بررسی اثر رالوکسیفن بر هورمون های محور هیپوفیز-تخمدان در موش های صحرایی ماده بالغ

زهرا عبادی[۱]، وحید حمایت خواه جهرمی[۱*]، محسن فروزان فر[۲]

۱) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم

۲) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرودشت

تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۳

چکیده

مقدمه: رالوکسیفن به عنوان یک تنظیم کننده غیر استروئیدی انتخابی گیرنده استروژن می باشد، که دارای اثرات شبه استروژنی است. هدف از این تحقیق بررسی اثر تجویز داخل صفاقی دوزهای مختلف رالوکسیفن بر مقدار هورمون های LH، FSH، استروژن و پروژسترون در موش های صحرایی ماده بالغ بوده است.

مواد و روش ها: ۴۰ سر موش صحرایی ماده از نژاد ویستار با وزن ۲۰±۱۸۰ گرم و سن ۱۲۰-۱۰۰ روزه انتخاب و به گروه های کنترل، شاهد، تجربی ۱، ۲ و ۳ تقسیم شدند. به گروه تجربی ۱، ۲ و ۳ به ترتیب دوزهای ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن رالوکسیفن حل شده در آب مقطر به مدت ۴ هفته تزریق شد. گروه کنترل دارویی دریافت نکرد و به گروه شاهد آب مقطر تزریق شد. تمام تزریقات به صورت درون صفاقی انجام شد. پس از خون‌گیری، جهت بررسی میزان هورمون های FSH، LH، استروژن و پروژسترون روش ایمونواسی استفاده شد.

یافته های پژوهش: نتایج مربوط به هورمون های LH و FSH در گروه های تجربی ۲ و ۳ کاهش معنی داری را نسبت به گروه های کنترل و شاهد نشان داد.($P<0.05$) نتایج مربوط به هورمون استروژن در گروه های تجربی تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل و شاهد نداشت و هورمون پروژسترون در گروه تجربی ۳ کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان داد ولی نسبت به گروه شاهد تفاوت معنی داری نداشت.($P<0.05$)

بحث و نتیجه گیری: نتایج نشان داد رالوکسیفن می تواند بر روی محور هورمونی هیپوفیز-گناد اثر کند و دارای یک فعالیت شبه استروژنی بر ترشح گنادوتروپین ها در موش های صحرایی ماده بالغ می باشد.

واژه های کلیدی: رالوکسیفن، LH، FSH، استروژن، پروژسترون

* **نویسنده مسئول**: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم

Email: Dr.hemayatkhah@yahoo.com

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-04]

مقدمه

رالوکسیفن به عنوان یک تنظیم کننده غیر استروئیدی انتخابی گیرنده استروژن برای کمک به بهبود بیماری های شایع در زنان یائسه تولید شده است،(۱). این دارو ساختار بنزوتیوفن دارد و از آن جایی که این دارو بر روی هورمون جنسی ماده موثر است فقط برای زنان تجویز می شود،(۲)، فرمول شیمیایی آن به صورت کلی به شکل $C_{28}H_{27}NO_4S.HCL$ و وزن مولکولی خالص آن ۵۱۰/۰۵ می باشد. رالوکسیفن از گروه داروهای SERM(تعدیل کننده های انتخابی گیرنده استروژن) می باشد که تقریباً دو دهه پیش کشف شده است.(۳)

این دارو در برخی از بافت ها دارای اثرهای مشابه استروژن و در دیگر بافت ها دارای اثرهای مخالف اثر استروژن می باشد،(۴). تحقیقات نشان می دهد این دارو در درمان سرطان سینه در زنان یائسه مفید می باشد و اثرات منفی استروژن را بر روی سینه و رحم بر جا نمی گذارد،(۴). رالوکسیفن در درمان سرطان های پاسخ دهنده به هورمون تجویز می شود و به عنوان آنتاگونیست از فعال شدن گیرنده استروژن جلوگیری می کند،(۵). در گذشته بیان شده است که رالوکسیفن خانم ها را از ابتلا به سرطان سینه در حداقل سه سال اول شروع درمان محافظت می کند،(۵). محققان دریافته اندکه رالوکسیفن نه تنها رشد سلول های سرطانی آندومتر را در محیط آزمایشگاهی متوقف نمی کند بلکه غلظت های بالای آن باعث رشد و تکثیر این سلول ها نیز می شود،(۶). رالوکسفین در زنانی که به سرطان تخمدان مبتلا هستند نباید استفاده شود و درمان با رالوکسیفن در زنان یائسه افزایشی در اندازه تخمدان ایجاد نمی کند،(۷). تاثیر رالوکسیفن در کاهش احتمال ابتلا به سرطان سینه در زنان همانند تاموکسیفن است اما یک اثر عکس مربوط به تاموکسیفن ایجاد سرطان تخمدان می باشد در حالی که در مصرف رالوکسیفن سرطان تخمدان کمتر می باشد،(۸). این دارو باعث کاهش مقدار LH و FSH در پلاسما می شود و یک عمل شبه استروژنی در ترشح LH دارد،(۹). مطالعات نشان می دهد رالوکسیفن یک عمل شبه استروژنی دارد و یا آگونیست استروژن به شمار می رود،(۹). در مورد فعالیت استروژنی یا ضد استروژنی رالوکسیفن بر ترشح هورمون - های جنسی نتایج متناقضی وجود دارد. با توجه به این اثرات و مصرف بالای رالوکسیفن در درمان بیماری ها هدف از انجام این تحقیق بررسی اثرات این دارو بر غلظت هورمون های LH، FSH، استروژن و پروژسترون در موش صحرایی ماده بالغ بوده است.

مواد و روش ها

این یک مطالعه تجربی است و در آن کلیه اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است. در این تحقیق از ۴۰ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد ویستار به وزن تقریبی ۲۰±۱۸۰ گرم، تهیه شده از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم استفاده شد و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. برای تغذیه موش ها از غذای استاندارد فشرده شده(Pellet) استفاده گردید. حیوانات به ۵ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل که دارویی مصرف نکرد. گروه شاهد آب مقطر دریافت کردند. گروه های تجربی ۲،۱ و ۳ که ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم رالوکسیفن حل شده در آب مقطر دریافت کردند. با توجه به این که در این تحقیق، دوز کشنده رالوکسیفن(LD_{50}) ۲۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم تعیین گردید، بنا بر این از دوزهای زیر کشنده یعنی ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم استفاده شد. رالوکسیفن از شرکت داروسازی اسوه تهیه گردید. بعد از پایان دوره آزمایش، حیوانات به وسیله ترازوی دیجیتالی سافت ژاپن با دقت ۰/۰۱ توزین و با اتر بی هوش شدند. سپس به وسیله سرنگ ۵ سی سی از قلب حیوان به طور مستقیم خون گیری و پس از سانتریفیوژ شدن به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور، سرم خون جدا و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. غلظت هورمون های FSH، LH، استروژن و پروژسترون به روش الایزا توسط کیت های مخصوص ساخت شرکت پیشتاز طب ایران اندازه گیری شد.

نتایج به کمک نرم افزار SPSS vol.18 و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه(ANOVA) و تست آماری دانکن مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میانگین و انحراف معیار داده ها محاسبه شدند و ($P<0.05$) به عنوان سطح معنی دار آماری در نظر گرفته شد.

یافته های پژوهش

نتایج حاصل از وزن بدن نشان داد که اختلاف معنی داری بین گروه های تجربی، شاهد و کنترل وجود ندارد. نتایج حاصل از اندازه گیری هورمون های FSH و LH در گروه های تجربی ۲ و ۳ کاهش معنی داری را نسبت به گروه کنترل و شاهد نشان داد. هم چنین گروه های تجربی ۲ و ۳ نیز کاهش معنی داری نسبت به گروه تجربی ۱ نشان دادند. نتایج حاصل از اندازه گیری هورمون استروژن در گروه های تجربی تفاوت معنی داری نسبت به گروه کنترل

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-04]

و شاهد نداشت، گروه های تجربی ۲ و ۳ کاهش معنی داری نسبت به گروه تجربی ۱ نشان دادند. نتایج حاصل از اندازه گیری هورمون پروژسترون در گروه تجربی ۳ کاهش معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد ولی تفاوت معنی داری نسبت به گروه شاهد نداشت هم چنین گروه تجربی ۳ کاهش معنی داری نسبت به گروه تجربی ۱ نشان داد ولی گروه تجربی ۲ تفاوت معنی داری نسبت به گروه تجربی ۱ و ۳ نداشت.(جدول شماره ۱)

با افزایش میزان دارو اثرات آن بیشتر خود را نشان می دهند به طوری که گروه تجربی ۱ میزان کمتری دارو دریافت کرد ولی با گروه کنترل تفاوت معنی داری نداشت.

جدول شماره ۱. مقایسه میانگین هورمون ها و وزن بدن در گروه های تجربی

پارامتر	کنترل	شاهد	تجربی ۱	تجربی ۲	تجربی ۳
هورمون **FSH**	۷/۱۷ ±۰/۴۶	۶/۴۶ ±۰/۴۲	۶/۵ ±.۰/۷	۴/۳۳ ±.۰/۱۹	۴/۵±۰/۳۳
IU/L	**b**	**b**	**b**	**a**	**a**
هورمون **LH**	۵/۹ ±۰/۶۲	۵/۹۳ ±۰/۵۴	۶/۲۷ ±۰/۳۵	۳/۴۸ ±۰/۲۲	۲/۹۹ ±.۰/۲۱
IU/L	**b**	**b**	**b**	**a**	**a**
استروژن	۳۹۸±۱۸/۲	۳۹۰±۱۳/۲	۴۵۰±۳۱/۰۵	۳۶۰±۱۸/۵	۳۵۳±۱۷/۳
Pg/ml	**ab**	**ab**	**b**	**a**	**a**
پروژسترون	۱/۷۱ ±۰/۷	۱/۵۱ ±۰/۶	۲/۰۳ ±۰/۲	۰/۹۳±۰/۰۲	۰/۳۳ ± ۰/۰۳
Ng/ml	**b**	**ab**	**b**	**ab**	**a**
وزن بدن (گرم)	۱۵/۸ ± ۱۰/۶	۱۵/۲±۱۰/۳	۱۶/۰۱± ۱۱/۱	۱۵/۵ ±۱۰/۲	۱۵/۶ ± ۹/۸
	a	**a**	**a**	**a**	**a**

طبق روش دانکن در هر گروه اگر حداقل یک حرف مشترک وجود داشته باشد بین آن گروه ها تفاوت معنی - داری وجود ندارد. حروف متفاوت بر حسب ستون بیانگر معنی داری در سطح($P<0.05$) می باشد.

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از وزن بدن نشان داد که اختلاف معنی داری بین گروه های تجربی، شاهد و کنترل وجود ندارد، هم چنین نتایج حاصل از اندازه گیری هورمون های FSH و LH در گروه های تجربی ۲ و ۳ کاهش معنی داری را نسبت به گروه کنترل و شاهد نشان داد، نتایج حاصل از اندازه گیری هورمون استروژن در گروه های تجربی تفاوت معنی داری نسبت به گروه کنترل و شاهد نداشت و نتایج حاصل از اندازه گیری هورمون پروژسترون در گروه تجربی ۳ کاهش معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد ولی تفاوت معنی داری نسبت به گروه شاهد نداشت.

رالوکسیفن با اتصال به گیرنده های استروژنی اندام های مختلف نقش دوگانه ای را بازی می کند که با توجه به اثر آگونیستی یا آنتاگونیستی روی بافت خاص در بیماری های مختلف مورد استفاده قرار می گیرد،(۱۰). هورمون های هیپوتالاموس به صورت ضربانی آزاد می شوند و هر یک از سلول های هدف قسمت قدامی هیپوفیز در برابر تجویز ضربانی این هورمون ها پاسخ بهتری نسبت به حالت برخورد مداوم با آن ها می دهند. آزاد سازی LH و FSH توسط غلظت یک هورمون آزادکننده یعنی GnRH کنترل می شود. غلظت این هورمون به نوبه خود عمدتاً به صورت تابعی از مقدار هورمون های گنادی موجود در گردش خون که به هیپوتالاموس می رسند تنظیم می شود. ترشح GnRH از هیپوتالاموس و اتصال آن به گیرنده های هیپوفیزی باعث تولید LH و FSH می شود بنا بر این ترشح گنادوتروپین ها تحت تاثیر عوامل موثر در ترشح GnRH تغییر می کند.(۱۱)

بر اساس تحقیقات انجام شده بیان شده است که رالوکسیفن باعث کاهش حجم هیپوفیز و کاهش مقدار LH و FSH در پلاسما می شود،(۱۲)، و هم چنین قادر است باعث کاهش در بیان mRNA مربوط به GnRH در هیپوتالاموس شود و باعث کاهش در تعداد گیرنده های GnRH در هیپوفیز شود و کاهش بیان GnRH هیپوتالاموس، خود می تواند باعث کاهش در ترشح LH و FSH شود،(۱۳). هم چنین بیان شد که این دارو یک عمل شبه استروژنی در ترشح LH دارد و به گیرنده های استروژنی متصل می شود و باعث کاهش در ترشح LH می شود،(۱۴). با تزریق این دارو بر روی موش های ماده بیان شد رالوکسیفن باعث افزایش ترشح LH می شود،(۱۵)، که با نتیجه تحقیق حاضر متناقض است. در تحقیق حاضر

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-04]

میزان هورمون های LH و FSH در گروه های تجربی ۲ و ۳ کاهش یافته است. علت این کاهش می تواند اثر رالوکسیفن بر GnRH باشد که با کاهش آن میزان هورمون های LH و FSH نیز کاهش می یابد.

تحقیقات نشان می دهد رالوکسیفن به عنوان یک آگونیست استروژن در دستگاه عصبی مرکزی به شمار می رود،(۱۶). غلظت FSH در خون قبل از تخمک گذاری ابتدا افزایش می یابد و سبب رشد فولیکول های تخمدان و نیز افزایش ترشح استروژن از آن ها می گردد. هورمون پروژسترون نیز تحت تاثیر هورمون های FSH و LH از جسم زرد و سلول های گرانولوزا و تکا ترشح می شود. تجویز دوزهای بالای استروژن آزادسازی LH و FSH و عمل GnRH و غده هیپوفیز را مهار می کند و استروژن و پروژسترون نیز در پاسخ به دو هورمون جنسی زنانه از هیپوفیز قدامی ترشح می شوند.(۱۱)

بر اساس مطالعات انجام شده بیان شد که این دارو باعث کاهش ترشح GnRH و در نتیجه کاهش ترشح گنادوتروپین ها می شود،(۱۷)، که این هورمون ها بر بافت تخمدان اثر گذاشته و باعث ترشح هورمون های استروژن و پروژسترون می شوند. تحقیقات نشان داده است که رالوکسیفن یک عمل شبه استروژنی بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد دارد و یک آگونیست استروژن به شمار می رود،(۱۸). اگر رالوکسیفن به عنوان یک آگونیست استروژن بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد در نظر گرفته شود پس می تواند در طول دوره بیشتری باعث کاهش بیشتر در سطح معنی داری بر مقدار استروژن شود. بر اساس نتایج به دست آمده رالوکسیفن باعث کاهش در سطح هورمون های LH و FSH و به میزان کمتری کاهش در مقدار هورمون های استروژن و پروژسترون می شود. بر اساس این اطلاعات می توان این گونه بیان کرد که رالوکسیفن می تواند بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد اثر گذاشته و با کاهش GnRH مقدار هورمون های گنادوتروپ را نیز کاهش دهد و می توان یک فعالیت استروژنی از رالوکسیفن بر ترشح گنادوتروپ ها در موش های ماده انتظار داشت.

سپاسگزاری

یافته های پژوهش حاضر بر اساس پایان نامه کارشناسی ارشد خانم زهرا عبادی دانشجوی رشته علوم جانوری گرایش تکوینی ارائه گردیده است. به این وسیله از زحمات تمام عزیزانی که در اجرای این طرح همکاری صمیمانه ای داشته اند تقدیر و سپاسگزاری می شود.

References

1-Helga H. Raloxifene for older women: a review of the literature. Clin Intervent Aging 2008;3:45-50.

2-Victor GV, Joseph PC, Walter M. Effects of tamoxifenevsraloxifene on the risk of developing invasive breast cancer and other disease outcomes. J Am Med Assoc 2006; 295:2727-41.

3-Herzi M. [Effects of raloxifene on kidney mice newborns]. J Islam Azad Uni Jahrom 2010;2:15-9. (Persian)

4-Eng WJ, Reynolds JC, Venzon D, Liewehr D. Effect of raloxifene on bone mineral density in premenopausal women at increased risk of breast cancer. J Clin Endocrinol Metab 2006;91: 3941-6.

5-Barret E, Mosca L, Collins P. Effect of raloxifene on cardiovascular avants and breast cancer in postmenopausal Women. N Eng J Med 2006;355:125-37.

6-Hibner M,Magrina JF, Lefler SR, Cornella JL, Pizarro AR, Loftus JC. Effect of raloxifene hydrochloride on endometrial cancer cells in vitro. Gynecol Oncol 2004; 93: 642-6.

7-Patrick N, Steven RG, Angelina VC, Lifen Z. The effect of raloxifene on the incidence of ovarian cancer in postmenopausal women. Gynecol Oncol 2002;85:388-90.

8-8-Angela DM, Andrea BT, Jesse AB, Anita LW. Impact of raloxifen or tamoxifene use on end matrial cancer risk:A Population- based case-control study. J Clin Oncol 2008;26:4151-9.

9-Pinilla L, Gonzalez Lc, Tena-Sempere ME, Aguilar E. Evidence for an estrogen-like action of raloxifene upon

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-04]

the hypothalamic-pituitary unit: raloxifene inhibits luteinizing hormone secretion and stimulates prolactin secretion in ovariectomized female rats. Neurosci Lett 2001;311:149-52.
10-Delmas PD, Bjarnason NH, Mitalk BH, Ravoux AC, Shah AS, Huster WJ, et al. Effects of raloxifene on bone mineral density,serum cholesterol concentration and uterine endometrium in postmenopausal women. N Eng J Med 1997; 337:1641-7.
11-Guyton A, Hall J. Medical physiology.11th ed. Tehran: Andisheh; 2006.
12-Tena-Sempere M, Barreiro M L, Aguilar E, Pinilla L. Mechanisms for altered reproductive function in female rats following neonatal administration of raloxifene. Eu J Endocrinol 2004; 150: 397-403.
13-Thomas JB, Susan FJ, Deborah MS, Darlene C. Effect of estrogen agonists and antagonists on induction of progesterone receptor in a rat hypothalamic cell line. Endocrinology 1999; 140: 3928-37.
14-Pinilla L, González LC, Gaytán F, Tena-Sempere M, Aguilar E. Estrogenic effects of neonatal administration of raloxifene on hypothalamic–pituitary–gonadal axis in male and female rats. Reproduction 2001; 121:915-24.
15-Sánchez C, Martín D, Bellido C, Aguilar A. Gonadotropeoestrogen receptor and progesterone receptor immuneoreactivity after ovariectomy and exposure to estradiol benzoate, tamoxifen or raloxifene in the rat: correlation with LH secretion. J Endocrinol 2005; 184:59-68.
16-Long GG, Cohen IR, Gries CL, Young JK, Francis PC, Capen CC. Proliferative lesions of ovarian granulosa cells and reversible hormonal changes induced in rats by a selective estrogen receptor modulator. Toxicol Pathol 2001;29: 719-26.
17-Cheng WC, Yen ML, Hus SH, Chen KH, Tsai KS. Effects of raloxifene, one of the selective estrogen receptor modulators, on pituitary–ovary axis and prolactin in postmenopausal women. Endocrine 2004;23:215-8.
18-Pinilla L, Barreiro M, Gonzalez LC, Tena-Sempere M, Aguilar E. Comparative effects of testosterone propionate, oestradiol benzoate, ICI 182,780, tamoxifen and raloxifene on hypothalamic differentiation in the female rat. J Endocrinol 2002; 172:441-8.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-04]

Effects of Raloxifene on Pituitary-Ovary Axis Hormones in Adult Female Rats

Ebadi Z[1], Hemayatkhah-Jahromi V[1], Foroozanfar M[2]*

Recived: May 21, 2013 Accepted: 25August, 2013

Abstract

Introduction: Raloxifene is a selective non-steroid modulator of estrogen receptor which-h has beneficial agonistic effects. The aim of this study was to evaluate the effect of intraperitoneal administration of raloxifene on LH, FSH, estrogen and progesterone hormones in rats.

Materials and Methods: In this study, forty mature female rats (Wistar race) weighting 180-200 g and aged 120-130 days were provided and divided into 5groups including control, sham and experimental 1, 2 and 3 groups. The experimental groups 1, 2 and 3 received 30, 60, 120 mg/kg body weight of raloxifene in distilled water, respectively for 4 weeks and the control group did not receive any drug and sham group received only distilled water. Injections were done intraperitoneally. After blood sampling, the levels of FSH, LH, estrogen and progesterone hormones were measured using immunoassay method.

Findings: The levels of LH and FSH hormones in experimental groups 2 and 3 indicated significant decrease as compared to control group ($P < 0.05$). The levels of estrogen hormone in the experimental groups had no significant difference compared to control and sham groups. Progesterone level in the experimental group 3 indicated significant decrease as compared to control group but did not demonstrate significant difference compared to the sham group ($P<0.05$).

Discussion & Conclusion: The results indicated that raloxifene can affect the hormonal function of the pituitary-gonadal axis and have an esterogen-like activity on the secretion of gonadotropin hormones in adult female rats.

Keyword: Raloxifene, LH, FSH, estrogen, progesterone

1. Dept of Biology, Faculty of Sciences, Jahrom Branch, Islamic Azad Univercity, Jahrom, Iran
2.Department of Biology, Faculty of Sciences, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran
** (Corresponding author)*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-04]