IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران

۲ (۲)، ۹۹- ۹۲ تابستان ۱۳۹۷

مقاله پژوهشی

اثرات محافظتی ملاتونین بر سمیت عصبی ناشی از مورفین در سلول های PC12

آزاده امین زاده[۲،۱]

۱. گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان
۲. مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس، پژوهشکده نوروفارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان

دریافت: ۲۲ بهمن ۹۵ پذیرش: ۱۰ اردیبهشت ۹۶

چکیده

زمینه و هدف: مورفین پتانسیل اعتیادآوری بالایی دارد و می تواند مورد سوء مصرف قرار گیرد. استفاده طولانی مدت مورفین اثرات جانبی زیادی دارد و از آن جمله می توان به سمیت عصبی، اختلال عصبی، استرس اکسیداتیو و آپوپتوز اشاره نمود. شواهد زیادی نشان داده است که ملاتونین اثرات آنتی اکسیداتیو و آنتی آپوپتوز دارد با این حال، اثرات آن بر سمیت عصبی ناشی از مورفین در سلول های PC12 مطالعه نشده است. این مطالعه به منظور بررسی نقش محافظتی ملاتونین بر سمیت عصبی ناشی از مورفین در سلول های PC12 انجام شد.

روش‌ها: سلول های PC12 به مدت ۲۴ ساعت با غلظت های مختلف ملاتونین (۱۰، ۲۵، ۴۰ و۵۰ میکرومولار) درمان شده و سپس به مدت ۲۴ ساعت در معرض مورفین با غلظت ۳/۲ میلی مولار قرار گرفتند. زنده مانی سلول ها با استفاده از روش MTT اندازه گیری شد. اثرات آنتی اکسیدانی ملاتونین با ارزیابی میزان تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS)، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (TAP)، پراکسیداسیون لیپیدی (LPO) و گروه های تیول مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: ملاتونین به طور قابل توجهی زنده مانی سلول های مواجه شده با مورفین را افزایش داد و سلول های PC12 را در برابر تولید بیش از اندازه گونه های فعال اکسیژن محافظت کرد. همچنین ملاتونین میزان TAP و گروه های تیول را افزایش و میزان LPO را کاهش داد.

نتیجه‌گیری: در سلول های PC12 ملاتونین می تواند با اثرات آنتی اکسیدانی، سمیت عصبی ناشی از مورفین را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: آپوپتوز، استرس اکسیداتیو، سلول های PC12، ملاتونین، مورفین

مقدمه

اپیوئیدها و در راس آن ها مورفین از جمله مهمترین داروهای ضد درد می باشند که به میزان زیادی مورد سوء مصرف قرار می گیرند. اپیوئیدها عوارض جانبی زیادی در بدن دارند و از آن جمله می توان به اثرات آن ها بر دستگاه گوارش، سیستم ایمنی و سیستم عصبی اشاره نمود [۱]. مطالعات نشان دادند که مورفین سبب القای مرگ سلولی در سلول های بدن نظیر سلول های ایمنی و سلول های عصبی می گردد [۲]. استرس اکسیداتیو و آپوپتوز یکی از مکانیسم های سمیت عصبی ناشی از مورفین در سیستم عصبی مرکزی می باشد. مطالعات نشان داده است که مورفین از طریق تولید رادیکال های آزاد سبب استرس اکسیداتیو در سیستم عصبی مرکزی می شود [۲]. مطالعات نشان دادند که استفاده از مورفین در بیماران مبتلا به سرطان، از طریق کاهش سطح گلوتاتیون سبب استرس اکسیداتیو می شود [۲، ۳]. استرس اکسیداتیو در نتیجه تولید بیش از اندازه رادیکال های آزاد و یا گونه های فعال اکسیژن و گونه های فعال نیتروژن ایجاد می گردد که بیش از ظرفیت مکانیسم های آنتی اکسیدانی برای

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات: azadehaminzadeh@yahoo.com
وبگاه مجله: http://ijpp.phypha.ir
پست الکترونیکی مجله: ijpp@phypha.ir

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-06-13]

از بین بردن این رادیکال ها می باشد. گونه های فعال اکسیژن از رادیکال های آزاد مشتق از اکسیژن مانند رادیکال های سوپراکساید و هیدروکسیل و همچنین گونه های غیر رادیکالی مشتق از اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن مشتق می شود. از مهمترین گونه های فعال نیتروژن می توان به نیتریک اکسید و پروکسی نیتریت اشاره نمود. تولید زیاد گونه های فعال اکسیژن و گونه های فعال نیتروژن به سرعت متابولیسم سلولی وابسته است. تولید زیاد گونه های فعال اکسیژن و گونه های فعال نیتروژن می تواند باعث آسیب بافتی شود. سلول ها سیستم آنتی اکسیدانی قدرتمندی دارند که هموستاز ردوکس (redox homeostasis) را حفظ می کند. مهمترین این مولکول ها، آنزیم هایی مانند سوپراکساید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز می باشند [۴].

ملاتونین هورمونی است که توسط غده پینه آل و بافت هایی مانند شبکیه چشم، روده، مغز استخوان، کلیه، آستروسیت ها، پلاکت ها و سلول های گلیا ترشح می شود و به علت خواص آنتی آپوپتوتیک و آنتی اکسیداتیو آن، حدود یک دهه است که برای درمان بیماری های مختلف استفاده می شود [۵]. برخلاف دیگر آنتی اکسیدان های قوی، ملاتونین در چربی و آب محلول است که اجازه می دهد به آسانی وارد سلول ها شود و همچنین از سد خونی مغزی عبور نماید. ملاتونین در دسترس تمام اجزای سلولی بویژه هسته و میتوکندری قرار می گیرد و سطح قابل توجهی را در آن ها ایجاد می کند [۶]. این دارو در مقایسه با دیگر داروهای محافظ عصبی فاقد سمیت می باشد بنابراین یک عامل محافظ عصبی ایده آل محسوب می شود [۷]. ملاتونین به طور بالینی در اختلالات مختلف سیستم عصبی مرکزی استفاده شده است. این دارو در بیماری های نورودژنراتیو مختلف مانند آلزایمر، پارکینسون و انفارکتوس استفاده شده است [۸]. مطالعات نشان داد که در گونه های مختلف پستانداران، ملاتونین توانسته حجم منطقه انفارکتوس را کاهش دهد و از مرگ سلول عصبی جلوگیری نماید [۸].

سلول های PC12 از تومور مدولای غده فوق کلیه موش صحرایی گرفته شده و به عنوان مدل مناسبی برای مطالعه سلول های عصبی در نظر گرفته می شوند. در این مطالعه اثرات محافظتی و آنتی اکسیدانی ملاتونین بر مرگ سلولی ایجاد شده توسط مرفین در رده سلولی PC12 مورد بررسی قرار گرفت.

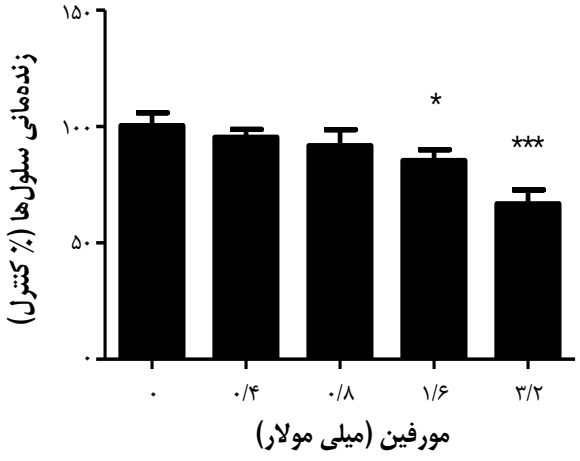
مواد و روش‌ها

سلول های استفاده شده در این مطالعه رده سلولی PC12 می باشند که از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. سلول ها در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، ۹۵٪ O_2 و ۵٪ CO_2 و با استفاده از محیط کشت (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) DMEM همراه با ۵٪ سرم جنین گاوی (FBS)، ۱۰٪ سرم اسبی (HS) و ۱٪ آنتی بیوتیک (پنی سیلین + استرپتومایسین) رشد داده شدند. محیط کشت سلولها هر ۴۸ ساعت تعویض می شد. گروه های مورد آزمایش در این مطالعه عبارت بودند از: ۱- گروه کنترل، ۲- گروه مورفین، ۳- گروه ملاتونین با غلظت µM ۵۰، ۴- گروه مورفین به علاوه ملاتونین با غلظت µM ۱۰، ۵- گروه مورفین به علاوه ملاتونین با غلظت µM ۲۵، ۶- گروه مورفین به علاوه ملاتونین با غلظت µM ۴۰، ۷- گروه مورفین به علاوه ملاتونین با غلظت µM ۵۰.

میزان حیات سلولی به روش MTT اندازه گیری شد. برای انجام روش MTT ابتدا تعداد ۵۰۰۰ سلول در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه ای کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید سپس سلول ها با غلظت های مختلف ملاتونین (۱۰، ۲۵، ۴۰ و۵۰ میکرومولار) به مدت ۲۴ ساعت تیمار شده و به مدت ۲۴ ساعت در معرض مورفین با غلظت ۳/۲ میلی مولار قرار گرفتند. سپس ۱۰ میکرولیتر محلول MTT (۵ mg/ml) به هر چاهک اضافه گردید و به مدت ۴-۲ ساعت در انکوباتور ۳۷°C قرار گرفتند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر DMSO جایگزین محیط کشت رویی سلول های انکوبه شده با MTT شد و جذب نوری آن در طول موج ۵۷۰ نانومتر با دستگاه الیزا ریدر سنجیده شد.

برای اندازه گیری سطح ROS از ۲،۷ دی کلرو دی هیدروفلورسین دی استات (DCF -DA) استفاده شد. در این روش، سلول ها به پلیت ۲۴ خانه ای منتقل شدند. این سلول ها پس از چسبیدن به کف چاهک و زمانی که تراکم سلولی به ۷۰٪ رسید با ملاتونین پرانکوبه شدند و سپس در معرض مورفین قرار گرفتند. سپس محیط داخل چاهک‌ها خالی گردید و سلول ها با فسفات بافر سالین شسته شدند و به مدت ۳۰ دقیقه با DCF-DA انکوبه شدند و سپس با فسفات بافر سالین شسته شدند. اندازه گیری میزان فلورسنس با استفاده از برانگیختگی (excitation)۴۸۵/۲۰ و نشر (emission)

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-06-13]



نمودار ۱– مقایسه اثر ۲۴ ساعت مواجهه غلظت های مختلف مورفین بر سلول های PC12. حیات سلولی بوسیله روش MTT اندازه گیری شد. نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده اند. $p < ۰/۰۵$:* ، $p <$ ۰/۰۰۱ :*** در مقایسه با گروه کنترل.

۵۲۸/۲۰ توسط الیزا ریدر (شرکت BioTek آمریکا) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انجام گردید.

برای اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی تام از روش FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) بهره گرفته شد. به این منظور، سلولها در فلاسک cm^2 ۲۵ کشت داده شدند و بعد از گذراندن زمان ۲۴ ساعت با ملاتونین پرانکوبه شده و سپس در معرض مورفین قرار گرفتند. سپس مایع رویی آن ها برداشته شد و پس از سانتریفیوژ با دور g ۱۲۰۰ و به مدت ۶ دقیقه تا انجام آزمایش های اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی تام، گروه های تیول و پراکسیداسیون لیپیدی در دمای ۸۰– درجه سانتی گراد نگهداری شد. در این روش، توانایی احیاکنندگی یون‌های فریک و تبدیل آن ها به یون‌های فرو در شرایط اسیدی و در حضور ماده‌ای به نام تری پیریدیل تری آزین (TPTZ) سنجیده می شود. در این واکنش، کمپلکس آبی رنگ تشکیل می شود که شدت رنگ آن در طول موج ۵۹۳ نانومتر قابل اندازه گیری است.

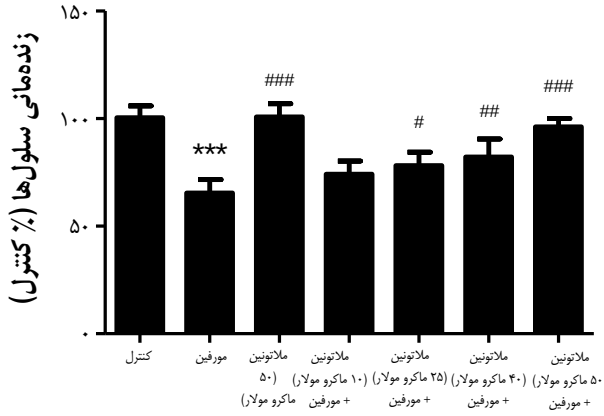
در جریان ایجاد استرس اکسیداتیو و حمله رادیکال های آزاد، میزان گروه های تیول موجود در پروتئین ها کاهش می یابند. به منظور ارزیابی میزان گروه های تیول، روش HU و معرف ۲و ۲ دی تیونیتروبنزوئیک اسید (DTNB) به کار برده شد. گروه های تیول با احیای این معرف، کمپلکس رنگی ایجاد می نمایند که در طول موج ۴۱۲ نانومتر دارای حداکثر جذب است.

اندازه گیری میزان مالون دی آلدئید به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدی مورد استفاده قرار می گیرد. در این روش یک مولکول مالون دی آلدئید با دو مولکول تیوباربیتوریک اسید در شرایط اسیدی و دمای بالا واکنش می دهد و کمپلکس رنگی (TBA-MDA- TBA) تشکیل می دهد. این کمپلکس رنگی در طول موج ۵۳۲ نانومتر دارای حداکثر جذب است.

نتایج به دست آمده به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده اند و با آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. $p < ۰/۰۵$ ملاک تفاوت معنی دار گروه ها در نظر گرفته شد.

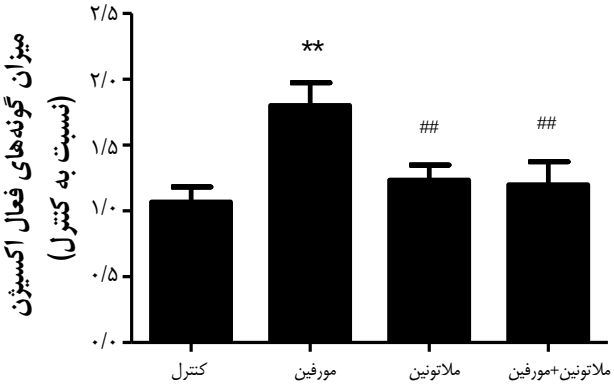
یافته ها

همانطور که در نمودار ۱ نشان داده شده است، مورفین به صورت وابسته به غلظت سبب کاهش حیات سلول های PC12 شده است. غلظت ۳/۲ میلی مولار مورفین برای این مطالعه انتخاب شد ($p < ۰/۰۰۱$). ملاتونین به صورت وابسته به غلظت، توانست از مرگ سلولی ناشی از مورفین جلوگیری نماید. غلظت ۵۰ میکرو مولار ملاتونین، به دلیل اینکه حیات سلولی را تحت تاثیر قرار نداده است و بیشترین اثر محافظتی را بر کاهش حیات سلولی ناشی از مورفین داشته است برای این مطالعه انتخاب شد ($p < ۰/۰۰۱$، نمودار ۲). مورفین در مقایسه با گروه کنترل باعث افزایش ROS در سلول های PC12 شده



نمودار ۲– مقایسه اثرات غلظت های مختلف ملاتونین (۵۰–۱۰ میکرو مولار) بر کاهش حیات سلولی ناشی از مورفین در سلولهای PC12. حیات سلولی بوسیله روش MTT اندازه گیری شد. نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده اند. $p <$ ۰/۰۰۱ :*** در مقایسه با گروه کنترل. $p <$ ۰/۰۵ :$^{\#}$، $p <$ ۰/۰۱ :$^{\#\#}$، $p <$ ۰/۰۰۱ :$^{\#\#\#}$ در مقایسه با گروه ملاتونین.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-06-13]



نمودار ۳- مقایسه اثر ملاتونین بر تولید ROS ناشی از مورفین. نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده اند. $p < ۰/۰۱$:** در مقایسه با گروه کنترل. $p < ۰/۰۱$:## در مقایسه با گروه مورفین.

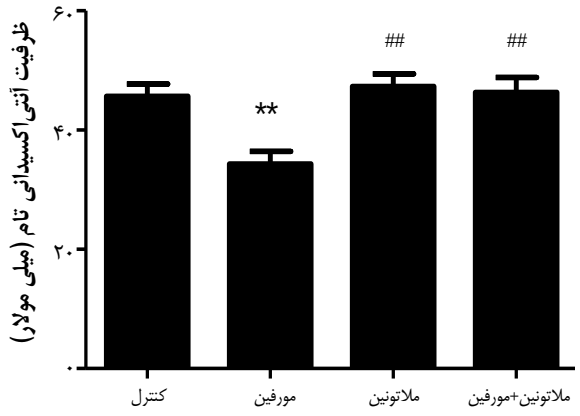
است. در حالیکه پرانکوباسیون با ملاتونین در مقایسه با گروه مورفین توانسته به میزان چشمگیری از این افزایش میزان ROS جلوگیری کند ($p < ۰/۰۱$، نمودار ۳). ظرفیت آنتی اکسیدانی تام در گروه مورفین در مقایسه با گروه کنترل، به میزان معنی داری کاهش یافت.

همانطور که در نمودار ۴ نشان داده شده است ملاتونین در مقایسه با گروه مورفین توانست به میزان معنی داری ظرفیت آنتی اکسیدانی تام را افزایش دهد ($p < ۰/۰۱$). نتایج حاصل از اندازه گیری گروه های تیول نشان داد که در گروه مورفین در مقایسه با گروه کنترل، میزان گروه های تیول به میزان معنی داری کاهش یافت. همانطور که در نمودار ۵ نشان داده شده است ملاتونین در مقایسه با گروه مورفین توانست به میزان معنی داری از کاهش گروه های تیول جلوگیری نماید ($p < ۰/۰۵$). همانطور که در نمودار ۶ مشاهده می شود، مورفین سبب افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی شده است و ملاتونین به طور معنی داری افزایش پراکسیداسیون لیپیدی را مهار می کند ($p < ۰/۰۵$).

بحث

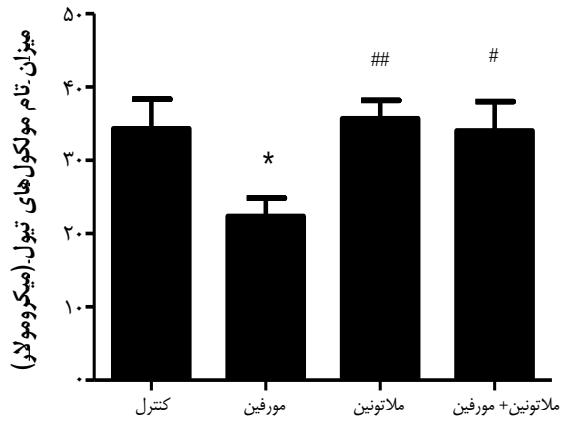
مطالعه حاضر نشان داد که ملاتونین می تواند القای مرگ سلولی توسط مورفین را متوقف نموده و میزان مرگ سلولی را کاهش دهد. مطالعات متعدد نشان داده است که مورفین موجب ایجاد مرگ سلولی در سلول های عصبی می شود [۲]. اگر چه ارتباط بین مورفین و استرس اکسیداتیو مشخص شده است، مکانیسم دقیق مولکولی آن هنوز شناسایی نشده است. تحقیقات نشان داده است که مورفین سبب افزایش تولید رادیکال های سوپراکساید می شود که به نظر می رسد ناشی از فعال سازی رسپتورهای اپیوئیدی μ می باشد که منجر به فعال سازی مسیر فسفولیپاز D و افزایش Ca^{2+} داخل سلولی می شود [۹]. نتایج ما نشان داد که مورفین به صورت وابسته به غلظت زنده مانی سلول های PC12 را کاهش می دهد. شواهد زیادی نشان می دهند که استفاده مکرر مورفین منجر به افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن می شود [۱۰]. بخشی از مکانیسم سلولی مرگ عصبی ناشی از مورفین، بوسیله رسپتورهای NMDA (N-Methyl-D-Aspartate) میانجی گری می شود که این رسپتورها در سیستم عصبی مرکزی، نقش مهمی در ایجاد استرس اکسیداتیو و آپوپتوز دارند [۱۱].

سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون مولکول های آنتی اکسیدانی مهمی هستند که استرس اکسیداتیو را کاهش می دهند. آنیون های سوپراکساید توسط سوپراکساید دیسموتاز به پراکسید هیدروژن تبدیل می شوند و سپس توسط کاتالاز و گلوتاتیون احیا می شوند [۱۲]. مطالعات نشان دادند که در بیماران مبتلا به سرطان، بخشی از آسیب اکسیداتیو مغزی ناشی از مورفین به علت کاهش گلوتاتیون می باشد که سبب می شود حساسیت به استرس اکسیداتیو افزایش یابد [۳]. پروکسی نیتریت یک گونه واکنشی قوی است که در پاسخ به مصرف مزمن مورفین دخیل است. شکل گیری پروکسی نیتریت سبب اختلال میتوکندریایی و شروع آپوپتوز می شود [۲، ۹].



نمودار ٤- مقایسه اثر ملاتونین بر کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام ناشی از مورفین. نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده اند. $p < ۰/۰۱$:** در مقایسه با گروه کنترل. $p < ۰/۰۱$:## در مقایسه با گروه مورفین.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-06-13]



نمودار ۵- مقایسه اثر ملاتونین بر کاهش گروه های تیول ناشی از مورفین. نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده اند. $p < ۰/۰۵$:* در مقایسه با گروه کنترل. $p < ۰/۰۵$:#، $p < ۰/۰۱$:## در مقایسه با گروه مورفین.

ملاتونین (N استیل ۵- متوکسی تریپتامین) در استفاده بالینی، دارویی ایمن است و در دوزهای بالا به خوبی تحمل می شود [۱۳]. مطالعات نشان دادند که ملاتونین می تواند اثرات ضدالتهابی و ضد آپوپتوز داشته باشد. علت استفاده از ملاتونین در بیماری های نورودژنراتیو مختلف مانند آلزایمر، انفارکتوس و پارکینسون به دلیل مهار مسیرهای آپوپتوتیک و فعال سازی مسیرهای زنده مانی می باشد. ملاتونین در مغز اثرات محافظتی دارد این دارو سبب کاهش حجم انفارکتوس، کاهش ادم مغزی، افزایش فاکتور آنتی آپوپتوز Bcl2 و کاهش فاکتور پرو آپوپتوز Bax می شود [۱۴]. در مدل آسیب ایسکمی، ملاتونین آزادسازی سیتوکروم c را از میتوکندری مهار می کند [۸، ۱۴].

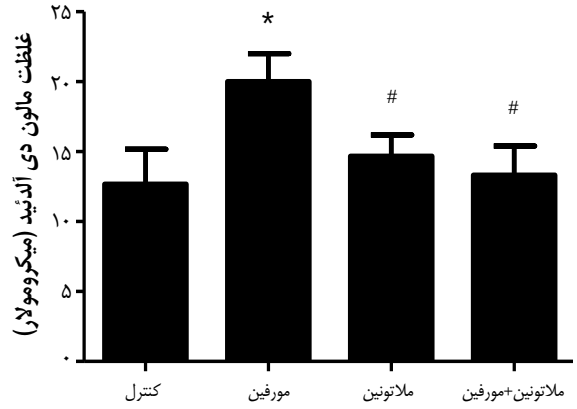
به تازگی پیشنهاد شده است که یکی از مهمترین عملکردهای ملاتونین، جمع آوری رادیکال های آزاد بویژه رادیکال های هیدروکسیل می باشد. در مطالعه ای به طور غیرمنتظره مشاهده شد که ملاتونین بسیار کارآمدتر از گلوتاتیون رادیکال های هیدروکسیل را جمع آوری می کند [۶]. خواص آنتی اکسیدانی و ضدالتهابی ملاتونین بسیار مهم است. یک اثر آنتی اکسیدانی برجسته ملاتونین، مربوط به ساختار مولکولی آن به عنوان مثال گروه های متیل و استیل می باشد که به عنوان آنتی اکسیدان هیدروفیل و هیدروفوب عمل می کند. ملاتونین رادیکال های هیدروکسیل، نیتروژن اکساید و پراکسید هیدروژن را غیر فعال می کند [۱۵]. به علاوه ملاتونین سطح سیتوکین های پیش التهابی مانند فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا (TNF-α)، اینترلوکین۶، فاکتور رشد تغییر شکل دهنده بتا (TGF-b) و اینترلوکین ۱ بتا را کاهش می دهد [۱۶].

نتایج ما نشان داد که ملاتونین توانسته از کاهش حیات سلولی ناشی از مورفین جلوگیری نماید. این نتایج در توافق با مطالعه ای است که نشان می دهد ملاتونین از مرگ سلولی ناشی از آکریل آمید در سلول های PC12 جلوگیری می کند [۱۷].

نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که مورفین، میزان ROS را افزایش داده است و ملاتونین به طور قابل توجهی توانسته از افزایش میزان ROS جلوگیری کند. در توافق با یافته ما در مطالعه ای نشان داده شده است که ملاتونین در سلول های H9C2، اثر محافظتی بر هیپرتروفی ناشی از آنژیوتانسین در سلول های قلبی دارد و میزان ROS را کاهش می دهد [۱۸].

یافته های این مطالعه نشان داد که مورفین میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی و گروه های تیول را کاهش داده است و ملاتونین به طور قابل توجهی توانست ظرفیت آنتی اکسیدانی و گروه های تیول را افزایش دهد. این نتایج با مطالعات گذشته که نشان دادند در شرایط هیپرتیروئیدی، ملاتونین توانسته از مرگ سلول های عصبی در ناحیه هیپوکمپ مغز جلوگیری کند و فعالیت آنتی اکسیدانی را افزایش دهد، مطابقت دارد [۱۹].

لیپیدها از ترکیباتی هستند که در مقابل استرس اکسیداتیو حساس می باشند. در تحقیقات از اندازه‌گیری میزان مالون دی



نمودار ٦- مقایسه اثر ملاتونین بر افزایش مالون دی آلدئید (MDA) ناشی از مورفین. میزان پراکسیداسیون لیپیدی بوسیله روش TBARS اندازه گیری شد. نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده اند. $p < ۰/۰۵$:* در مقایسه با گروه کنترل. $p < ۰/۰۵$:# در مقایسه با گروه مورفین.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-06-13]

آلدئید، جهت ارزیابی استرس اکسیداتیو لیپیدها استفاده می شود. این مطالعه نشان داد که مورفین سبب افزایش میزان مالون دی آلدئید شده است و ملاتونین به طور قابل توجهی توانسته از افزایش میزان مالون دی آلدئید و مرگ سلولی ناشی از مورفین جلوگیری نماید. این نتایج در توافق با مطالعه ای است که نشان می دهد در سلول های نوروبلاستوما SH-SY5Y، ملاتونین اثرات محافظتی بر استرس اکسیداتیو و آسیب میتوکندریایی ناشی از دگزامتازون دارد و میزان ROS و پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش می دهد [۲۰].

نتیجه‌گیری

یافته های مطالعه‌ی حاضر نشان داد که مورفین سبب استرس اکسیداتیو و آپوپتوز در سلول های PC12 شده است و ملاتونین از طریق مهار استرس اکسیداتیو، از نوروتوکسیسیتی ناشی از مورفین در این سلول ها محافظت می کند.

ملاحظات مالی

بدینوسیله از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمان جهت حمایت مالی از این تحقیق، تشکر و قدردانی به عمل می آید.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

فهرست منابع

[1] Baldini A, Von Korff M, Lin EH, A review of potential adverse effects of long-term opioidtherapy: Apractitioner's guide. ***Prim Care Companion CNS Disord*** 14 (2012) PCC.11m01326.

[2] Guzma´n DC, Va´zquez IE, Brizuela NO, Alvarez RG, Mejı´a GB, Garcı´a EH, Santamarı´a D, de Apreza MI, Olguı´n HJ, Assessment of oxidative damage induced by acute doses of morphine sulfate in postnatal and adult rat brain. ***Neurochem Res*** 31 (2006) 549–554.

[3] Goudas LC, Langlade A, Serrie A, Matson W, Milbury P, Thurel C, Sandouk P, Carr DB, Acute decreases in cerebrospinal fluid glutathione levels after intracerebroventricular morphine for cancer pain. ***Anesth Analg*** 89 (1999) 1209–1215.

[4] Skrabalova J, Drastichova Z, Novotny J, Morphine as a potential oxidative stress-causing agent. ***Mini Rev Org Chem***10 (2013) 367-372.

[5] García JJ, López-Pingarrón L, Almeida-Souza P, Tres A, Escudero P, García-Gil FA, Tan DX, Reiter RJ, Ramírez JM, Bernal-Pérez M, Protective effects of melatonin in reducing oxidative stress and in preserving the fluidity of biological membranes: a review. ***J Pineal Res*** 56 (2014) 225–237.

[6] Bao JF, Wu RG, Zhang XP, Song Y, Li CL, Melatoninattenuates 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced PC12 cell death. ***Acta Pharmacol Sin***26 (2005) 117-123.

[7] Miller E, Morel A, Saso L, Saluk J, Melatonin redox activity. Its potential clinical applications in neurodegenerative disorders. ***Curr Top Med Chem*** 15 (2015) 163–169.

[8] Sarlak G, Jenwitheesuk A, Chetsawang B, Govitrapong P, Effects of melatonin on nervous system aging: neurogenesis and neurodegeneration. ***J Pharmacol Sci*** 123 (2013) 9–24.

[9] Salvemini D, Peroxynitrite and opiate antinociceptive tolerance: a painful reality. ***Arch Biochem Biophys*** 484 (2009) 238–244.

[10] Guzma´n DC, Brizuela NO, Alvarez RG, Garcı´a EH, Mejı´a GB, Olguı´n HJ, Cerebrolysin and morphine decrease glutathione and 5-hydroxyindole acetic acid levels in fasted rat brain. ***Biomed Pharmacother*** 63 (2009) 517–521.

[11] Domingues A, Oliveira T, La OM, Macedo T, Oliveira C, Rego A, Expression of NR1/NR2B N-methyl-D-aspartate receptors enhances heroin toxicity in HEK293 cells. ***Ann NY Acad Sci*** 1074 (2006) 458–465.

[12] Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C, Free radicals, antioxidants in disease and health. ***Int J Biomed Sci*** 4 (2008) 89-96.

[13] Weishaupt JH, Bartels C, Polking E, Dietrich J, Rohde G, Poeggeler B, Mertens N, Sperling S, Bohn M, Huther G, Schneider A, Bach A, Sirén AL, Hardeland R, Bähr M, Nave KA, Ehrenreich H, Reduced oxidative damage in ALS by high-dose enteral melatonin treatment. ***J Pineal Res*** 41 (2006) 313–323.

[14] Andrabi SS, Parvez S, Tabassum H, Melatonin and ischemic stroke: mechanistic roles and action. ***Adv Pharmacol Sci*** 2015 (2015) 384750.

[15] Tan DX, Reiter RJ, Manchester LC, Yan MT, El-Sawi M, Sainz RM, Mayo JC, Kohen R, Allegra M, Hardeland R, Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. ***Curr Top Med Chem*** 2 (2002) 181–197.

[16] Czechowska G, Celinski K, Korolczuk A, Wojcicka G, Dudka J, Bojarska A, Reiter RJ, Protective effects of melatoninagainst thioacetamide-induced liver fibrosisin rats. ***J Physiol Pharmacol*** 66 (2015) 567-579.

[17] Pan X, Zhu L, Lu H, Wang D, Lu Q,Yan H, Melatonin attenuates oxidative damage induced by acrylamide in Vitro and in Vivo. ***Oxid Med Cell Longev*** 2015 (2015) 703709.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-06-13]

[18] Su H, Li J, Chen T, Li N, Xiao J, Wang S, Guo X, Yang Y, Bu P, Melatonin attenuates angiotensin II-induced cardiomyocyte hypertrophy through the CyPA/CD147 signaling pathway. ***Mol Cell Biochem*** 422 (2016) 85-95.

[19] Rao G, Verma R, Mukherjee A, Haldar C, Agrawal NK, Melatonin alleviates hyperthyroidism induced oxidative stress and neuronal cell death in hippocampus of aged female golden hamster, Mesocricetus auratus. ***Exp Gerontol*** 82 (2016) 125-130.

[20] Suwanjang W, Abramov AY, Charngkaew K, Govitrapong P, Chetsawang B, Melatonin prevents cytosolic calcium overload, mitochondrial damage and cell death due to toxically high doses of dexamethasone-induced oxidative stress in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. ***Neurochem Int*** 97 (2016) 34-41.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-06-13]

Research paper

Protective effects of melatonin against morphine induced neurotoxicity in PC12 cells

Azadeh Aminzadeh[1, 2]

1. Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
2. Pharmaceutics Research Center, Institute of Neuropharmacology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

Received: 10 February 2017 Accepted: 30 April 2017

Abstract

Background and aim: Morphine has a high addictive potential and can be abused. Long-term use of morphine is associated with some pathological consequences including neurotoxicity, neuronal dysfunction, oxidative stress and apoptosis. Increasing evidence has shown that melatonin has antioxidant and antiapoptosis properties. However, its effects on morphine-induced neurotoxicity in PC12 cells have not been studied. This study was carried out to evaluate protective effect of melatonin against morphine-induced neurotoxicity in PC12 cells.

Methods: PC12 cells were treated for 24 h with several doses of melatonin (10, 25, 40, and 50 μM). The cells were then treated with 3.2 mM morphine for 24 h. The viability of PC12 cells was measured using MTT assay. The antioxidant activity of melatonin was evaluated by measuring the levels of reactive oxygen species (ROS), lipid peroxidation (LPO) and total thiol groups, and total antioxidant power (TAP).

Results: Melatonin significantly enhanced the viability of PC12 cells and protected the cells against morphine-induced overproduction of ROS. Melatonin has increased TAP and total thiol groups and decreased LPO.

Conclusion: Melatonin attenuates neurotoxicity of morphine in PC12 cells via antioxidant activity.

Keywords: PC12 Cells, Morphine, Oxidative stress, Apoptosis, Melatonin

Please cite this article as follows:
Aminzadeh A, Protective effects of melatonin against morphine induced neurotoxicity in PC12 cells. ***Iran J Physiol Pharmacol*** 2 (2018) 92-99.

*Corresponding author e-mail: a.aminzadeh@kmu.ac.ir or azadehaminzadeh@yahoo.com
Available online at: http://ijpp.phypha.ir
Journal E-mail: ijpp@phypha.ir

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-06-13]