مقاله پژوهشی

بررسی اثر دی سولفیرام بر میزان سرمی هورمون‌های محور هیپوفیز ـ تیرویید در موش‌های صحرایی نر بالغ

دکتر سیدابراهیم حسینی*

دریافت : ۹۱/۲/۲۵ ، پذیرش : ۹۱/۷/۱۸

چکیده:

مقدمه و هدف: داروی دی سولفیرام برای درمان مسمومیت های ناشی از مصرف الکل مورد استفاده قرار می‌گیـرد. بـر اسـاس نتایج بررسی‌های مختلف مقادیر بیش از حد این دارو می‌تواند بر عملکرد غدد درون ریز بدن اثر گذارد. مطالعه حاضر با هـدف تعیین اثر دی سولفیرام بر فعالیت محور هیپوفیز-تیرویید در موش‌های صحرایی نر بالغ صورت گرفت.

روش کار: در این مطالعه تجربی ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار بـا وزن تقریبـی ۲۰۰ تـا ۲۲۰ گـرم در گـروه‌هـای تجربی، شاهد و کنترل مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه‌های تجربی داروی دی سولفیرام را با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی به مدت ۱۰ روز ، گروه شاهد فقط ۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک را برای مدت ۱۰ روز به صورت خوراکی دریافت داشتند و گروه کنترل تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند. در پایان روز دهم از قلب موش‌ها خون‌گیـری به عمل آمد و غلظت هورمون‌های T_3، T_4 و TSH توسط دستگاه گاماکانتر و کیت‌های تجاری اندازه گیری شد و نتایج بـا کمـک روش آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) توسط نرم‌افزار SPSS-18 مورد تجزیه و تحلیل قرارگرفتند.

نتایج: یافته ها نشان داد که داروی دی‌سولفیرام تأثیر معناداری بـر میـزان پلاسـمایی هورمـون T_4 نداشـته امـا در هـر سـه دوز مصرفی باعث افزایش هورمون‌های T_3 و TSH نسبت به گروه کنترل گردیده است.

نتیجه نهایی: داروی دی سولفیرام بر میزان پلاسمایی هورمون T_4 تأثیری نداشته اما باعث افزایش ترشح هورمون‌های T_3 و TSH گردیده است که احتمالاً از طریق افزایش سروتونین وکاهش سوماتوستاتین و افزایش ورود یون‌های کلسیم به داخل سـلول‌هـا و افزایش فعالیت آنزیم‌های ۵-دیدونیازها بوده است.

کلید واژه ها: دی سولفیرام / موش های صحرایی / هورمون ها

مقدمه :

اتانول یک مایع بی‌رنگ و شفاف با بوی ملایم است که دارای فرمـول شـیمیایی CH_3CH_2OH مـی‌باشـد و مـورد استفاده میلیون‌ها نفر در سراسر جهان می‌باشد. به دنبـال مصرف الکل بیش از ۹۰ درصد آن توسط کبد و بـا کمـک آنـزیم الکـل دهیـدروژناز بـه اسـتالدهید کـه اصـلی‌تـرین متابولیت اتانول بوده و دارای خاصیت سمی اسـت، تبـدیل می‌گردد (۱) استالدهید حاصله نیز بلافاصله با کمک آنزیم آلدهیددهیدروژناز به یون استات تبـدیل مـی‌گـردد. الکـل فعالیت سلول‌های گلیایی را در موش‌هـای صـحرایی مهـار می‌کند و بـا اثـر بـر روی سیـستم عـصبی مرکـزی باعـث بروز حالت بی‌هوشی می‌گردد (۱).

دی سولفیرام با نام تجاری آنتابیوز دارای فرمول شـیمیایی $[(C_2H_5)2NCS_2]_2$ و وزن مولکـولی در حـدود ۲۹۶/۵۴۶ دالتون بوده که در درمـان مـسمویت‌هـای بـا الکـل مـورد استفاده قرار می‌گیرد(۲). LD50 خوراکی دی سولفیرام در موش‌های صحرایی در حدود ۵۰۰ میلی‌گـرم بـر کیلـوگرم وزن بدن است (۳) دی سولفیرام دارویـی اسـت کـه بـرای درمان الکلیسم از آن استفاده می‌شود و چنان‌چه فردی که الکل نوشـیده اسـت از آن اسـتفاده نمایـد واکـنش بـسیار ناخوشـایندی در او ایجـاد مـی‌شـود. دی سـولفیرام اکسیداسیون الکل را در مرحله استالدهید بلوکه می‌کنـد و

* دانشیار گروه زیست شناسی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی ، فارس ، ایران (ebrahim.hossini@yahoo.com)

چنان‌چه بعد از مصرف الکل از آن استفاده گردد غلظت استالدهید در خون به ۵ تا ۱۰ برابر زمانی که همان مقدار الکل به تنهایی مصرف شده باشد، می‌رسد (۴). متابولیسم و دفع دی سولفیرام بسیار کند است و متابولیت‌های آن از طریق ادرار و تنفس دفع می‌گردند (۳). دی سولفیرام مهار کننده اختصاصی آنزیم آلدهیددهیدروژناز می‌باشد (۵) و باعث افزایش غلظت درون سلولی کلسیم می‌گردد که در نتیجه آن فعالیت آنزیم Ca-ATPase افزایش می‌یابد (۶). تیمار با دی سولفیرام با تاثیر بر پروتئین‌های غشایی میتوکندری‌ها باعث آزاد شدن یون کلسیم از میتوکندری-ها و ورود آن به داخل سیتوزول می‌شود (۷). دی سولفیرام از طریق مهار آنزیم مونوامینواکسیداز باعث افزایش میزان سروتونین در مغز می‌شود و سروتونین نیز ترشح هورمون TSH را تحریک می‌نماید (۸).

با توجه به آن‌که مصرف الکل و باالطبع مسمومیت ناشی از آن در سراسر دنیا رو به افزایش است و در بسیاری از موارد برای رفع مسمومیت ناشی از آن از داروی دی سولفیرام استفاده می‌نمایند بنابراین بررسی اثرات این دارو بر ساختارهای فیزیولوژیک بدن ضروری است و لذا مطالعه حاضر با هدف تعیین اثرات دی سولفیرام بر عملکرد محور هورمونی هیپوفیز- تیروئید صورت گرفته است.

روش کار:

این مطالعه از نوع تجربی است که در سال ۱۳۹۰ در دانشگاه آزاد سلامی واحد علوم و تحقیقات فارس، بر روی ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰۰ تا۲۲۰ گرم که از موسسه سرم‌سازی رازی شیراز تهیه شده بودند، انجام گردید. نمونه‌ها به ۵ گروه ۱۰تایی که شامل گروه‌های کنترل، شاهد و سه گروه تجربی دریافت کننده دوزهای ۵۰ و۱۰۰و۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم داروی دی سولفیرام تقسیم شدند و در شرایط نوری ۱۲ ساعت تاریکی ۱۲ ساعت روشنایی و در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. حیوانات مورد مطالعه در این بررسی در تمام طول تجربه از آب آشامیدنی شهر مرودشت و غذای فشرده تهیه شده از شرکت خوراک پارس دام تهران استفاده کردند که به صورت نامحدود در دسترس حیوانات قرار داشت. پروتکل این مطالعه بر اساس قوانین بین المللی درمورد حیوانات آزمایشگاهی انجام شد و در کمیته اخلاق دانشگاه به تصویب رسید. در این مطالعه حیوانات گروه کنترل تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند. حیوانات گروه شاهد روزانه ۱cc سرم فیزیولوژیک را برای مدت ۱۰ روز دریافت داشتند و حیوانات گروه‌های تجربی نیز دوزهای یاد شده را برای مدت ۱۰ روز دریافت داشتند. کلیه تجویزها به صورت خوراکی و در ساعت۱۰ تا ۱۱ صبح انجام گردید. در روز پایان آزمایش در ساعات بین ۱۰ تا ۱۱ صبح، حیوانات را با اتر تحت بی هوشی خفیف قرار داده و سپس با کمک سرنگ ۵ میلی‌لیتری از قلب حیوانات خون‌گیری به عمل آمد و پس از جداسازی سرم از آنها، نمونه‌های تهیه شده در دمای۲۰- درجه سانتیگراد نگه‌داری شدند. نمونه‌های خونی برای سنجش میزان هورمون‌های T_3، T_4 و TSH به آزمایشگاه منتقل گردیدند و به وسیله کیت‌های هورمونی تهیه شده از شرکت کاوشیار ایران و با استفاده از روش رادیوایمونواسی و با کمک دستگاه گاما کانترمیزان سرمی هورمون‌های مذکور اندازه-گیری گردیدند. در نهایت داده‌های به دست آمده از طریق تحلیل واریانس یک‌طرفه (ANOVA) به کمک نرم‌افزار آماری SPSS-18 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج:

مقایسه نتایج آزمون آماری مربوط به اثر داروی دی سولفیرام بر میزان سرمی هورمون TSH در سه گروه دریافت کننده دوزهای مختلف داروی فوق افزایش معناداری را در سطح $P\leq ۰/۰۵$ نشان می‌دهد. همچنین با مقایسه نتایج آزمون آماری مربوط به هورمون T_3 در هر سه گروه تجربی افزایش معناداری در سطح $P\leq ۰/۰۵$ نسبت به گروه کنترل مشاهده شد و در ارتباط با هورمون T_4 اختلاف معناداری بین گروه‌های تجربی در مقایسه با کنترل مشاهده نگردید (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه‌ی اثر مقادیر مختلف مصرف دی سولفیرام بر میزان سرمی هورمون‌های T_3، T_4 و TSH در گروه‌های مورد پژوهش

	کنترل	شاهد	گروه‌های تجربی		
			۵۰ mg/kg	۱۰۰ mg/kg	۲۰۰ mg/kg
هورمون TSH (µg/dl)	۰/۰۶۱±۰/۰۳۴	۰/۰۶۹±۰/۰۵۸	۰/۱۱۹±۰/۰۴۰*	۰/۱۲۸±۰/۰۹۰*	۰/۱۱۸±۰/۰۵۲*
هورمون T_3 (µg/dl)	۸۱/۲۸±۱۷/۶۳	۸۷/۲۳±۱۵/۴۶	۱۰۹/۲۷±۱۲/۴۸*	۱۲۴/۰۱±۱۹/۴۷*	۱۱۲/۵۶±۱۷/۹۷*
هورمون T_4 (µg/dl)	۳/۵۱۷±۰/۷۲۶	۳/۵۰۲±۰/۶۵۹	۳/۰۷۶±۰/۹۹۲	۳/۶۳۸±۰/۹۲۴	۳/۴۰۵±۰/۶۵۶

* نشان دهنده اختلاف معنادار در سطح ($P\leq ۰/۰۵$) با گروه‌های کنترل و شاهد است.

بحث:

در ایـن مطالعـه اثـر دی سـولفیرام بـر میـزان سـرمی هورمون‌های محور هیپوفیز-تیرویید در موش‌های صحرایی نـر بـالغ، بررسـی شـد. نتـایج نـشان داد کـه داروی دی سولفیرام در دوزهای مصرف شـده باعـث افـزایش غلظـت سرمی هورمون TSH می‌گردد.

بر اساس نتایج حاصل از سایر تحقیقات مـشخص شـده است که دی سولفیرام باعث افـزایش تـراکم نوروهورمـون TRH به عنوان محرک ترشـح TSH مـی‌گـردد (۹) و لـذا احتمالاً افزایش TSH در گروه‌های تجربی بـه دلیـل تـأثیر تحریکی این ترکیب بر ترشح TRH می‌باشد.

دی‌سـولفیرام از طریـق مهـار آنـزیم مونوامینواکـسیداز باعث افزایش تولید میزان سروتونین در مغز و متعاقـب آن سبب افزایش ترشح هورمون TSH می‌گردد (۸). دی اتیل تیوکاربامات که یک متابولیـت فعـال دی سـولفیرام اسـت باعث اختلال در عملکرد آنزیم دوپـامین بتاهیدروکـسیلاز کـه در تبـدیل دوپـامین بـه نـوراپی‌نفـرین دخالـت دارد، می‌گردد، لذا در صورت مصرف دی سولفیرام در نورون‌های پیش سیناپسی از میزان نوراپی‌نفرین کاسـته و بـر میـزان دوپامین افزوده می‌شود که در نتیجه کاهش نوراپی‌نفـرین و افزایش میزان دوپامین، هورمون سوماتوستاتین که یکـی از مهارکننده‌های اصلی ترشح هورمون TSH است کـاهش مـی‌یابـد و در نتیجـه آن میـزان هورمـون TSH افـزایش می‌یابد(۳،۱۰).

همچنین نتایج حاصل از مطالعه حاضر نـشان داد کـه علی رغم افزایش TSH، میزان هورمـون T_4 تغییـر معنـی-داری نداشته در حالی که هورمون T_3 به طـور معنـی‌داری افزایش یافته است، بنابراین احتمال آن می‌رود کـه ترشـح هورمون T_4 از غده تیروئید افزایش یافته باشد اما به دلیـل آن که بخش بیشتری از آن در کبد به T_3 تبدیل می‌گردد، لذا احتمالاً علت عدم تغییر معنی‌دار هورمون T_4 بـه دلیـل تبدیل بیشتر هورمـون T_4 بـه هورمـون T_3 در کبـد بـوده است. زیرا که دی‌سـولفیرام باعـث افـزایش ترشـح TSH و سـروتونین مـی‌گـردد و عملکـرد تـوام سـروتونین و TSH موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های ۵-دیدونیازهای I و II که مسئول تبدیل T_4 به T_3 می‌باشند، می‌گردد (۱۱،۱۲).

یون‌های کلسیم یک عامل مهم در متابولیسم ید در غده تیرویید می‌باشد که برای اکـسیداسیون I^- بـه I_2 ضـروری می‌باشد (۱۳). همچنین در غلظت‌های پایین یدیـــــــد آزاد (I^-) است که هورمون TSH می‌تواند واکنش هیدرولیز تیروگلوبولین را برای تولید T_3 و T_4 سبب شود و از طـرف دیگر عمل اکسیداسیون ید در غده تیرویید توسـط آنـزیم تیروپراکسیداز و با استفاده از پراکسید هیدروژن H_2O_2 بـه عنوان سوبسترای اکسیدکننده انجـام مـی‌گیـرد و کـاهش کلـسیم بـه طـور قابـل ملاحظـه‌ای تولیـد H_2O_2 را دچـار اختلال می‌کند(۱۴). دی سولفیرام باعـث افـزایش غلظـت کلسیم داخل سـلولی در بافـت‌هـای مختلـف بـه ویـژه در سلول‌های عصبی عضلانی و نوروگلیایی می‌گـردد(۱۵،۱۶). بنابراین احتمالاً دی‌سولفیرام از طریق افزایش غلظت کلسیم و تبدیل مقادیر بیشتری از I^- به I_2 و تولیـد H_2O_2 بیـشتر منجر به تولید بیشتر هورمون‌های تیروئیدی گردیده است.

نتیجه نهایی:

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، می‌تـوان نتیجـه گرفت که در موش‌هایی که با کمبود هورمون‌های تیروئیدی روبرو هستند، دی‌سولفیرام می‌تواند باعث تحریـک ترشـح هورمون TSH و افزایش T_3 گردد، لذا بـا انجـام تحقیقـات بیشتر می‌توان در داروهایی که در درمان کـم کـاری‌هـای تیروئیدی استفاده می‌شود از آن بهره برد همچنین پیشنهاد می‌گردد که بـا انجـام تحقیقـات تکمیلـی در نمونـه‌هـای انسانی اثرات دی‌سولفیرام بر تکوین غده‌ی تیروئید در دوران جنینی و همچنین نوزادی و زمان بلوغ بر ترشح هورمونهای محور هیپوفیز- تیروئید مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری :

نویسنده مقاله بر خود واجب مـی‌دانـد کـه از حـوزه‌ی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات فـارس کـه در اجـرای ایـن تحقیـق اینجانـب را همراهی کردند، تشکر و قدردانی نماید.

منابع :

1. McNichol RW, Ewing JA, Faiman MD. Disulfiram (Antabuse)-unique medical aid to sobriety: history, pharmacology, research and clinical use. Springfield, IL: Charles C. Thomas, 1987.
2. Martindale W, Reynolds JEF. Parfitt K. The extra pharmacopoeia/Martindale. London: Pharmaceutical Press, 1989.
3. Grosicka E, Czeczot H, Skrzycki M, Szumiło M, Podsiad M, Rahden-Staron I. [Effect of thiuram and disulfiram on the redox state of the cell fibroblasts, Chinese hamster lung]. Bromat Chem Toksykol 2006; 4:383-390. (Polish)
4. Godar SC. The role of monoamine oxidase in behavioral plasticity. Cambridge: Proquest, umi dissertation publishing, 2011.

5. Panoutsopoulos GI, Kouretas D, Beedham C. Contribution of aldehyde oxidase, xanthine oxidase, and aldehyde dehydrogenase on the oxidation of aromatic aldehydes. Chem Res Toxicol 2004; 17(10): 1368-76.
6. Nabekura T, Tomohiro M, Ito Y, Kitagawa S. Changes in plasma membrane Ca2+ -ATPase expression and ATP content in lenses of hereditary cataract UPL rats. Toxicology 2004; 197(2): 177-83.
7. Chávez E, Zazueta C, Bravo C. Extensive Ca2+ release from energized mitochondria induced by disulfiram. J Bioenerg Biomembr 1989; 21(3): 335-45.
8. Bhadra S, Prather PL, Elkhayat I, Benjamin D, Harris CM, Lal H. Anxiogenic effect of disulfiram evaluated in an animal model. J Stud Alcohol 1993; 54(1): 5-10.
9. Bruhn TO, Rondeel JM, Jackson IM. Thyrotropin-releasing hormone gene expression in the anterior pituitary. IV. Evidence for paracrine and autocrine regulation. Endocrinology 1998; 139 (8): 3416-22.
10. Lisboa PC, Oliveira KJ, Cabanelas A, Ortiga-Carvalho TM, Pazos-Moura CC. Acute cold exposure, leptin, and somatostatin analog (octreotide) modulate thyroid 5'-deiodinase activity. Am J Physiol Endocrinol Metab 2003; 284(6): E1172-6.
11. Sullo A, Brizzi G, Maffulli N. Serotonin effect on deiodinating activity in the rat. Can J Physiol Pharmacol 2003; 81(7): 747-51.
12. Bauer M, Whybrow PC. Thyroid hormone, neural tissue and mood modulation. World J Biol Psychiatry 2001; 2(2): 59-69.
13. Arthur W. Wase, Jens Christensen. Antithyroid action of tetraethylthiuram disulfide. J Biol Chem 1954; 211: 75-78.
14. Corvilain B, van Sande J, Laurent E, Dumont JE. The H2O2-generating system modulates protein iodination and the activity of the pentose phosphate pathway in dog thyroid. Endocrinology 1991; 128(2): 779-85.
15. Cen D, Brayton D, Shahandeh B, Meyskens FL Jr, Farmer PJ. Disulfiram facilitates intracellular Cu uptake and induces apoptosis in human melanoma cells. J Med Chem 2004; 47(27): 6914-20.
16. Starling AP, East JM, Lee AG. Stimulation of the Ca(2+)-ATPase of sarcoplasmic reticulum by disulfiram. Biochem J 1996;320(Pt 1):101-5.

Original Article

The Effect of Disulfiram on Serum Levels of Hormones in the Pituitary-Thyroid in Adult Male Rats

S.E. Hosseini, Ph.D.*

Received: 14.5.2012 Accepted: 9.10.2012

Abstract

Introduction & Objective: Disulfiram is used for treatment of alcohol intoxication.Based on the results of different studies, excessive amounts of the drug can affect the body's endocrine function. This study investigated the effect of disulfiram on the activity of the pituitary - thyroid in adult male rats.

Materials & Methods: In this study 50 adult male Wistar rats weighing approximately 200 to 220 g were used in the experimental, control and intact groups. Experimental groups received 50, 100 and 200 mg/kg oral doses of disulfiram for 10 days and control group received 1 ml saline for 10 days and intact groups did not receive any thing. At the end of the tenth day ,the rats were bled from the heart and T_3, T_4 and TSH hormones were measured by commercial kits Gama Counter and the results were analyzed using one-way (ANOVA) with SPSS version 18.

Results: Results show that there was no significant changes in T_4 plasma level, but T_3 and TSH level increased significantly when the control and intact groups were compared.

Conclusion: Disulfiram had no significant effect in T_4 plasma level but T_3 and TSH level increased significantly. It probably happened due to increasing serotonin and reducing somatostatine and also enhancing the activity of 5-Deiodinase enzymes following the entry of calcium ions into the cells.

(Sci J Hamadan Univ Med Sci 2013; 19 (4):43-47)

Keywords: Disulfiram / Hormones / Rats

---

* Associate Professor, Department of Biology, Science & Research Branch
Islamic Azad University, Fars, Iran. (ebrahim.hossini@yahoo.com)