1 سبب افزایش

تحرک اسپرم اپیدیدیمی و شمار اسپرم در موش صحرائی گردید (۱۴). از دیگر صدمات در بافت بیضه آسیب به سلول‌های لایدیگ است که در نتیجه آن غلظت تستوسترون کاهش می‌یابد (۱۵). لیراگلوتاید از طریق افزایش بیان mRNA برخی از ژن‌های مربوط به آنزیم‌های استروئیدساز مانند 3β-HSD and 17β-HSD غلظت تستوسترون را افزایش داد (۱۶). در این تحقیق لیراگلوتاید اثرات منفی دیابت و چاقی را در بافت بیضه مانند ضخامت و محیط لوله‌های اسپرم‌ساز را مهار و کاهش داد. اثرات ترمیمی و تحریکی لیراگلوتاید در فرآیند اسپرماتوژنز مشاهده می‌شود. استفاده از لیراگلوتاید در افراد چاق و هیپوگنادیسم سبب افزایش غلظت تستوسترون گردید (۱۷). از آنجائیکه گیرنده GLP-1 در افراد سالم روی سلول‌های لایدیگ مشاهده و تشخیص داده شد، استفاده از لیراگلوتاید از طریق افزایش تستوسترون فعالیت بیضه را به حالت عادی برگشت داد (۱۸). معمولاً در چاقی وزن بیضه‌ها کاهش می‌یابد. در این تحقیق کاهش وزن بیضه در گروه چاق و دیابتی را می‌توان به‌دلیل تحلیل یا آتروفی بافت بیضه نسبت داد. تزریق لیراگلوتاید وزن بیضه‌ها را افزایش داد. لیراگلوتاید قطر لوله‌ها را در گروه‌های چاق و دیابت افزایش داد. از آنجایی که ضخامت لایه اپیتلیوم در گروه دیابت و چاق کاهش و تزریق لیراگلوتاید ضخامت این لایه را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. بر اساس داده‌های جدول ۲ تزریق لیراگلوتاید بافت بیضه تحلیل یافته را بازسازی و تقویت نمود. به عبارتی با مصرف این ترکیب قطر و ضخامت لوله‌های اسپرم‌ساز افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد لیراگلوتاید از طریق تحریک فرایند اسپرماتوژنز ضخامت لایه زاینده و قطر لوله‌ها را افزایش داد. در این آزمایش چاقی تأثیر زیان‌باری در بافت بیضه ایجاد نمود و سبب شد قطر لومن لوله‌های اسپرم‌ساز نسبت به گروه کنترل افزایش یابد.همچنین دیابت سبب شد تا بافت بینابینی بیضه به‌شدت آسیب دیده و موجب گسسته شدن لوله‌ها ، بافت بینابینی و لایه زاینده گردد. استفاده از لیراگلوتاید سبب پیوند لوله‌ها و استحکام پارانشیم بیضه گردید.

در پژوهش حاضر غلظت CRP سرم موش‌های دیابتی و چاق تیمار شده با لیراگلوتاید در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری یافت. به نظر می‌رسد لیراگلوتاید به‌طور مستقیم با کاهش تولید سایتوکین‌ها در بافت چربی، عضله و سلول‌های تک هسته‌ای و به‌طور غیرمستقیم با افزایش حساسیت انسولینی و بهبود عملکرد اندوتلیالی موجب کاهش التهاب کبدی و سطح CRP خون گردید. با این وجود سازوکار آن در تعدیل التهاب هنوز به درستی مشخص نشده است. صفرزاده و همکاران با استفاده از تمرین‌های مقاومتی، غلظت CRP را در موش‌های صحرائی کاهش دادند (۱۹) نتایج این تحقیق حاکی از آن است که ترکیب لیراگلوتاید از طریق اصلاح و تقویت سیستم ایمنی می‌تواند اثرات شایان توجهی را در زمان دیابت و چاقی ایجاد نماید.

آلکالین فسفات شاخص تبدیل آدنوزین فسفات به آدنوزین است و وجود مقادیر زیادی از آن نشان دهنده خسارت سلولی به بافت بیضه است (۲۰). نتایج این آزمایش نشان داد که مقدار ALP شاخص آسیب سلول در گروه حیوانات چاق و دیابتی بالا است که با آزمایش ملکی‌نژاد و همکاران ۲۰۱۲ مطابقت دارد (۲۱)، در عوض در این آزمایش سطح آنزیم ALP در تیمار حیوانات تیمار شده با لیراگلوتاید (ملیتاید) کاهش یافت. در آزمایش میلانی و همکاران غلظت ALP در حیوانات مسموم با تتراکلرید سمی، برای درمان با لیراگلوتاید، کاهش یافت (۲۲).

از دیگر ویژگی‌های لیراگلوتاید کاهش رادیکال‌های آزاد است. لیراگلوتاید غلظت گلوتاتیون‌پراکسیداز و مالون‌دی‌آلدئید را در موش صحرائی به‌ترتیب افزایش و کاهش داد (۲۳). گونه‌های فعال اکسیژن خودخوری (اتوفاژی) را القاء نموده و این رخداد جهت کاهش آسیب اکسیداتیو است (۲۴). در شرایط چاقی و یا دیابت به‌دلیل افزایش گونه‌های فعال خودخوری سلول افزایش و برخی از بافت حذف می‌شود. در این آزمایش کاهش ضخامت لایه زاینده در لوله‌های اسپرم‌ساز در تیمارهای چاق و دیابت را می‌توان با فرایند اتوفاژی در بیضه توجیه نمود. وجود ترکیبات التهابی و سمی در بدن از راه‌های مختلفی سبب آتروفی می‌شوند و عامل تنظیم‌کننده آتروفی فسفواینوزیتید۳کیناز (PI3K)، پروتئین‌کینازB (AKT) و mTOR (Mammalian target of rapomycin) است. همچنین کنترل آتوفاژی توسط فاکتور P53 انجام می‌شود.

بیماری‌های متابولیکی مانند دیابت از طریق فسفواینوزیتید ۳ کیناز (PI3K) و پروتئین کیناز B (AKT) بیضه‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۵). از آنجائی‌که لیراگلوتاید برای درمان دیابت و افراد چاق مطرح و مورد استفاده قرار می‌گیرد این دارو روی بافت بیضه تأثیر و ترشح هورمون‌های جنسی را تحریک می‌کند (۱۰). مکانیسم اثر آن به گونه‌ای است که با افزایش غلظت LH، FSH، و تستوسترون، فعالیت تولید مثلی افزایش می‌یابد (۱۷). همچنین لیراگلوتاید دارای ویژگی آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌آپوپتیک و نوروپروتکتیک (محافظ سلول عصبی) از طریق مسیر PI3K/AKT/mTOR و آتروفی را دارد (۹) (۲۶). بنابراین مهار یا بلوکه شدن مسیر PI3K/AKT/mTOR به عنوان راهی برای درمان دیابت است (۲۷). چاقی و دیابت سبب افزایش تری‌گلیسرید و کلسترول خون شد و با تزریق لیراگلوتاید در کاهش غلظت این دو فراسنجه در خون تأثیر معنی‌داری ایجاد شد. به نظر می‌رسد لیراگلوتاید از این طریق می‌تواند چاقی ناشی از افزایش پروفایل چربی خون را به‌خصوص در افراد چاق کاهش دهد. یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد که لیراگلوتاید به‌طور متفاوت در موش دیابتی و چاق اثرگذار است. به نظر می‌رسد با توجه به کاهش پروتئین‌های واکنشی C (CRP) و آلکالین فسفاتاز در موش‌های دیابتی و چاق در زمان تزریق لیراگلوتاید، این دارو کاندید مناسبی برای کاهش عوارض ناشی از افزایش قند خون و التهاب ناشی از دیابت و چاقی است. همچنین ممکن است استفاده از این ترکیب، بتواند در پاسخ به بهبود سوخت و ساز گلوکز و استرس اکسایشی تعدیل ایجاد نماید.

نتیجه‌گیری

با توجه به کاهش غلظت CRP در هر دو گروه چاق و دیابتی نسبت به گروه کنترل، می‌توان تأثیر بالقوه لیراگلوتاید را در تعدیل التهاب ناشی از دیابت و چاقی عنوان نمود. از طرفی بر اساس مطالعات بافتی، صدمات ایجاد شده در لوله‌ها و بافت آن‌ها در دیابت بیشتر از چاقی بود؛ بنابراین به منظور روشن‌تر شدن سازوکارهای ملکولی و نقش این ترکیب در افزایش حساسیت انسولینی و ارتباط آن با تغییرات سطح شاخص‌های التهابی به پژوهش‌های بیشتری نیاز است.

تقدیر و تشکّر

مقاله حاضر مستخرج از طرح تحقیقاتی داخل دانشگاهی با عنوان اثر لیراگلوتاید (Liraglutide) روی ویژگی‌های تولیدمثلی و فراسنجه‌های خونی در موش‌های سوری نر چاق متعاقب دیابت تجربی می‌باشد. لازم است از کلیه همکاران در این خصوص تقدیر و تشکر نمائیم.

ملاحظات اخلاقی

این طرح پس از تصویب در پژوهش دانشگاه و کمیته اخلاق و اخذ کد از دانشگاه علوم پزشکی لرستان با شناسه IR.LUMS.REC.1403.125 انجام شد.

حمایت مالی

نویسندگان اعلام می‌دارند این طرح مصوب در معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان بوده و از هر گونه حمایت فردی یا سازمانی برای تأمین مالی مستثنی است.

مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان در مراحل مختلف شامل ایده‌پردازی، انجام پژوهش، نگارش و ویرایش مقاله همکاری لازم را داشته¬اند.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

منابع:

1- Jalaba S, Trudeau H, Carlson S. Obesity Prevention. Physician Assistant Clinics. 2022; 7(1): 43-58. DOI: 10.1016/j.cpha.2021.07.004.

2- Leech CA, Dzhura I, Chepurny OG, Kang G, Schwede F, Genieser H-G, et al. Molecular physiology of glucagon-like peptide-1insulin secretagogue action in pancreatic β cells. Prog. Biophys Mol Biol. 2011; 107(2): 236-47. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2011.07.005.

3- Lim AK. Diabetic nephropathy–complications and treatment. Int J Nephrol Renovasc Dis. 2014; 7: 361-81. DOI: 10.2147/IJNRD.S40172.

4- Khavarimehr M, Nejati V, Razi M, Najafi Gh. Ameliorative effect of omega-3 on spermatogenesis, testicular antioxidant status and preimplantation embryo development in streptozotocin-induced diabetes in rats. Int Urol Nephrol. 2017; 49(9): 1545-60. DOI: 10.1007/s11255-017-1636-5.

5- Glazer CH, Bonde JP, Giwercman A, Vassard D, Pinborg A, Schmidt L, et al. Risk of diabetes according to male factor infertility: a register-based cohort study. Hum Reprod. 2017; 32(7): 1474-81. DOI: 10.1093/humrep/dex097.

6- Eftekhari S, Montazeri H, Tarighi PJEJoP. Synergistic anti-tumor effects of Liraglutide, a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, along with Docetaxel on LNCaP prostate cancer cell line. Eur J Pharmacol. 2020; 878: 173102. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173102.

7- Khalily R, Hasanzadeh S, Shalizar Jalali A, Shahrooze R, Nagafi G, Imani M. The Effects of Liraglutide on In Vitro Fertilization in Mice Following Experimental Diabetes. Qom Univ Med Sci J 2020; 14 (1): 51-60 URL: http://journal.muq.ac.ir/article-1-2619-en.html DOI: 10.29252/qums.14.1.51 [Persian].

8- Puyamanesh zahra YP, Ebrahin Habibi Azadeh, Mohammad Amoli Azadeh. Biochemical Effects of Fructose Diet on Obesity in Adult Male NMRI Mice. Food technology and nutrition. 2016; 13(1): 47-54. URL: https://sanad.iau.ir/Journal/jftn/Article/832520 [Persian].

9- Deng C, Cao J, Han J, Li J, Li Z, Shi N, et al. Liraglutide activates the Nrf2/HO-1 antioxidant pathway and protects brain nerve cells against cerebral ischemia in diabetic rats. Comput Intell Neurosci. 2018; 2018: 3094504. DOI: 10.1155/2018/3094504.

10- Kabel AMJB, Pharmacotherapy. Zinc/alogliptin combination attenuates testicular toxicity induced by doxorubicin in rats: Role of oxidative stress, apoptosis and TGF-β١/NF-κB signaling. Biomed Pharmacother. 2018; 97: 439-49. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.10.144.

11- Vargas-Soria M, Carranza-Naval MJ, Del Marco A, Garcia-Alloza MJAsr, therapy. Role of liraglutide in Alzheimer's disease pathology. Alzheimer's Res Ther. 2021; 13(1): 112. DOI: 10.1186/s13195-021-00853-0

12- Yang C-C, Chen Y-T, Chen C-H, Chiang JY, Zhen Y-Y, Yip H-KJAJoTR. Assessment of doxorubicin-induced mouse testicular damage by the novel second-harmonic generation microscopy.Am J Transl Res. 2017; 9(12): 5275-88. URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29312482. PMCID: PMC5752880

13- Alafifi SA, Wahdan SA, Elhemiely AA, Elsherbiny DA, Azab SSJN-SsAoP. Modulatory effect of liraglutide on doxorubicin-induced testicular toxicity and behavioral abnormalities in rats: role of testicular-brain axis. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol. 2023; 396(11): 2987-3005. DOI: 10.1007/s00210-023-02504-7

14- Hany A, Doaa A, ATTIA M, Mohammed A. Effect of glucagon like peptide-1 on serum kisspeptin level in adult male albino rats treated by anabolic androgenic steroid. Med J Cairo Univ. 2018; 86(June): 1431-45. DOI: 10.21608/MJCU.2018.56345.

15- Ateşşahin A, Karahan İ, Yılmaz S, Çeribaşı AO, Bulmuş ÖJF, sterility. Lycopene prevents adriamycin-induced testicular toxicity in rats. Fertil Steril; 2006: 85 Suppl 1: 1216-22. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2005.11.035

16- Prahalathan C, Selvakumar E, Varalakshmi PJRT. Lipoic acid modulates adriamycin-induced testicular toxicity. Reprod Toxicol. 2006; 21(1): 54-9. DOI: 10.1016/j.reprotox.2005.07.002.

17- Jensterle M, Podbregar A, Goricar K, Gregoric N, Janez AJEc. Effects of liraglutide on obesity-associated functional hypogonadism in men. Endocr Connect. 2019; 8(3): 195-202. DOI: 10.1530/EC-18-0514

18- Caltabiano R, Condorelli D, Panza S, Boitani C, Musso N, Ježek D, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor is expressed in human and rodent testis. Androl. 2020; 8(6): 1935-45. DOI: 10.1111/andr.12871.

19- Safrazadeh A, Ghrakhanloo R, Hedayati M, Talebigorgani E. The Effect of 4 Weeks Resistance Training on Serum Vaspin, Il-6, CRP and TNF-A Concentrations in Diabetic Rats. Iranian J Endocrinol Metab. 2012; 14(1): 68-74. URL: http://ijem.sbmu.ac.ir/article-1-1244-en.html. [Persian].

20- Ahmed ZA, Abtar AN, Othman HH, Aziz TA. Effects of quercetin, sitagliptin alone or in combination in testicular toxicity induced by doxorubicin in rats. Drug Des Devel Ther. 2019; 20: 13: 3321-29. DOI: 10.2147/DDDT.S222127.

21- Malekinejad H, Janbaz-Acyabar H, Razi M, Varasteh SJP. Preventive and protective effects of silymarin on doxorubicin-induced testicular damages correlate with changes in c-myc gene expression. Phytomedicine. 2012; 19(12): 1077-84. DOI: 10.1016/j.phymed.2012.06.011.

22- Milani L, Galindo CM, de Oliveira NMT, Corso CR, Adami ER, Stipp MC, et al. The GLP-1 analog liraglutide attenuates acute liver injury in mice. Ann Hepatol. 2019; 18(6): 918-28. DOI: 10.1016/j.aohep.2019.04.011.

23- Degirmentepe RB, Altunrende F, Bozkurt M, Merder E, Otunctemur A, Sonmez K, et al. Protective effect of liraglutide on experimental testicular ischaemia reperfusion in rats. Andrologia. 2021; 53(4): e14000. DOI: 10.1111/and.14000

24- Tian Y, Song W, Xu D, Chen X, Li X, Zhao Y, et al. Autophagy induced by ROS aggravates testis oxidative damage in diabetes via breaking the feedforward loop linking p62 and Nrf2. Oxid Med Cell Longev. 2020; 18: 2020: 7156579. DOI: 10.1155/2020/7156579.

25- Long L, Qiu H, Cai B, Chen N, Lu X, Zheng S, et al. Hyperglycemia induced testicular damage in type 2 diabetes mellitus rats exhibiting microcirculation impairments associated with vascular endothelial growth factor decreased via PI3K/Akt pathway. Oncotarget. 2018; 9(4): 5321-36. DOI: 10.18632/oncotarget.23915.

26- Abbas NA, Kabil SL. Liraglutide ameliorates cardiotoxicity induced by doxorubicin in rats through the Akt/GSK-3β signaling pathway. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2017; 390(11): 1145-53. DOI: 10.1007/s00210-017-1414-z.

27- Zhang Y, Yan H, Xu Z, Yang B, Luo P, He Q, et al. Molecular basis for class side effects associated with PI3K/AKT/mTOR pathway inhibitors. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2019; 15(9): 767-74. DOI: 10.1080/17425255.2019.1663169.