١١٣٣١٥

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی استان کرمان
دانشکده داروسازی و علوم دارویی
مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان :

# تعیین اثر مهارکنندگی تیروزیناز و آنتی اکسیدان عصاره متانولی پنج گیاه دارویی به روش برون تنی

توسط:
سید رضا گلدوزیان

به راهنمایی :
دکتر پیام خزائلی
دکتر فریبا شریفی فر

۱۳۸۸/۳/۱۷

پاییز ۸۷ شماره پایان نامه:۵۱۴

اطلاعات مدارک علمی ایران
تهیه مدارک

۱۱۳۳۱۰

تقدیم به بهترین های زندگیم

پدر، مادر، خواهر و برادرم

خوبان بی پیرایه ای که ترجمان خاکی عشق آسمانی اند.

**با تقدیر و تشکر از اساتید ارجمند**

سرکار خانم دکتر فریبا شریفی فر، جناب آقای دکتر پیام خزائلی

به پاس تمامی زحمات بی دریغشان که در تنظیم و تدوین این پژوهش مرا یاری نمودند .

**با تشکر فراوان از**

آقای دکتر عباس پرداختی ، خانم دکتر میترا مهربانی

خانم دکتر سیمین میمندی، آقای دکتر محمد حسن مصحفی

**و با سپاس از**

خانم مهدوی و آقایان پور همت و بصیر

**و به یاد تمامی دوستان عزیزم**

ورودی ۸۱ دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمان

به امید تحقق آرزوهایشان ....

## خلاصه

مقدمه و هدف: از عوارض افزایش سنتز و توزیع اپیدرمال ملانین ایجاد تیرگی و لکه های پوستی می باشد که نیاز به پیشگیری و درمان دارد. یکی از راههای درمان در این خصوص مهار آنزیم تیروزیناز می باشد که نقش کلیدی در بیوسنتز ملانین دارد. از سویی استرس های اکسیداتیو با افزایش تولید گونه های واکنشگر اکسیژنROS و دیگر رادیکال های آزاد، بیوسنتز ملانین را افزایش داده و باعث القای تکثیر ملانوسیت ها می گردند. بنابراین ترکیبات آنتی اکسیدان و زداینده های ROS باعث کاهش پیگمانتاسیون پوست می گردند. با توجه به عوارض داروهای شیمیایی و اقبال عمومی به داروهای طبیعی تحقیق جهت جستجوی گیاهان در این زمینه مورد توجه قرار گرفته است.

مواد و روش ها: در این تحقیق پنج گیاه اسطوخودوس*Lavandula stoechas*، مازو *Querqus infectoria* ، ریواس *Rheum palmatum* , هلیله کابلی*Terminalia chebula* ،پونه Mentha pulegium با متانول عصاره گیری شده،به روش فریز دراییِنگ خشک شد و آزمایشات زیر روی آنها انجام شد.

۱-سنجش اثر مهار کنندگی تیروزیناز: الف) فعالیت تیروزیناز با سوبسترای تیروزین: مهار فعالیت آنزیم تیروزیناز با روش اسپکتروفوتومتری سنجیده می شود. ابتدا مخلوط ۰/۵ میلی لیتر از عصاره گیاهی به ۷۰ واحد تیروزیناز ماشروم اضافه شده و بعداز مخلوط کردن ۰/۵ میلی لیتر تیروزین با غلظت ۰/۱ میکروگرم / میلی لیتر ، ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۰/۰۵ مولار (با PH= ۶/۸) اضافه می شود. مخلوط تهیه شده به مدت ۱۰ دقیقه در حرارت ۳۷ درجه انکوبه میزان جذب نوری آن در ۴۷۵ نانومتر تعیین گردید. تمامی اجزاء مخلوط فوق بدون عصاره به عنوان کنترل مورد استفاده قرار گرفت. ($IC_{50}$)، غلظتی از عصاره که در آن فعالیت آنزیمی ۵۰٪ مهار می گردد برای هرکدام از عصاره های گیاهی تعیین گردید.

ب) مهار اتواکسیداسیون دوپا: در ابتدا ۰/۲۹ میلی لیتر از محلول ۴/۵ میلی مولار L- دوپا (سوبسترای تیروزیناز)، با ۰/۳ میلی لیتر از بافر فسفات ۰/۰۵ مولار (PH =۶/۸) مخلوط و در دمای ۲۵ درجه به مدت ۱۰ دقیقه نگهداری گردید. ۰/۳ میلی لیتر از هر غلظت عصاره ی تهیه شده به این مخلوط اضافه و در نهایت ۰/۰۱ میلی لیتر از محلول ۴۰۰۰ واحد/ میلی لیتر تیروزیناز ماشروم به نمونه اضافه شد. میزان جذب نوری در طول موج ۴۷۵ نانومتر تعیین گردید. غلظتی از عصاره که در آن فعالیت آنزیمی ۵۰٪ مهار می گردد برای هرکدام از عصاره های گیاهی تعیین گردید.۲) ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدان گیاه: الف) تست رنگ بری بتا کاروتن ب) مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH .

نتایج: در تست مهار تیروزیناز به کمک سوبسترای تیروزین بیشترین اثر مهاری از عصاره فریز درای شده مازو و هلیله کابلی با $IC_{50}$ به ترتیب برابر ۷/۲۵ و۱۴/۴۲در مقایسه با $IC_{50}$ کوجیک اسید ۲/۵۵ محاسبه گردید.در اکسیداسیون دوپا نیز بیشترین اثر مهار تیروزیناز مربوط به دو عصاره فریز درای شده مازو و هلیله کابلی با $IC_{50}$ به ترتیب برابر ۱۰۲/۷۶و۶۲/۱۰۲ بوده است. این دو گیاه بیشترین اثر مهاری رادیکال DPPH را با $IC_{50}$ به ترتیب برابر ۰/۰۱۵ و ۰/۰۸۲ داشتند.

نتیجه گیری: با توجه به اثر مهار کنندگی آنزیم تیروزیناز و فعالیت آنتی اکسیدانتی دو گیاه مازو و هلیله کابلی، این دو گیاه می توانند به عنوان ترکیبات مؤثر مهارکننده تیروزیناز به تنهایی یا همراه با سایر عصاره های گیاهی مورد توجه قرار گیرند.

لغات کلیدی : تیروزیناز، ملانین، گیاه،عصاره

## *Abstract*

Introduction: Pigmentation of skin is one of the most adverse effects of increase in synthesis and distribution of epidermal melanin which needs prevention and curing.Inhibition of Tyrosinase is one of the options in this field which has important role in melanin biosynthesis.Furthermore oxidative stress by increasing in reactive oxygen species(ROS) and other free radicals induct the melanocyte proliferation and melanin synthesis.Antioxidants and ROS scavengers cause hypopigmentation of skin and considering the adverse effects of synthetic drugs,research for natural products is desired.

Materials And Methods: In the present study five plants including *Lavandula stoechas, Querqus infectoria, Rheum palmatum, Terminalia chebula, Mentha pulegium* were extracted with methanol, freeze dried and following experiments were done on these extracts:1-Evaluation of Tyrosinase inhibition: a)Inhibition of tyrosinase activity with L-Tyrosine substrate: Tyrosinase activity is determined by spectrophotometry.The test reaction mixture was prepared by adding 0.5 ml of each plant extract,to which 70 unit of mushroom tyrosinase had been added, to 0.5 ml of 0.1 mg $ml^{-1}$ L-tyrosine and 0.5 ml of 0.05 mM sodium phosphate buffer (PH=6.8). The test mixture was incubated for 10 min at 37°C and the absorption at 475 nm was measured. The same mixture but without the plant extract was used as the control. The $IC_{50}$,the concentration of plant extract at which half the original activity is inhibited, was determined for each plant extract. b)Inhibition of DOPA auto-oxidation: First, 0.29 ml of 4.5 mM L-DOPA(the substrate for tyrosinase) was mixied with 0.3 ml of 0.05 0.05 mM phosphate buffer (PH=6.8) and incubated at 25°C for

10 min. Then, 0.3 ml of each extract was added to the mixture, followed by adding 0.01 ml of 4000 unit/ml of mushroom tyrosinase.The absorption at 475 nm was measured. The concentration of plant extract at which half the original tyrosinase activity is inhibited($IC_{50}$),was determined for each plant. 2- Evaluation of anti-oxidative activity: a) Beta carotene bleaching b) DPPH free radical scavenging activity.

Results:In tyrosinase inhibition by L-tyrosine substrate, freeze dried extracts of *Q.infectoria* and *T.chebula* showed the most activity with $IC_{50}$=7.25 , 14.42 respectively in comparison to Kojic Acid( $IC_{50}$=2.55).Dopa oxidation was inhibited freeze dried extract of *Q.infectoria* and *T.chebula* by $IC_{50}$= 102.76 , 192.62 .These two extracts showed also the most inhibition activity in DPPH assay with $IC_{50}$= 0.015 , 0.082 .

Conclusion:By considering the tyrosinase inhibitory and antioxidant activity of Q.infectoria and T.chebula it can be conclude that these two plants can be considered as effective tyrosinase inhibitors alone or in combination with other plant extracts.

Key Words: Tyrosinase, melanin, plant,extract

# فهرست مطالب

عنوان صفحه

خلاصه فارسی..... I

خلاصه انگلیسی..... III

فصل اول : مقدمه

۱-۱- پیش گفتار و هدف..... ۲

۱-۲- رنگ پوست..... ۳

۱-۳- پرتو فرابنفش خورشید و رنگ پوست..... ۴

۱-۴- بیماری های مرتبط با دپیگمانتاسیون پوستی..... ۷

۱ -۴-۱-ملاسما..... ۷

۱-۴-۲- کک و مک ..... ۸

۱-۴-۳- هیپرپیگمانتاسیون پس از التهاب..... ۸

۱-۴-۴- تیرگی زیر چشم..... ۹

۱-۵- مهارکننده های تیروزیناز ..... ۱۰

۱-۵-۱- هیدروکینون..... ۱۰

۱-۵-۲- آربوتین ..... ۱۱

۱-۵-۳- Kojic Acid کوجیک اسید ..... ۱۲

۱-۵-۴- عصاره شیرین بیان (Licorice Extract) ..... ۱۲

۱-۵-۵- ویتامین E..... ۱۳

۱-۵-۶- عوامل ضدملانوسیت..... ۱۳

۱-۵-۷- آلفا هیدروکسی و بتا هیدروکسی اسیدها..... ۱۴

عنوان صفحه

۱-۵-۸- لایه برداری با رزورسینول Resorcinol peels ..... ۱۴
۱-۵-۹- ویتامین C ..... ۱۵
۱-۵-۱۰- سویا Soy ..... ۱۵
۱-۵-۱۱- ترتینوئین ..... ۱۵
۱-۶- رادیکالهای آزاد اکسیژن ..... ۱۶
۱-۷- روش های ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانتی ..... ۱۷
۱-۷-۱- روش آمونیم تیوسیانات Ammonium thiocyanate method ..... ۱۶
۱-۷-۲- TBAR ASSAY (روش thiobarbituric acid) ..... ۱۷
۱-۷-۳- بررسی فعالیت آنتی اکسیدان بافت های گیاهی به وسیله اندازه گیری کیفی آنزیم پراکسیداز ..... ۱۷
۱-۷-۴- تست غربالگری آنتی اکسیدان با روش بی رنگ کنندگی بتاکاروتن ..... ۱۸
۱-۷-۵- ارزیابی فعالیت ضد رادیکال آزاد ..... ۱۸
۱-۸- روش های ارزیابی قدرت ضدهیپرپیگمانتاسیون ترکیبات ..... ۱۸
۱-۸-۱- بررسی مهارآنزیم تیروزنیاز به کمک سوبسترای L- تیروزین ..... ۱۸
۱-۸-۲- مهار اتواکسیداسیون دوپا ..... ۱۹
۱-۹- مشخصات گیاه شناسی ..... ۲۰
۱-۹-۱- گیاه ریارب *Rheum palmatum* ..... ۲۰
۱-۹-۱-۱- مشخصات کلی گیاه و محل رویش ..... ۲۰
۱-۹-۱-۲- اندام دارویی و ترکیبات شیمیایی ..... ۲۰
۱-۹-۱-۳- خواص درمانی ..... ۲۱

عنوان صفحه

۱-۹-۲- هلیله کابلی «*Terminalia chebula*» ..... ۲۱
۱-۹-۲-۱- مشخصات کلی گیاه و محل رویش ..... ۲۲
۱-۹-۲-۲- اندام دارویی و ترکیبات شیمیایی ..... ۲۲
۱- ۹-۲-۳- خواص درمانی ..... ۲۲
۱-۹-۳- اسطوخودوس« *Lavandula stoechas*» ..... ۲۳
۱-۹-۳-۱- مشخصات کلی گیاه و محل رویش ..... ۲۳
۱-۹-۳-۲- اندام دارویی و ترکیبات شیمیایی ..... ۲۴
۱-۹-۳-۳- خواص درمانی ..... ۲۴
۱-۹-۴- «مازو *Querqus infectoria*» ..... ۲۴
۱-۹-۴-۱- ترکیبات شیمیایی ..... ۲۵
۱-۹-۴-۲- موارد استعمال ..... ۲۵
۱-۹-۴-۳- موارد استعمال در پزشکی سنتی ..... ۲۶
۱-۹-۵- پونه *Mentha pulegium* ..... ۲۶
۱-۹-۵-۱- مشخصات کلی گیاه و محل رویش ..... ۲۶
۱-۹-۵-۲-اندام دارویی و ترکیبات شیمیایی ..... ۲۷
۱-۹-۵-۳-خواص درمانی ..... ۲۷

## فصل دوم : مواد ، دستگاهها و روش ها

۲-۱- مواد مورد استفاده ..... ۲۹
۲-۲- دستگاه های مورد استفاده ..... ۳۰
۲-۳- وسایل مورد استفاده ..... ۳۱

عنوان صفحه

۲-۴- تهیه نمونه گیاهی ..... ۳۲
۲-۵- عصاره گیری..... ۳۲
۲-۶-تعیین فعالیت آنتی اکسیدانتی عصاره های گیاهی تست DPPH..... ۳۳
۲-۷ تعیین میزان مهارآنزیم تیروزنیاز با استفاده سوبسترای L- تیروزین ..... ۳۵
۲-۸- تعیین میزان مهار فعالیت آنزیم تیروزیناز با استفاده از تست مهاراتواکسیداسیون L- دوپا..... ۳۵
۲-۹- آنالیز آماری نتایج ..... ۳۷

## فصل سوم:نتایج

۳-۱-نتایج بدست آمده از عصاره گیری..... ۳۹
۳-۲-نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنتی اکسیدان ..... ۳۹
۳-۲-۱-بررسی فعالیت آنتی اکسیدان با روش بیرنگ کنندگی بتاکاروتن ..... ۳۹
۳-۲-۲- بررسی فعالیت آنتی اکسیدان با روش DPPH ..... ۳۹
۳-۳- نتایج حاصل از بررسی اثر مهار کنندگی فعالیت آنزیم تیروزیناز ..... ۴۴
۳-۳-۱- بررسی اثر مهار کنندگی آنزیم تیروزیناز با استفاده از سوبسترای L- تیروزین ..... ۴۴
۳-۳-۲- بررسی اثر مهار کنندگی آنزیم تیروزیناز در تست مهار اتواکسیداسیون L- دوپا..... ۴۴
۳-۴- محاسبه میزان $IC_{50}$ برای عصاره های مناتولی گیاهان مورد آزمایش در تست های انجام گرفته ..... ۴۷
۳-۵- مقایسه اثر مهار کنندگی رادیکال DPPH عصاره های تام و لیوفیلیزه گیاه مازو در مقایسه با شاهد BHT ..... ۴۸
۳-۶- مقایسه اثر مهار کنندگی رادیکال DPPH عصاره های تام و لیوفیلیزه گیاه هلیله کابلی در مقایسه با شاهد BHT ..... ۴۹

عنوان صفحه

۳-۷- مقایسه اثر مهار کنندگی آنزیم تیروزیناز عصاره متانولی (لیوفیلیزه ) گیاه مازو در مقایسه با کوجیک اسید در تست مهار هیدروکسیلاسیون تیروزین..... ۵۰

۳-۸- مقایسه اثر مهار کنندگی آنزیم تیروزیناز عصاره متانولی (لیوفیلیزه ) گیاه هلیله کابلی در مقایسه با کوجیک اسید در تست مهار هیدروکسیلاسیون تیروزین .....۵۱

۳-۹- مقایسه اثر مهار کنندگی آنزیم تیروزیناز عصاره متانولی (لیوفیلیزه ) گیاه مازو در مقایسه با کوجیک اسید در تست مهار اتواکسیداسیون دوپا .....۵۲

۳-۱۰- مقایسه اثر مهار کنندگی آنزیم تیروزیناز عصاره متانولی (لیوفیلیزه ) گیاه هلیله کابلی در مقایسه با کوجیک اسید در تست مهار اتواکسیداسیون دوپا .....۵۲

فصل چهارم : نتیجه گیری

نتیجه گیری..... ۵۵

فصل پنجم : منابع

منابع ..... ۶۰

فصل ششم :ضمائم

ضمائم..... ۶۵

# فصل اول

## مقدمه

## ۱-۱-پیش گفتار و هدف

پوست یکی از ارگان های ظاهری بدن است که نقش فیزیولوژیکی مهمی را هم در مردان و هم در زنان بر عهده دارد. پیگمانتاسیون پوست منشأ ایجاد اختلالات روانی مهمی به شمار می رود(۱). ملانین علت اصلی تیرگی پوست بوده و تولید آن در زیر پوست از طریق مکانیسم رادیکال های آزاد صورت می گیرد و اشعه **UV** این واکنش زنجیره ای را تسریع می نماید . تیروزیناز آنزیم اساسی در ایجاد پیگمانتاسیون در پستانداران، گیاهان ، میکروارگانیسم ها و قارچ ها محسوب می شود، لذا مهارکننده های تیروزیناز در صنایع آرایشی به دلیل ایجاد اثر سفیدکنندگی مورد توجه زیادی قرار گرفته اند. تیروزیناز ( مونوفنل مونواکسیژناز) یا پلی فنل اکسیداز یک آنزیم مونواکسیژناز حاوی مس می باشد و قادر به کاتالیز کردن دو واکنش هیدروکسیلاسیون تیروزین به ارتودی فنل ( فعالیت مونوفنلاز ) و اکسیداسیون ارتودی فنل به ارتوکینون( فعالیت دی فنلاز) می باشد. مرحله اخیر منجر به تولید یک ماده واسطه بسیار واکنشگر شده که خود طی اکسیداسیون بدون واسطه ی رادیکالهای آزاد منجر به تولید ملانین می گرد.پیگمان ملانین توسط ملانوسیتها در سلولهای بازال اپیدرم ترشح می شود و در پوست انسان به عنوان یک مکانیسم دفاعی مهم در مقابل اشعه ماورابنفش خورشید عمل می کند(۲). افزایش تولید ملانین ممکن است ناشی از ملاسما، اختلالات کبدی و یا بیماریهای دیگر نیز باشد(۳). بیوسنتز ملانین را می توان با اجتناب از در معرض قرار گرفتن اشعه **UV** ، مهار متابولیسم و تکثیر ملانوسیتها(۴) ، مهار تیروزیناز و حذف ملانین از طریق پیلینگ مهار نمود(۵). ترکیبات آنتی اکسیدان و زداینده **ROS** ها باعث کاهش پیگمانتاسیون پوست میگردند(۶).وجود ترکیباتی از دسته فلاونوئیدها، ترکیبات پلی فنل و کاتشینها که به عنوان عوامل آنتی اکسیدان شناخته شده اند در منابع گیاهی با مهار اکسیداسیون مرحله دوم فعالیت تیروزیناز می توانند تولید ملانین را کاهش دهند. در این تحقیق پنج گیاه دارویی که در منابع سنتی و یا در پزشکی محلی به عنوان ضد لک توصیه شده اند و در منابع معتبر مقادیر قابل توجهی از

ترکیبات فنلی مانند فلاونوئیدها، کاتشین ها و یا اسیدهای فنلیک در آنها گزارش شده است از نظر فعالیت مهارکنندگی آنزیم تیروزیناز به صورت برون تنی مورد ارزیابی و مطالعه قرار گرفته اند. این گیاهان عبارتند از: هلیله کابلی *(Terminalia chebula)* که به خواص آنتی اکسیدان، آنتی دیابتیک، محافظت کننده کبد و محافظ اشعه آن اشاره شده است(۷،۸،۹و۱۰) اسطوخودوس *(Lavandula stoechas)* که خواص ضد باکتری، ضد قارچ، آرام بخش، ضد افسردگی ، التیام بخش سوختگیها و نیش حشرات آن مورد تحقیق قرار گرفته است(۱۱). ریارب *(Rheum palmatum)* که منبع غنی از پلی فنلها بوده و دارای اثر ضد التهاب و ضد سرطان می باشد(۱۱). مازو که از *(Quercus infectoria)* به دست می آید و دارای خاصیت قابض، ضدعفونی کننده و التیام بخش در درمان ترک والتهابات پوستی بوده و حاوی مقدار قابل توجهی پلی فنل می باشد(۱۲) و پونه *(Mentha pulegium)* که با داشتن مجموعه ترکیبات فلاونوئید و پلی فنلی(۱۳) در طب بومی برای برطرف کردن لکه های پوستی توصیه شده است.

## ۱-۲- رنگ پوست

رنگ پوست نتیجه تجمع ملانین محتوی ملانوزوم ها که توسط ملانوسیت ها تولید می شوند، و انتقال آنها به داخل کراتینوسیت های موجود در اپیدرم و تبدیلات بعدی آنها می باشد. در افراد با پوست تیره ملانوسیت ها ملانین بیشتری تولید می کنند، ملانوزوم ها بزرگ ترند، ملانین ها با شدت بیشتری تجمع می یابند و متحمل تجزیه با سرعت کمتری نسبت به افراد با پوست روشن می گردند(۱۴).

ملانین توسط هیدروکسیلاسیون ملانین به ۳و۴- دی هیدروکسی فنیل آلانین (Dopa) با استفاده از آنزیم تیروزیناز که بعداً دوپا را به دوپاکینون اکسید می کند، تشکیل می شود(۱۴،۱۵).

پس از ساخته شدن ملانین های محتوی ملانوزوم ها ، آنها با استفاده از فیبریل های v میوزین ویک عامل محرک ( دینئین ) به نوک دندریت های ملانوسیت ها انتقال یافته و هر ملانوسیت مرتبط با کراتینوسیت های مجاور تشکیل واحد اپیدرمی ملانین "epidermal melanin unit" را می دهند.

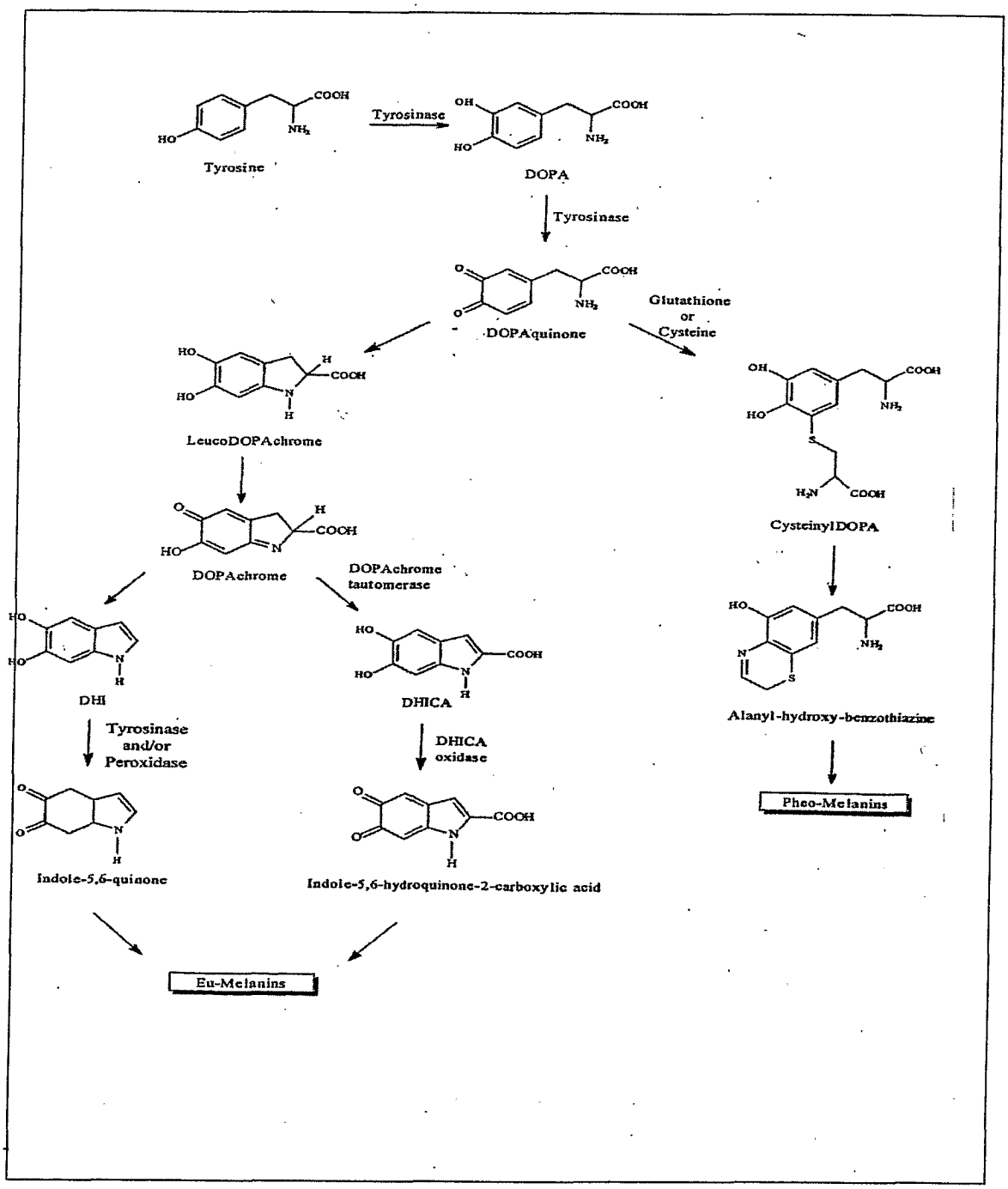
سپس ملانین داخل ملانوسیت ها به بقیه ی کراتینوسیت های واحد اپیدرمی ملانین و یا به درم با مکانیسمی که هنوز به طور کامل شناخته نشده است ملحق می شود(۱۴). مکانیسم های متعددی برای انتقال ملانین به کراتینوسیت.های مجاور پیشنهاد شده است . اولین مکانیسم فاگوسیتوز می باشد . پس از تخریب ملانوسیت ها در لایه ی بازال، ملانین به داخل درم آزاد می شود و سپس توسط ملانوفاژها فاگوسیته می گردد. مکانیسم پیشنهادی دیگر برای انتقال ملانین اندوسیتوز می باشد. در این فرآیند ملانوسیت ها مستقیماً به داخل فضاهای بین سلولی به دنبال اندوسیتوز تخلیه می شوند. فرضیه ی آخر معتقد به انتقال ملانین به وسیله ی پیوند سطح کراتینوسیت – ملانوسیت می باشد(۱۴،۱۶).هر چند روند دقیق انتقال ملانین به طور دقیق شناخته نشده است ، یافته های جدیدی به سرعت در این رابطه به دست می آید . برای مثال سیبرگ(seiberg) و همکارانش کشف کردند که گیرنده فعال شده ی پروتئاز ۲ (PAR-2) – که بر روی کراتینوسیت ها و نه بر روی ملانوسیت ها مشخص است – در تنظیم دریافت ملانوزوم ها به وسیله ی کراتینوسیت ها در محیط کشت اهمیت دارد. PAR-2 یک گیرنده ی G - پروتئین جفت شده است که توسط یک سرین پروتئاز فعال می شود. تصور می شود که این ترکیب در اختلالات هیپرپیگمانتاسیون حائز اهمیت است(۱۴)،

## ۱-۳- پرتو فرابنفش خورشید و رنگ پوست

پرتو فرابنفش (UV) یک عامل محیطی مهم است که می تواند صدمه رساننده به پوست نیز باشد. زمانی که پوست در معرض نور UV قرار می گیرد، تولید ملانین (melanogenesis) یا برنزه شدن (Tanning) اتفاق می افتد که یک سد دفاعی بزرگ در مقابل آسیب ناشی از اشعه UV را فراهم می کند . این تیره شدن پوست زمانی که اشعهUV در واحدهای ملانین اپیدرمی در معرض تابش به عنوان ماده فعال کننده عمل می کند، اتفاق می افتد(۱۴و۱۷). به دنبال این روند، ملانوسیت هایی که فعالانه به تولید ملانین می پردازند و نیز انتقال ملانوزوم ها از ملانوسیت ها به کراتینوسیت ها افزایش می یابد.

نتیجه ی این افزایش ملانین ، جذب اشعه های UV و رادیکال های آزاد تولید شده ازUV است ،و از این رو محافظت در مقابل صدمه ی بیشتر اشعه ی UV اتفاق می افتد.تحقیق انجام شده توسط گیل کرست (Gil crest) و همکارانش ثابت کرد که واسطه های ناشی از تخریب و یا بازسازی DNA می توانند تولید ملانین را حتی در غیاب نور تحریک کنند. در واقع، اجزاء کوچک ناشی از گسستگی DNA مثل تیمیدین دینوسلئوتیدها (pTpT) زمانی که به صورت موضعی در پوست سالم استفاده می شوند می توانند برنزه شدن پوست را تحریک کنند.

مطالعات ثابت کرده است که pTpT می تواند سایر پاسخ های محافظتی در مقابل نور را القا کند.روند سنتز ملانین در سلولهای پوستی در شکل ۱-۱ آمده است(۱۴).




شکل ۱-۱-مسیر بیو سنتز ملانین در سلولهای پوستی(۱۴)

## ۱-۴- بیماری های مرتبط با دپیگمانتاسیون پوستی

### ۱-۴-۱-ملاسما

ملاسما که با اسم کلوآسما (cloasma) و یا ماسک حاملگی نیز از آن نام برده می شود نوعی اختلال رنگدانه پوستی است که معمولاً در زنان باردار دیده می شود. در این اختلال مزمن لکه های پوستی به رنگ قهوه ای روشن تا قهوه ای تیره معمولاً بر روی لب بالایی، بینی، گونه ها، چانه، پیشانی و بعضی مواقع گردن دیده می شود(۱۸).

هر چند علل مختلفی برای ایجاد آن تاکنون ذکر شده است ولی به نظر می رسد استروژن و اشعه فرابنفش بیشترین نقش را در ایجاد آن بر عهده دارند. اینکه چطور میزان استروژن در ایجاد ملاسما نقش دارد ناشناخته است . با این حال، مطالعات اخیر نشان می دهد که استرادیول ها نقش مهمی در اتیولوژی ملاسما بر عهده دارند. B-17 استرادیول به طور مشخص باعث افزایش فعالیت تیروزیناز در زمانی که به محیط کشت حاوی ملانوسیت ها افزوده می شود می گردد(۱۴).

در ملاسمای اپیدرمی که به رنگ قهوه ای ظاهر می شود، لایه های بازال و سوپرابازال دارای مقادیر بیشتر از حد طبیعی ملانین می باشند که در سرتاسر اپیدرم حضور دارند. در ملاسمای درمی که به رنگ آبی کبود تظاهر می یابد، ملانین های انباشته از ماکروفاژها در اطراف عروق خونی لایه های سطحی و میانی درم استقرار می یابند(۱۴و۱۸).

تنها ملاسمای نوع اپیدرمی می تواند درمان گردد. یک درمان اصولی شامل به تأخیر انداختن تکثیر ملانوسیت ها، جلوگیری از تشکیل ملانوزوم ها و افزایش تجزیه ی ملانوزوم ها می باشد. درمان های انتخابی باید همراه با استفاده از یک ضد آفتاب با SPF مناسب حاوی عامل محافظتی UVA و نیز اجتناب از تماس با نور خورشید باشند. ضد آفتاب مربوطه بایستی در طول شبانه روز استفاده گردد(۱۴).