

ملاتونین و مطالعه اثر آن بر زخم معده ناشی از اتانول در موش صحرائی

دکتر مرتضی شمینی، دکتر احمد رضا دهپور، دکتر هلیا بحرینی
گروه فارماکولوژی دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی تهران

خلاصه

ملاتونین هورمونی است که در غده اپی فیز و در بعضی بافت‌های دیگر از جمله در دستگاه گوارش نیز از سروتونین سنتز می‌شود و عقیده بر این است که مسؤول تنظیم سیکل خواب - بیداری می‌باشد. آزاد شدن آن با تاریکی منطبق است و از حدود 9PM و شروع شده و تا حدود 4AM طول می‌کشد و آزاد شدن آن با نور روز متوقف می‌شود. ملاتونین برای اعمال دیگری از جمله جلوگیری از باروری، حفاظت در برابر اکسید کننده‌های آندوژن و جلوگیری از پیری و درمان افسردگی و عفونت HIV و انواع سرطان مورد مطالعه قرار گرفته است که در این مطالعه اثر محافظتی آن در برابر رادیکال‌های آزاد که در ایجاد زخم معده دخالت دارند مورد بررسی قرار گرفته است. از عوامل مهم و شناخته شده دفاعی در مخاط دستگاه گوارش می‌توان به موکوس (ماده مخاطی گلیکوپروتئینی)، بی‌کربنات، جریان خون مخاط دستگاه گوارش، پروستاگلاندین‌ها و نیتریک اکساید اشاره نمود که بعضی از این عوامل خاصیت جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد را دارند. رادیکال‌های آزاد الکترون جفت نشده دارند و چون تمایل به گرفتن الکترون برای جفت کردن الکترون‌های خود دارند اکسید کننده می‌باشند. رادیکال‌های آزاد به پروتئین‌ها، لیپیدها و DNA حمله‌ور شده و به آن‌ها آسیب می‌زنند. از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به رادیکال‌های آزاد سوپراکسید (O_2^-) و رادیکال آزاد هیدروکسیل (OH) اشاره نمود. از مواد ضد رادیکال آزاد بدن می‌توان به ویتامین E، ویتامین C، ملاتونین، سلنیوم، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز اشاره نمود که به‌عنوان مثال سوپراکسید دیسموتاز به‌طور مداوم باعث تخریب سوپراکسید و تبدیل آن به هیدروژن پراکسید شده و به این ترتیب سلول‌ها را در مقابل غلظت بالا و خطرناک سوپراکسید محافظت می‌کند.

در این مطالعه برای ایجاد زخم معده از اتانول به‌عنوان یک ماده شیمیایی ایجاد کننده زخم تجربی استفاده شده که از طریق تولید رادیکال آزاد به مخاط آسیب می‌زند. زخم‌های ایجاد شده در این مطالعه بروش ماکروسکوپی شمارش و با امتداد Score (اندازه‌گیری شدند. تزریق داخل صفاقی ملاتونین به‌صورت وابسته به دوز زخم‌های ایجاد شده توسط اتانول را کاهش داد. NAME - اکه یک مهارکننده غیرانتخابی سنتز نیتریک اکساید است زخم معده ناشی از اتانول را تشدید کرد در حالی که پیش مداوای حیوانات با ملاتونین باعث کاهش زخم معده در مقایسه با حیوانات مداوا شده با NAME - ا و اتانول گردید. نتیجه‌گیری می‌شود که ملاتونین احتمالاً از طریق افزایش سنتز نیتریک اکساید اثر حفاظتی روی غشاء مخاط معده ایجاد می‌کند.

مقدمه

با توجه به این که رادیکال‌های آزاد در ایجاد زخم‌های گوارشی دخالت دارند تحقیقات برای یافتن ترکیبی که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کرده و اثر ضد زخم داشته باشد ادامه دارد. در این مطالعه اثر ملاتونین روی زخم معده ناشی از اتانول در موش صحرایی مورد مطالعه قرار گرفته است. اتانول تولیدکننده رادیکال اکسیژنی به‌ویژه رادیکال هیدروکسیل است و از این راه به غشاء مخاطی آسیب می‌زند. ملاتونین از راه خوراکی بهره‌دهی بیولوژیک ۴۰ تا ۷۰ درصد داشته و پس از یک دوز ۸۰ میلی‌گرمی آن از راه خوراکی در انسان، حداکثر غلظت پلاسمایی در عرض ۶۰ تا ۱۵۰ دقیقه ایجاد می‌شود. ملاتونین در کبد عمدتاً از طریق هیدروکسیله شدن و کاندوگه شدن متابولیزه می‌شود. در بیماران مبتلا به سیروز کبدی نیمه عمر حذف دو برابر شده و کلیزنس آن پنج برابر کم می‌شود. ملاتونین یک ایندول است که نیمه عمر آن حدود ۴۰ دقیقه است در چربی و آب محلول است. ملاتونین می‌تواند با گیرنده‌های خود که MT_1 ، MT_2 و MT_3 نامیده شده‌اند و در غشاء و در هسته سلول‌های هدف مستقر می‌باشند ترکیب شود. تحریک این گیرنده‌ها باعث تنظیم سیکل خواب و بیداری می‌شود و امروزه یکی از موارد مصرف مهم آن برای ایجاد خواب و جلوگیری از jet lag می‌باشد. یکی از اثرات مهم ملاتونین ایجاد اثر حفاظتی در مقابل رادیکال‌های آزاد است که می‌تواند تولید رادیکال‌های آزاد را کاهش دهد. در ضمن تولید گلوکاتیون پراکسیداز را که یک آنتی‌اکسیدان قوی است افزایش می‌دهد. اثر دیگر ملاتونین القا تولید نیتریک اکساید است که

نیتریک اکساید از طرق مختلف باعث محافظت از غشا معده می‌گردد.

روش مطالعه

این مطالعه روی موش صحرایی نر با وزن ۱۵۰ تا ۲۵۰ میلی‌گرم انجام گرفت. حیوانات قبل از شروع مطالعه به غذا و آب آشامیدنی دسترسی داشتند ولی ۴۸ ساعت قبل از کشته شدن از دسترسی به غذا محروم شده ولی به آب آشامیدنی دسترسی داشتند. قفس‌ها طوری تعبیه شده بودند که طی مدت آزمایش امکان دسترسی به ادرار و مدفوع خود را نداشتند. در این مطالعه حیوانات به پنج گروه تقسیم شدند:

۱- گروه نرمال سالین: حیوانات این گروه یک میلی‌لیتر نرمال سالین از راه داخل صفاقی دریافت می‌کردند.

۲- گروه اتانول: به حیوانات این گروه پس از تزریق نرمال سالین (مثل گروه ۱)، اتانول ۹۶٪ از طریق یک feeding needle خوراند می‌شد.

۳- گروه ملاتونین: در این گروه به پنج دسته موش صحرایی دوزهای ۱، ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن حیوانات ملاتونین از راه تزریق داخل صفاقی تزریق شده و نیم ساعت بعد مثل گروه ۲ یک میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ خوراند می‌شد.

۴- گروه NAME-: در این گروه به حیوانات ۱۰ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن NAME- از راه داخل صفاقی تزریق شده و یک ساعت بعد یک میلی‌لیتر اتانول ۹۶٪ خوراند می‌شد.

۵- گروه ملاتونین + NAME-: در حیوانات این گروه ابتدا ۱۰ mg/kg از NAME- تزریق شد و نیم ساعت بعد دوزی از ملاتونین که حداکثر اثر

نتایج و بحث

نتایج مطالعه در جدول ۱ و شکل‌های ۱ و ۲ و ۳ نشان داده شده است.

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ملاتونین به صورت وابسته به دوز در مقابل زخم ایجاد شده توسط اتانول ایجاد اثر حفاظتی می‌کند و با دوز ۱۰ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن Score J را از $1/82 \pm 36/83$ به $5/5 \pm 6/5$ کاهش دهد. تزریق داخل صفاقی I-NAME قبل از اتانول باعث تشدید اثر زخم زایی اتانول شده و Score J را به $84/0 \pm 55/0$ رسانید، ولی تزریق ملاتونین در حیوانی که اتانول و I-NAME می‌گرفتند باعث کاهش Score J را از $84/0 \pm 55/0$ به $97/20 \pm 26/20$ گردید. این نتایج نشان می‌دهند که اثر زخم زایی اتانول که از طریق تولید رادیکال آزاد آسیب مخاط معده ایجاد می‌نماید توسط ملاتونین خنثی

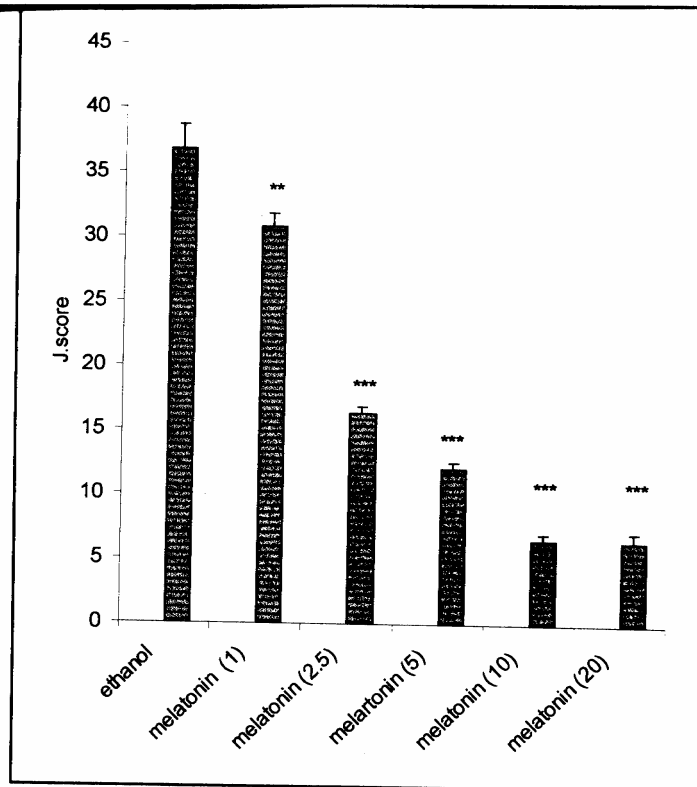
حفاظتی را ایجاد می‌کند (10 mg/kg) تزریق و نیم ساعت بعد یک میلی‌لیتر اتانول 96° خورانده شد. حیوانات را ۲/۵ ساعت پس از خوراندن اتانول کشته و بلافاصله بعد از شکاف در ناحیه شکم، معده را از بدن خارج کرده و از ناحیه انحنای کوچک شکافته و پس از شستشوی آن نرمال سالین، آسیب‌های مخاطی ایجاد شده را به صورت ماکروسکوپی بررسی کرده و عدد Score J را به دست می‌آوردیم. زخم کوچک‌تر از یک میلی‌متر را a و زخم‌های بین ۱ تا ۲ میلی‌متر را b و زخم‌های بزرگ‌تر از ۲ میلی‌متر را c نامیده و از آن رابطه زیر حساب می‌کردیم:

$$J = a + 2b + 3c$$

برای محاسبات آماری از نرم‌افزار SPSS و روش ANOVA یک طرفه استفاده کرده و $P < 0.05$ را اختلاف معنی‌دار در نظر گرفتیم.

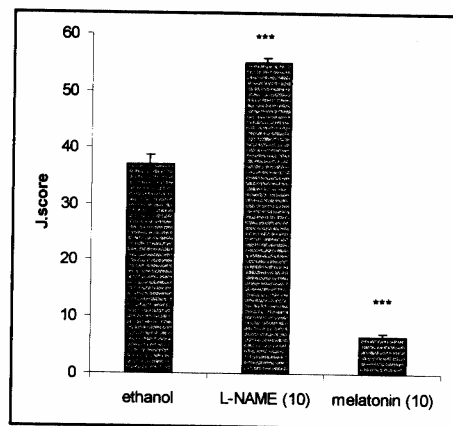
جدول ۱- اثر ملاتونین بر زخم معده ناشی از اتانول و L-NAME

J.Score	زمان (دقیقه)			گروه
	۰	۳۰	۶۰	
-	-	-	-	۱ سالین
				۲ سالین
$36/83 \pm 1/82$	اتانول	ملاتونین (1 mg/kg)	سالین	۳-۱
$30/83 \pm 1/02$	اتانول	ملاتونین ($2/5 \text{ mg/kg}$)	سالین	۳-۲
$16/33 \pm 0/49$	اتانول	ملاتونین (5 mg/kg)	سالین	۳-۳
$12/00 \pm 0/50$	اتانول	ملاتونین (10 mg/kg)	سالین	۳-۴
$6/50 \pm 0/57$	اتانول	ملاتونین (20 mg/kg)	سالین	۳-۵
$55/00 \pm 0/84$	اتانول	-	L-NAME	۴
$26/20 \pm 0/97$	اتانول	ملاتونین (10 mg/kg)	L-NAME	۵

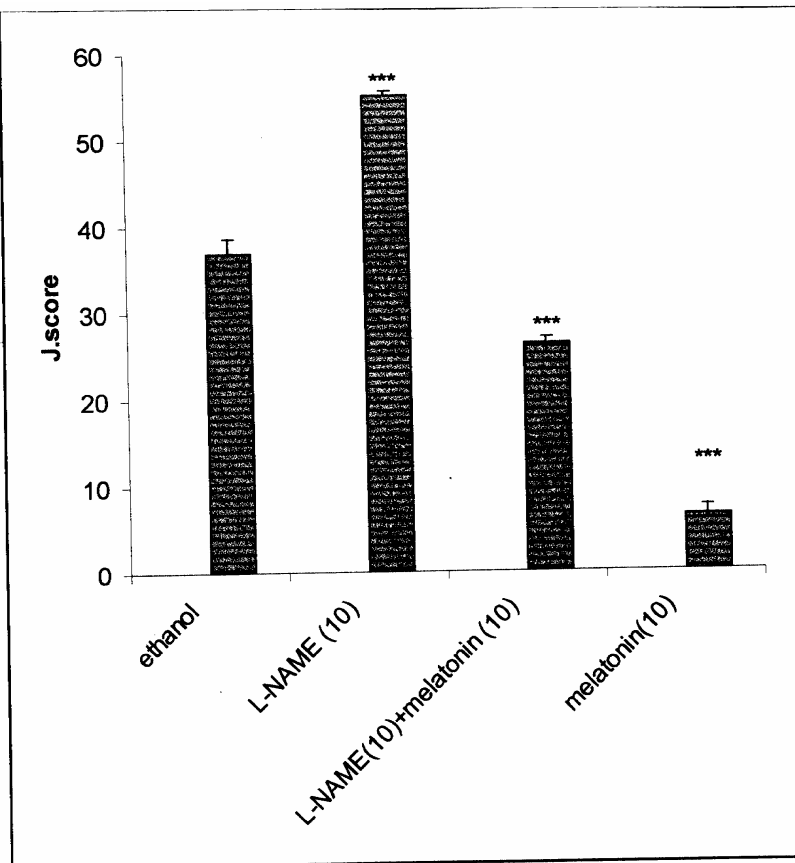


شکل ۱- بررسی اثر دوزهای مختلف ملاتونین بر روی زخم معده ناشی از اتانول

می‌شود. فعالیت ضد زخم ملاتونین مربوط به فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی آن است. تشدید اثر زخم‌زایی اتانول توسط L-NAME نشان می‌دهد که نیتریک اکساید در مخاط معده نقش حفاظتی دارد و جلوگیری از این نقش حفاظتی، باعث تشدید اثر اتانول می‌شود. اثر محافظتی ملاتونین احتمالاً مربوط به اثر آن‌تی‌اکسیدانی، افزایش غلظت گلوکوتایون معدی و افزایش فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز، افزایش سنتز پروستاگلاندین‌ها و افزایش سنتز نیتریک اکساید (افزایش بیان ژن تولید کننده NOS) می‌باشد.



شکل ۲- بررسی اثر L-NAME بر روی زخم معده ناشی از اتانول



شکل ۳- بررسی اثر ملاتونین + L-NAME بر روی زخم معده ناشی از اتانول

منابع

1. Reiter R.J. Oxidative processes and antioxidative defense mechanisms; The FASEB J. 1995; 9: 526 - 533.
2. Ivona Brzozow S., Konturek P., Brzozowski T., Stanislaw J. Role of prostaglandins, nitric oxide, sensory nerves and gastrin in acceleration of ulcer healing by melatonin and its precursor L-tryptophan; Pineal Res 2002; 32: 149 - 151.
3. Banyopadhya D., Reiter R.J., Banerjee R.K. Gastric Toxicity and mucosal ulceration induced by oxygen - derived reactive species. protection by melatonin; Curr. Mol. Med 2001; 1(4): 501 - 513.
4. Takeuch K., Ueshima k., Hironaka Y., Fujidaka Y., Mastsumoto J., Okabe S. Oxygen free radicals and lipid peroxidation in the pathogenesis of gastric mucosal lesions induced by indomethacin in rats; Digestion 1991; 49: 175 - 184.

اشاره: علاقمندان می توانند برای دریافت لیست کامل منابع این مقاله به دفتر مجله مراجعه نمایند.