Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:03 IRDT on Tuesday June 26th 2012

بررسی ریتم شبانه آنزیم ان ـ استیل ترانسفراز در غدهٔ پینه‌آل موش صحرائی

دکتر علی صادقی‌لویه*

چکیده

موجودات زنده ریتم‌های بیولوژیک متعددی دارند. برخی از این ریتم‌ها آندوژن و بعضی نیز در طول شبانه‌روز تحت تاثیر نور یا تاریکی قرار دارند. تغییرات دوره‌ای ترشح هورمون ملاتونین از غدهٔ پینه آل و همچنین اثرات تغییر فعالیت آنزیم ان ـ استیل ترانسفراز (*N-Acetyl transferase*) این غده در میزان سنتز هورمون ملاتونین امروزه به عنوان یک ریتم پایه‌ای شناخته شده است. در این مطالعه میزان فعالیت ان ـ استیل ترانسفراز در طول شب، یعنی زمانی که میزان سنتز هورمون ملاتونین به حداکثر می‌رسد مورد بررسی قرار گرفته است. با توجه به تکنیک‌های بکار رفته بوضوح مشخص است که تغییرات فعالیت ان ـ استیل ترانسفراز در غده پینه‌آل موش صحرائی به میزان تابش نور محیط وابسته است و شرایط نوری محیط از طریق رشته‌های سمپاتیک با آزاد ساختن نور آدرنالین در غدهٔ پینه‌آل فعالیت ان ـ استیل ترانسفراز را بطور چشمگیری تغییر می‌دهد.

کلید واژه‌ها: ۱ـ غده پینه‌آل ۲ـ ملاتونین ۳ـ ان – استیل ترانسفراز

مقدمه

انسان شاهد این حقیقت است که اکثر موجودات زنده ریتم‌های بیولوژیک متعددی از خود نشان می‌دهند. تعدادی از این ریتم‌ها آندوژن و بسیاری از آنها تحت تاثیر شرایط نوری محیط زندگی می‌باشد. سنتز و آزاد شدن دوره‌ای هورمون ملاتونین از غده پینه‌آل و اثراتی که این هورمون در کنترل رفتار موجودات زنده بویژه کنترل نوروآندوکرین دارد این تصوّر را پیش آورده که مکانیسم ویژه‌ای در بروز این رفتارها موثر است. در عمق این مکانیسم‌ها ساختمان پیچیده یک پیس‌میکر (*Pacemaker*) فعالیت دارد که بعنوان عمده‌ترین ابزار اندازه‌گیری در طول شبانه‌روز عمل می‌کند. (۱، ۹)

برخی از تغییرات بیولوژیک موجودات زنده سبب بروز اعمال فیزیولوژیکی از قبیل تولید فاکتورهای بیوشیمیائی و رفتار ویژه می‌شود. هرگاه در درون یک سیستم بیولوژیک، اعمالی با توالی و فاصله زمانی تقریباً منظم رخ دهد یک ریتم بیولوژیک برقرار شده است. فاصله زمانی تکرار هر یک از این اعمال، یک دوره ریتم نامیده می‌شود (۳).

بارزترین ریتم‌ها در طبیعت، ریتم‌های شبانه‌روزی است مانند: ریتم‌های فعالیت و استراحت، ریتم‌های تغییر حرارت، ریتم‌های تغییر غلظت هورمونها در خون و ریتم‌های تغییر

* دانشیار و مدیر گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی ـ دانشگاه علوم پزشکی ایران

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-14]

غـــلظت یـونها در ادرار. ریـتم‌های بـیولوژیک مـنحصراً پاسخهای غیرفعال مربوط بـه تـواتـرنوروتاریکی مـحیط نیست، بلکه اساس ریتم‌ها بیشتر از نوع آندوژن و ذاتی است و توسط یک ساعت آندوژن هدایت می‌شود (۱). معمولاً در طبیعت ریتم‌های عادی آزادانه تغییر نمی‌کند بلکه در طـول شبانه‌روز تحت تاثیر عـوامـلی بـنام سـنکرونیزه کـننده‌ها (*Synchronizers*) قرار دارند. مهمترین و عـمومی‌ترین ایـن عوامل سنکرونیزه کننده سیکل نور و تاریکی است کـه بـا چرخش زمین بوجود می‌آید، اما سیکل‌های دیگر نظیر درجه حرارت شبانه‌روزی، اوقات صرف غذا یـا بـازی و ... نـیز می‌تواند سنکرونیزه‌کننده باشد. (۶)

تغییرات دوره‌ای هورمون ملاتونین، هورمون عمده غدهٔ پینه آل، و اثرات عمدهٔ این هورمون بر سیستم آنـدوکرین و سایر اندامهای بدن به عنوان یک ریتم پـایه شـناخته شـده است. (۲) اما در عین حـال امـروزه تـغییر فـعالیت آنـزیم ان ـ استیل ترانسفراز غده پینه‌آل با تغییر میزان سنتز هورمون ملاتونین، در تولید ریتمیک ملاتونین در غده پینه آل شناخته شده است (۸).

با توجه به افزایش تولید ملاتونین در طول شب، نشـان داده شده که تابش ممتد نور، میزان سنتز این هورمون را به حداقل می‌رساند. (۵) بنابراین بررسی میزان فعالیت آنـزیم ان ـ استیل ترانسفراز در رابطه با شرایط نوری محیط زیست موجودات زنده بـه ویـژه در طـول شب کـه مـیزان سـنتز هورمون ملاتونین به حداکثر می‌رسد مورد توجه و ارزیابی قرار گرفته است.

تکنیک

حیوانات مورد استفاده، موش‌های صحرایی (*Rat*) نر از نوع ویستار (*Wistar*) با وزن متوسط ۱۵۰ گرم بودند کـه از غذاهای استاندارد موجود تغذیه می‌کردند. بررسی‌ها بر روی سه سری، هر سری شامل ۷ دسته و هـر دسـته بـا ۸ مـوش صحرایی به شرح زیر انجام گرفته است:

کلیه حیوانات جدا از شرایط اختصاصی هر سری یا دسته در یک رژیم نوری پایه‌ای *D/L* قرار داشته‌اند (۱۲ سـاعت تابش نور و ۱۲ ساعت تاریکی):

ـــ سری اول با رژیم نوری *D/L* (۱۲ ساعت نـور + ۱۲ ساعت تاریکی): تابش نور ممتد از ساعت ۶ صبح تا ۶ بعد از ظهر و رژیم تاریکی ممتد از ساعت ۶ بعد از ظهر تا ۶ صبح.

ـــ سری دوم با رژیم نوری *D/L* (۱۲ ساعت نـور + ۱۲ ساعت تاریکی) : تابش نور ممتد از سـاعت ۱۰ صـبح تـا ۱۰ شب و رژیم تاریکی ممتد از ساعت ۱۰ شب تا ۱۰ صبح.

ـــ سری سوم با رژیم نوری *D/L* (۱۲ ساعت نور + ۱۲ ساعت تاریکی) : تابش نور ممتد از ساعت ۲ بعد از ظهر تا ۲ صبح و رژیم تاریکی ممتد از ساعت ۲ صبح تا ۲ بعد از ظهر کلیه حیوانات مـــورد بررسی به مدت یک هفته در رژیم نوری تعیین شده قرار گرفتند.

فعالیت آنزیم ان ـ استیل تـرانسـفراز در آخـرین دوره تاریکی هر سری تعیین و با اولین ساعت شروع دوره تاریکی مقایسه شده است. در هر سری ۷ دسته حیوان مورد بررسی در هفت نوبت و با فاصله هر دو ساعت یک دسـته، مـورد بررسی قرار گرفتند. آخرین دسته هر سری در آخرین ساعت دوره تاریکی آن سری مورد آزمایش قرار گرفته است.

میزان فعالیت آنزیم ان ـ استیل ترانسفراز از غده پینه آل بـا اسـتفاده از تست‌هـای آزمـایشگاهی ***BOEHRINGER MANNHEIM*** در ۲۵ درجه سانتی‌گراد ارزیـابی و اخـتلاف دانسیته اپتیک آن در دقـیقه بـا طـول مـوج ۳۴۰ نـانومتر اندازه‌گیری شده است. میانگین فعالیت آنزیمی هر دسته بـا انحراف معیار آن در یک نقطه منحنی ذکر شده است (شکل ۱).

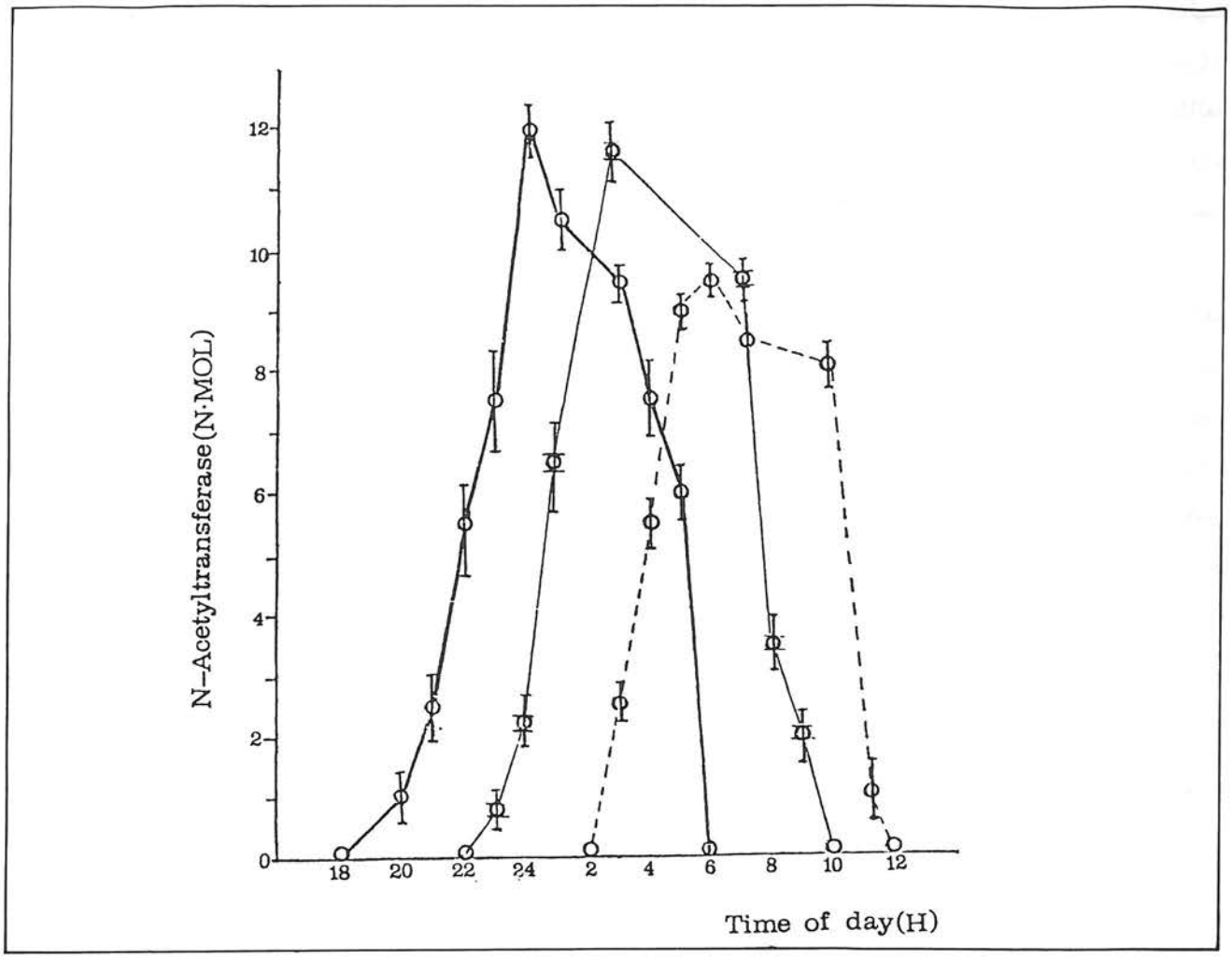
نتایج

در ســـــری اول مـــوشها، مـــیزان فـــعالیت آنـــزیم ان ـ استیل ترانسفراز از ساعات اولیـه بـررسی (سـاعت ۶ بعد از ظهر) به تدریج افزایش یافته است (شکـل ۱ مـنحنی ضخیم). حداکثر فعالیت آنزیمی این سری از حـیوانـات در ساعت ۱۲ شب ثبت شده است. از این ساعت به بعد تا ساعت ۶ صبح میزان فعالیت آنزیم ان ـ استیل تـرانسـفراز رو بـه

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:03 IRDT on Tuesday June 26th 2012
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-14]

کاهش گذاشته و در آخرین ساعت بررسی (۶ صبح) به حداقل خود رسیده است. میزان فعالیت ان ـ استیل ترانسفراز در روز (در طول ۱۲ ساعت تابش نور ممتد) صفر است (۴).

در سری دوم و سوم حیوانات، که زمان شروع تابش نور نسبت به سری اول به ترتیب ۴ و ۸ ساعت به تأخیر افتاده نتایج متفاوتی حاصل شده است:



شکل ۱ـ تغییرات آنزیم ان ـ استیل ترانسفراز در ساعات مختلف

تجربیات بر روی سه سری از حیوانات و هر سری شامل ۶ تا ۸ دسته و هر دسته شامل ۸ موش صحرائی اجرا گردیده است:

سری اول با رژیم تجربی *D/D* از ساعت ۶ بعد از ظهر تا ۶ صبح.

سری دوم با رژیم تجربی *D/D* از ساعت ۱۰ شب تا ۱۰ صبح.

سری سوم با رژیم تجربی *D/D* از ساعت ۲ صبح تا ۲ بعد از ظهر

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:03 IRDT on Tuesday June 26th 2012
[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-14]

در سری دوم میزان فعالیت ان ـ استیل ترانسفراز از ساعت ۱۰ شب (به جای ساعت ۶ بعد از ظهر سری اول) رو به افزایش گذاشته و حداکثر فعالیت آنزیمی در حوالی ساعت ۳ صبح مشاهده شده (شکل ۱ منحنی نازک) و در ساعت ۱۰ صبح این فعالیت خاتمه یافته است. در سری سوم میزان فعالیت آنزیمی از ساعت ۲ صبح رو به افزایش گذاشته، در ساعت ۹ بامداد به حداکثر رسیده و درساعت ۱۲ ظهر خاتمه یافته است (شکل ۱ منحنی بریده).

بحث و نتیجه‌گیری

ریتم تولید ملاتونین توسط ریتم فعالیت ان ـ استیل ترانسفراز تعیین می‌شود زیرا این آنزیم تبدیل پیش‌ساز ملاتونین، یعنی ان ـ استیل سروتونین را به ملاتونین هدایت می‌کند. (۴)

ریتم ان ـ استیل ترانسفراز توسط یک پیس میکر سیرکادین (*Circadian*) کنترل می‌شود که در هسته‌های سوپراکیاسماتیک هیپوتالاموس (*Supra Chiasmatic Nucleus*) قرار دارد. (۷) این هسته پیامهای دوره‌ای ویژه‌ای بطرف غده پینه‌آل می‌فرستد بطوری که یک فاز تحریکی برای فعالیت ان ـ استیل ترانسفراز در شب اتفاق می‌افتد؛ یعنی نورـ اپی‌نفرین از انتهاهای عصب سمپاتیک در غده پینه‌آل آزاد و ان ـ استیل ترانسفراز را فعال می‌کند (۷)، بطوریکه فعالیت این آنزیم دو فاز مشخص کاهش در طول روز (حدود صفر) و افزایش در طول شب را نشان می‌دهد. بنابراین مطالعه تغییرات فعالیت ان ـ استیل ترانسفراز از ابتدای شب (غروب تجربی) تا انتهای شب (بامداد تجربی) و چگونگی این تغییرات می‌تواند با ارزش باشد.

با توجه به فازهای تاخیری بکار رفته در تکنیک و فراهم کردن محیط تاریکی ممتد، بوضوح آشکار است که مکانیسم پایه‌ای تغییرات فعالیت ان ـ استیل ترانسفراز به میزان تابش نور محیط وابسته است و شرایط رژیم نوری محیط در نهایت از طریق رشته‌های سمپاتیک با آزاد ساختن نورآدرنالین در غده پینه‌آل فعالیت آنزیم ان ـ استیل ترانسفراز را بطور چشمگیر تغییر می‌دهد.

REFERENCES

1- Czeisler, c.A. et al. Bright light resets the human circadian pacemaker independent of the timing of the sleep - wake cycle, science wach. Dc 233 ; 667, 1986

2- Ebadi,M. et al. Pineal gland in synchronizing and refining physiological events. Nips, 8, 1993, 30-33

3- Illnerova, H. Mammalian circadian clock and its resetting NIPS, 6, 129, 1991

4- Klein, D. C., Moore, R. J. Pineal N- acetyl transferase and hydroxyindole-o-methyltransferase:Control by the retinal hypothalamic tract and the suprachiasmatic nucleus. Brain Res. 174, 245, 1979

5- Moore, R. Y., C ard, J. P., Neuropeptide Y and the circadian system, IN: Neuropeptide Y, New york: Rayen 293/1989.

6- Pittendrigh, C, S., Circadian System entrainment Handbook of behavioral neurobiology. Biological rhythms. Newyork plenum 4, 95, 1981.

7- Ralph, M. R. et al. Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period, science wash. D.C 247,975, 1990

8- Rusaka, B. BINA, K, G. Neurotransmitters in the mamamlian circadian system. Annu. Rev. Neurosci, 13, 387, 1990

9- Sadeghi-Louyeh, A. Modifications metaboliques Provoquees par La suppression de I' alternance lumiere-obscurite' Role de la glande pineale. These d' ETAT ES-science, 1980

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:03 IRDT on Tuesday June 26th 2012

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-14]

NIGHTLY RHYTHM OF N-ACETYL TRANSFERASE ACTIVITY IN PINEAL GLAND OF RAT

A. Sadeghi Looyea, M.D.*

ABSTRACT

Living organisms have multiple biological rhythms. Some of these rhythms are endogenous and some are under the influence of light and dark cycles during 24-hours. Nowadays periodic changes in melatonin secretion from pineal gland and changes in N-acetyl transferase (NAT) activity which influence the melatonin secretion rate has been acknowledged as a basic rhythm. In this study NAT activity in pineal gland of rats during the night in which the rate of melatonin synthesis reaches a maximum has been investigated. According to the techniques employed in the experiments it has become evident that NAT activity depends on the length of light exposure in the environment and, variations of environmental light, considerably changes pineal gland NAT activity by sympathetic innervation via norepinephrine release.

Key words: 1- Pineal gland 2- Melatonin 3- N-acetyl transferase

* Associate professor of physiology-Iran university of medical sciences

Downloaded from http://journals.tums.ac.ir/ at 9:03 IRDT on Tuesday June 26th 2012

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-10-14]