Original Article

Effects of Quinic Acid and Syringic Acid on Tissue IL-36α Expression in an Acetic Acid-Induced Ulcerative Colitis Model

10.66224/ismj.29.2.79

Nader Bagheri [1], Maryam Safavi [2], Maryam Ghasemi Dehnoo [3], Mahmoud Rafieian Kopaei [4], Fatemeh Azadegan Dehkordi [5*]

[1] Clinical Biochemistry Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
[2] Cancer Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
[3] Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran
[4] Medical Plants Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
[5] Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Abstract

Background: Ulcerative colitis (UC) is a chronic inflammatory disease of the colon characterized by excessive production of pro-inflammatory cytokines and progressive mucosal damage. IL-36α, a member of the IL-1 cytokine family, plays an important role in amplifying inflammatory responses. This study aimed to investigate the effects of quinic acid (QA) and syringic acid (SA) on IL-36α levels in an experimental model of UC.

Materials and Methods: UC was induced in male Wistar rats by intrarectal administration of 4% acetic acid. The animals were divided into control, colitis, dexamethasone-treated, QA-treated (10, 30, 60, and 100 mg/kg), and SA-treated (10, 25, and 50 mg/kg) groups. After 7 days of treatment, IL-36α levels in colon tissue were measured using ELISA.

Results: Induction of UC significantly increased IL-36α levels from 106.9 ± 8.69 pg/mL in the control group to 420.6 ± 59.50 pg/mL in the colitis group ($P < 0.0001$). Dexamethasone significantly reduced IL-36α levels to 108.7 ± 12.18 pg/mL ($P < 0.0001$). QA treatment resulted in a dose-dependent reduction in IL-36α levels, with values of 390.2 ± 47.72, 332.3 ± 72.49, 232.5 ± 60.57, and 170.7 ± 24.01 pg/mL at 10, 30, 60, and 100 mg/kg, respectively. Similarly, SA significantly decreased IL-36α levels to 355.4 ± 52.43, 306.8 ± 77.06, and 183.0 ± 33.70 pg/mL at 10, 25, and 50 mg/kg, respectively ($P = 0.04$, $P=0.0001$, and $P<0.0001$).

Conclusion: Both QA and SA exert significant anti-inflammatory effects in experimental UC and may modulate inflammatory responses through reducing IL-36α levels.

Keywords:
Ulcerative colitis
IL-36α
quinic acid
syringic acid
intestinal inflammation

***Corresponding author**
Fatemeh Azadegan-Dehkordi
azadegan.f@skums.ac.ir

Ethical code
IR.SKUMS.AEC .1402 .056

Received: 2026/05/19
Accepted: 2026/07/14

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی بوشهر

S بر IL-36α/

مقاله پژوهشی

اثرات اسید کوئینیک و اسید سیرینجیک بر سطح بافتی IL-36α در مدل کولیت اولسراتیو القاشده با اسید استیک

CrossMarck

doi 10.66224/ismj.29.2.79

نادر باقری [۱]، مریم صفوی [۲]، مریم قاسمی دهنو [۳]، محمود رفیعیان‌کوپایی [۴]، فاطمه آزادگان دهکردی [۵*]

[۱] مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، مؤسسه علوم پایه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
[۲] مرکز تحقیقات سرطان، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
[۳] مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران
[۴] مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، مؤسسه علوم پایه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
[۵] مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، مؤسسه علوم پایه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

چکیده

زمینه: کولیت اولسراتیو (Ulcerative Colitis ،UC) یک بیماری التهابی مزمن روده بزرگ است که با افزایش سایتوکاین‌های التهابی و آسیب مخاطی مشخص می‌شود. IL-36α، از اعضای خانواده IL-1، در تقویت پاسخ‌های التهابی نقش دارد. این مطالعه با هدف بررسی اثر اسید کوئینیک (Quinic acid ،QA) و اسید سیرینجیک (Syringic acid ،SA) بر سطح IL-36α در مدل تجربی UC انجام شد.

مواد و روش‌ها: UC با اسید استیک ۴ درصد به‌صورت داخل رکتال در رت‌های نر ویستار القا شد. حیوانات به گروه‌های کنترل، کولیت، دگزامتازون و گروه‌های دریافت‌کننده QA با دوزهای ۱۰، ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و همچنین SA با دوزهای ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. پس از ۷ روز درمان، سطح IL-36α در بافت کولون با ELISA اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: القای UC موجب افزایش معنی‌دار IL-36α از ۸/۶۹ ± ۱۰۶/۹ پیکوگرم بر میلی‌لیتر در گروه کنترل به ۵۹/۵۰ ± ۴۲۰/۶ پیکوگرم بر میلی‌لیتر در گروه کولیت شد (P<۰/۰۰۰۱). درمان با دگزامتازون سطح IL-36α را به ۱۲/۱۸±۱۰۸/۷ پیکوگرم بر میلی‌لیتر کاهش داد (P<۰/۰۰۰۱). QA موجب کاهش وابسته به دوز IL-36α شد؛ به‌طوری‌که مقادیر آن در دوزهای ۱۰، ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌ترتیب: ۴۷/۷۲ ± ۳۹۰/۲، ۷۲/۴۹ ± ۳۳۲/۳، ۶۰/۵۷ ± ۲۳۲/۵ و ۲۴/۰۱ ± ۱۷۰/۷ پیکوگرم بر میلی‌لیتر رسید. SA نیز موجب کاهش معنی‌دار IL-36α در دوزهای ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌ترتیب: ۵۲/۴۳ ± ۳۵۵/۴، ۷۷/۰۶ ± ۳۰۶/۸ و ۳۳/۷۰ ± ۱۸۳/۰ پیکوگرم بر میلی‌لیتر شد (P=۰/۰۴، P=۰/۰۰۰۱ و P<۰/۰۰۰۱).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد هر دو ترکیب QA و SA دارای اثر ضدالتهابی قابل توجهی در مدل UC هستند و می‌توانند از طریق کاهش سطح IL-36α در تعدیل پاسخ التهابی نقش داشته باشند.

واژگان کلیدی
کولیت اولسراتیو
IL-36α
اسید کوئینیک
اسید سیرینجیک
التهاب روده

***نویسنده مسئول**
فاطمه آزادگان دهکردی
azadegan.f@skums.ac.ir

کد اخلاق
IR.SKUMS.AEC .۱۴۰۲ .۰۵۶

پیام کلیدی: کاهش معنی‌دار IL-36α پس از درمان با QA و SA نشان‌دهنده ظرفیت ضدالتهابی این ترکیبات در بیماری‌های التهابی روده است.

دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۲۹
پذیرش: ۱۴۰۵/۰۴/۲۳

مقدمه

بیماری‌های التهابی روده (IBD: Inflammatory bowel disease) شامل کولیت اولسراتیو (UC: Ulcerative colitis) و بیماری کرون، گروهی از اختلالات مزمن و عودکننده دستگاه گوارش هستند که در اثر تعامل پیچیده عوامل ژنتیکی، محیطی، میکروبی و ایمنی ایجاد می‌شوند (۱ و ۲). در این بیماری‌ها، اختلال در تنظیم پاسخ ایمنی مخاطی منجر به فعال شدن بیش از حد سیستم ایمنی ذاتی و افزایش تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی می‌شود. در میان سایتوکاین‌های التهابی، خانواده IL-1 نقش کلیدی در تنظیم پاسخ ایمنی مخاطی ایفا می‌کند. IL-36α به‌عنوان یکی از اعضای این خانواده، در سال‌های اخیر به‌عنوان یکی از میانجی‌های کلیدی التهاب مخاطی روده معرفی شده است. مطالعات نشان داده‌اند که بیان IL-36α در بافت کولون بیماران مبتلا به UC و مدل‌های حیوانی کولیت به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد و نشان داده شده است که این مولکول از طریق فعال‌سازی مسیرهای NF-κB و MAPK منجر به افزایش تولید سایر سایتوکاین‌های التهابی مانند TNF-α و IL-6 می‌شود (۳ و ۴).

از سوی دیگر، استرس اکسیداتیو و عدم تعادل بین سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی و رادیکال‌های آزاد نقش کلیدی در تشدید آسیب بافتی در UC دارند. در این راستا، استفاده از ترکیبات طبیعی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی به‌عنوان رویکرد درمانی مکمل مورد توجه قرار گرفته است (۵).

اسید کوئینیک (QA: Quinic acid)، یک متابولیت حلقوی مشتق از مسیر شیکیمات در گیاهان، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و تعدیل‌کننده ایمنی است. مطالعات نشان داده‌اند که این ترکیب می‌تواند مسیر TLR4/NF-κB را مهار کرده و تولید سایتوکاین‌های التهابی را کاهش دهد (۶ و ۷). اسید سیرینجیک (SA: Syringic acid)، نیز یک ترکیب فنولی مشتق از متابولیسم گیاهی است که با فعال‌سازی مسیر Nrf2/HO-1 و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول، نقش کلیدی در کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب ایفا می‌کند (۸).

با وجود گزارش اثرات ضدالتهابی QA و SA، نقش آن‌ها در تعدیل محور IL-36α در UC هنوز به‌طور دقیق مشخص نشده است. بنابراین، هدف این مطالعه بررسی اثر دوزهای مختلف اسید کوئینیک و اسید سیرینجیک بر سطح پروتئین بافتی IL-36α به‌عنوان یکی از شاخص‌های التهابی در مدل حیوانی کولیت اولسراتیو القاشده با اسید استیک بود و نتایج حاصل صرفاً در چارچوب تغییرات این سایتوکاین تفسیر می‌شوند.

مواد و روش‌ها

طراحی مطالعه

این مطالعه از نوع تجربی- آزمایشگاهی بوده و بر روی بافت روده جدا شده از ۸۰ سر رت نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۴۰-۲۲۵ گرم انجام شد. حیوانات در شرایط استاندارد (دمای۲±۲۲ درجه، چرخه ۱۲ ساعت روشنایی/ تاریکی) نگهداری شدند. تمامی پروتکل‌ها مطابق دستورالعمل اخلاق در پژوهش حیوانی اجرا شد. حیوانات پس از ورود به مطالعه، به‌صورت تصادفی در گروه‌های مختلف تخصیص یافتند (۸ حیوان در هر گروه) تا احتمال بروز سوگیری کاهش یابد.

ملاحظات اخلاقی

کلیه مراحل انجام پژوهش مطابق دستورالعمل‌های کشوری و بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. پروتکل این مطالعه به تأیید کمیته اخلاق در پژوهش حیوانی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد با کد اخلاق ۰۵۶. ۱۴۰۲ . IR.SKUMS.AEC رسیده است. در تمامی مراحل تلاش شد تعداد حیوانات مورد استفاده به حداقل ممکن کاهش یافته و از ایجاد درد و رنج غیرضروری برای حیوانات جلوگیری شود. همچنین بیهوشی و

قربانی‌سازی حیوانات مطابق دستورالعمل‌های استاندارد آزمایشگاهی انجام گرفت.

القای کولیت

برای القای کولیت اولسراتیو، حیوانات ابتدا با تزریق داخل صفاقی ترکیب کتامین با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و زایلازین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تحت بیهوشی قرار گرفتند. پس از ایجاد بیهوشی مناسب، ۱ میلی‌لیتر اسید استیک ۴ درصد به صورت داخل رکتال در فاصله ۸ سانتی‌متری از آنوس تجویز شد. سپس حیوانات برای مدت کوتاهی در وضعیت سر پایین قرار گرفتند تا توزیع یکنواخت محلول در کولون انجام شود.

تجویز داروها و تیمار حیوانات

حیوانات به‌صورت تصادفی در ۱۰ گروه (۸ سر در هر گروه) تقسیم شدند. تعداد حیوانات هر گروه بر اساس مطالعات پیشین در مدل کولیت القا شده با اسید استیک و مطابق با نتایج و طراحی مطالعات انجام‌شده در پژوهش‌های قبلی گروه تحقیقاتی ما تعیین شد (۹ و ۱۰). در طول مطالعه هیچ‌گونه تلفات یا حذف نمونه‌ای وجود نداشت و تمامی حیوانات وارد شده تا پایان دوره آزمایش مورد ارزیابی قرار گرفتند.

گروه اول: به موش‌ها، به جای اسید استیک، ۱ میلی‌لیتر فسفات بافر سالین به‌طور مشابه تزریق شد.

گروه دوم: گروهی که کولیت در آن‌ها القا شد و نرمال سالین به‌صورت خوراکی به مدت یک هفته دریافت کردند.

گروه سوم: مبتلا به UC که دوز ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم دگزامتازون به‌صورت خوراکی به مدت یک هفته دریافت کردند.

گروه‌های چهارم تا ششم: مبتلا به UC که دوزهای ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم SA، به‌صورت خوراکی به مدت یک هفته دریافت کردند.

گروه‌های هفتم تا دهم: مبتلا به UC که دوزهای ۱۰، ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم QA، به‌صورت خوراکی به مدت یک هفته دریافت کردند. دوزهای مورد استفاده از QA و SA در این مطالعه بر اساس مقالات معتبر انتخاب شدند (۱۰ و ۱۱).

آماده‌سازی و استخراج بافت

در پایان دوره درمان، حیوانات قربانی شده و کولون آن‌ها خارج گردید. نمونه‌های بافتی بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شده و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای تهیه هموژنات بافت، ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت کولون وزن شد. سپس محلول هموژنیزاسیون با افزودن کوکتل مهارکننده پروتئاز (100X، Protease Inhibitor Cocktail) به PBS سرد، به نسبت ۱ میکرولیتر کوکتل در ۱۰۰۰ میکرولیتر PBS تهیه گردید. در ادامه، بافت به نسبت ۱:۱۰ (وزن به حجم؛ ۱۰۰ میلی‌گرم بافت در ۱ میلی‌لیتر از محلول هموژنیزاسیون) در این محلول سوسپانسه شده و با استفاده از هموژنایزر IKA T10 basic (Germany، IKA-Werke) هموژنیزه شد.

هموژنات حاصل به مدت ۱۵ دقیقه، با سرعت ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. پس از سانتریفیوژ، محلول رویی (سوپرناتانت) با دقت جمع‌آوری شده و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در نهایت، غلظت پروتئین نمونه‌ها با استفاده از روش برادفورد (Bradford assay) اندازه‌گیری شد و تمامی نمونه‌ها بر اساس غلظت پروتئین، همسان‌سازی (Normalization) شدند.

سنجش سطح پروتئین بافتی IL-36α به روش ELISA

در این مطالعه، ایزوفرم IL-36α به‌طور اختصاصی اندازه‌گیری شد. پس از استخراج پروتئین از بافت کولون و همسان‌سازی غلظت نمونه‌ها به روش برادفورد، سطح پروتئین بافتی IL-36α با استفاده از کیت ELISA(ZellBio ،Germany) و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد (۳

درصد>CV intra-assay و ۸ درصد> CV inter-assay) بدین منظور، نمونه‌ها و استانداردها به چاهک‌های ۹۶ خانه‌ای پوشش داده شده با آنتی‌بادی اختصاصی IL-36α اضافه شدند. پس از انکوباسیون و مراحل شستشو، آنتی‌بادی بیوتینیله و استرپتاویدین کونژوگه با آنزیم پراکسیداز ترب کوهی (HRP) افزوده شد. سپس سوبسترای تترامتیل‌بنزیدین (TMB) اضافه گردید و جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه ELISA Reader خوانده شد. غلظت IL-36α بر اساس منحنی استاندارد محاسبه گردید. داده‌های پژوهش از طریق اندازه‌گیری کمی سطح پروتئین بافتی IL-36α در نمونه‌های کولون جمع‌آوری شد و نتایج بر حسب پیکوگرم بر میلی‌لیتر بر اساس منحنی استاندارد محاسبه و ثبت گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

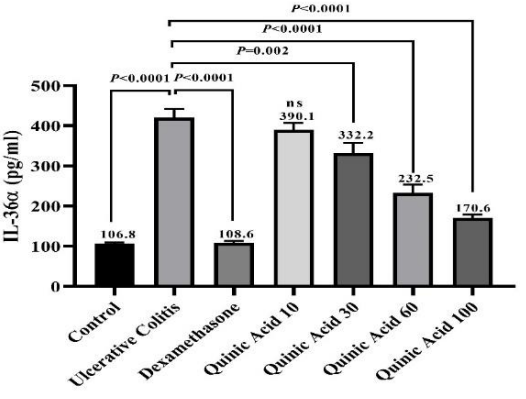
داده‌ها به‌صورت Mean ± SD گزارش شدند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukeyبرای مقایسه بین گروه‌ها انجام شد. مقدار P<۰/۰۵ به‌عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تغییرات سطح بافتی IL-36α در گروه‌های کنترل، کولیت و دگزامتازون

اندازه‌گیری سطح بافتی IL-36α نشان داد که القای کولیت اولسراتیو با اسید استیک موجب افزایش قابل توجه این سایتوکاین در بافت کولون گردید (شکل ۱). میانگین سطح از ۸/۶۹ ± ۱۰۶/۹ پیکوگرم بر میلی‌لیتر در گروه کنترل سالم به ۵۹/۵۰ ± ۴۲۰/۶ پیکوگرم بر میلی‌لیتر در گروه کولیت افزایش یافت که این اختلاف از نظر آماری بسیار معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۰۱).

در مقابل، درمان با دگزامتازون سطح IL-36α را به ۱۲/۱۸ ± ۱۰۸/۷ پیکوگرم بر میلی‌لیتر کاهش داد. این کاهش در مقایسه با گروه کولیت از نظر آماری بسیار معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۰۱) و مقادیر IL-36α را تقریباً به سطح گروه کنترل سالم بازگرداند.



شکل ۱: اثر اسید کوئینیک بر سطح بافتی IL-36α در مدل کولیت اولسراتیو القاشده با اسید استیک: سطح IL-36α در بافت کولون در گروه‌های کنترل، کولیت، دگزامتازون و گروه‌های دریافت‌کننده اسید کوئینیک با دوزهای ۱۰، ۳۰، ۶۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بررسی شد. در گروه کولیت، افزایش معنی‌دار سطح IL-36α مشاهده شد، در حالی‌که دگزامتازون و اسید کوئینیک موجب کاهش وابسته به دوز این شاخص شدند. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار (تعداد نمونه: ۸) ارائه شده‌اند. اختلافات آماری نسبت به گروه کولیت به‌ترتیب شامل غیرمعنی‌دار، P=۰/۰۰۲، P<۰/۰۰۰۱ و P<۰/۰۰۰۱ بود.

Fig 1. Effect of quinic acid on tissue IL-36α levels in an acetic acid-induced ulcerative colitis model: The tissue levels of IL-36α in the colon were evaluated in the control, colitis, dexamethasone, and quinic acid-treated groups at doses of 10, 30, 60, and 100 mg/kg. A significant increase in IL-36α levels was observed in the colitis group, whereas dexamethasone and quinic acid treatment resulted in a dose-dependent reduction of this marker. Data are presented as mean ± standard deviation (n=8). Statistical differences compared with the colitis group were as follows: not significant (ns), P=0.002, P<0.0001, P<0.0001.

اثر اسید کوئینیک بر سطح بافتی IL-36α

تجویز خوراکی اسید کوئینیک به مدت ۷ روز موجب کاهش وابسته به دوز سطح IL-36α در بافت کولون حیوانات مبتلا به کولیت شد (شکل ۱).

در گروه دریافت‌کننده ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسید کوئینیک، سطح IL-36α برابر با ۳۹۰/۲±۴۷/۷۲ پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود. اگرچه این مقدار نسبت به گروه کولیت کاهش نشان داد، اما اختلاف مشاهده شده از نظر آماری معنی‌دار نبود (ns).

در دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، میانگین سطح IL-36α به ۳۳۲/۳±۷۲/۴۹ پیکوگرم بر میلی‌لیتر کاهش یافت که در مقایسه با گروه کولیت کاهش معنی‌داری را نشان داد (P=۰/۰۰۲).

در دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سطح IL-36α به ۲۳۲/۵ ۶۰±/۵۷ پیکوگرم بر میلی‌لیتر رسید و کاهش بسیار معنی‌داری نسبت به گروه کولیت مشاهده شد (P<۰/۰۰۰۱).

بیشترین اثر مهاری در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده گردید؛ به‌طوری‌که سطح IL-36α به ۱۷۰/۷ ± ۲۴/۰۱ پیکوگرم بر میلی‌لیتر کاهش یافت که این اختلاف در مقایسه با گروه کولیت بسیار معنی‌دار بود (P<۰/۰۰۰۱).

به‌طور کلی، اسید کوئینیک موجب کاهش وابسته به دوز IL-36α شد (شکل ۱)، به‌گونه‌ای که با افزایش دوز از ۱۰ به ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، میانگین سطح این سایتوکاین از ۳۹۰/۲ به ۱۷۰/۷ پیکوگرم بر میلی‌لیتر کاهش یافت. این یافته‌ها نشان‌دهنده اثر ضدالتهابی قابل توجه اسید کوئینیک در مدل کولیت اولسراتیو است.

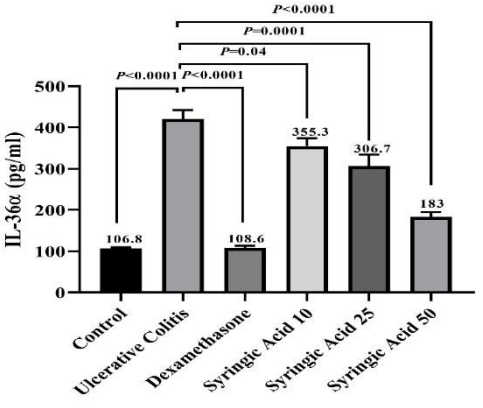
اثر اسید سیرینجیک بر سطح بافتی IL-36α

اسید سیرینجیک نیز باعث کاهش وابسته به دوز سطح IL-36α در بافت کولون گردید (شکل ۲).

در گروه دریافت‌کننده ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسید سیرینجیک، میانگین سطح IL-36α برابر با ۳۵۵/۴ ± ۵۲/۴۳ پیکوگرم بر میلی‌لیتر بود که در مقایسه با گروه کولیت، کاهش معنی‌داری نشان داد (P=۰/۰۴).

در دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سطح IL-36α به ۳۰۶/۸ ± ۷۷/۰۶ پیکوگرم بر میلی‌لیتر کاهش یافت که این کاهش در مقایسه با گروه کولیت از نظر آماری معنی‌دار بود (P=۰/۰۰۰۱).

در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، میانگین سطح IL-36α به ۱۸۳/۰ ± ۳۳/۷۰ پیکوگرم بر میلی‌لیتر رسید و در مقایسه با گروه کولیت، کاهش بسیار معنی‌داری مشاهده شد (P=۰/۰۰۰۱).



شکل ۲. اثر اسید سیرینجیک بر سطح بافتی IL-36α در مدل کولیت اولسراتیو القاشده با اسید استیک: سطح IL-36α در بافت کولون در گروه‌های کنترل، کولیت، دگزامتازون و گروه‌های دریافت‌کننده اسید سیرینجیک با دوزهای ۱۰، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اندازه‌گیری شد. کولیت موجب افزایش معنی‌دار سطح IL-36α شد، در حالی‌که اسید سیرینجیک این افزایش را به‌صورت وابسته به دوز کاهش داد. دگزامتازون به‌عنوان گروه مرجع استفاده شد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار (تعداد نمونه: ۸) گزارش شدند. سطوح معنی‌داری آماری نسبت به گروه کولیت به‌ترتیب شامل: P=۰/۰۴، P=۰/۰۰۰۱ و P<۰/۰۰۰۱ بود.

Fig 2. Effect of syringic acid on tissue IL-36α levels in an acetic acid-induced ulcerative colitis model: the tissue levels of IL-36α in the colon were measured in the control, colitis, dexamethasone, and syringic acid-treated groups at doses of 10, 25, and 50 mg/kg. Colitis significantly increased IL-36α levels, whereas syringic acid reduced this elevation in a dose-dependent manner. Dexamethasone was used as the reference treatment group. Data are presented as mean ± standard deviation (n=8). Statistical significance compared with the colitis group was as follows: P=0.04, P=0.0001, and P<0.0001.

مقایسه اثر اسید کوئینیک و اسید سیرینجیک

مقایسه دو ترکیب نشان داد که هر دو ماده موجب مهار افزایش ناشی از کولیت در سطح IL-36α شدند (شکل ۱ و ۲). در دوزهای پایین، اسید سیرینجیک اثر بیشتری نسبت به اسید کوئینیک نشان داد ۵۲/۴۳ ± ۳۵۵/۴ پیکوگرم بر میلی‌لیتر در برابر ۴۷/۷۲ ± ۳۹۰/۲ پیکوگرم بر میلی‌لیتر. در دوزهای بالاتر نیز هر دو ترکیب کاهش قابل توجهی در سطح IL-36α ایجاد کردند. کمترین مقدار IL-36α در میان گروه‌های تیمار شده مربوط به ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسید کوئینیک (۲۴/۰۱ ± ۱۷۰/۷ پیکوگرم بر میلی‌لیتر) بود، در حالی که ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اسید سیرینجیک سطح این سایتوکاین را به ۳۳/۷۰ ± ۱۸۳/۰ پیکوگرم بر میلی‌لیتر رساند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که هر دو ترکیب دارای ظرفیت قابل توجهی در کاهش پاسخ‌های التهابی مرتبط با کولیت اولسراتیو هستند.

بحث

در مطالعه حاضر، القای کولیت اولسراتیو با اسید استیک موجب افزایش معنی‌دار سطح بافتی IL-36α در کولون رت‌ها شد. این افزایش نشان‌دهنده فعال شدن پاسخ‌های ایمنی ذاتی و تشدید فرآیندهای التهابی در بافت کولون است. IL-36α یکی از اعضای خانواده IL-1 است که در سال‌های اخیر به‌عنوان یک تنظیم‌کننده مهم التهاب مخاطی شناخته شده است. این سایتوکاین پس از اتصال به گیرنده اختصاصی خود (IL-36R) موجب فعال شدن مسیرهای پیام‌رسانی داخل سلولی مانند NF-κB و MAPK شده و در نتیجه تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و جذب سلول‌های ایمنی به محل التهاب را افزایش می‌دهد (۱۲ و ۱۳). مطالعات انجام شده در بیماران مبتلا به کولیت اولسراتیو نشان داده‌اند که بیان IL-36α در مخاط کولون افراد مبتلا به UC افزایش می‌یابد و میزان افزایش آن با فعال بودن فرآیند التهابی ارتباط دارد. راسل (Russell) و همکاران نشان دادند که افزایش IL-36α در مخاط کولون بیماران مبتلا به UC و همچنین مدل‌های حیوانی کولیت مشاهده می‌شود و فعال شدن محور IL-36R می‌تواند شدت التهاب کولون را افزایش دهد. همچنین مشخص شده است که مهار این مسیر موجب کاهش نفوذ سلول‌های التهابی و کاهش شدت آسیب مخاطی می‌شود (۱۲). نیشیدا (Nishida) و همکاران نیز افزایش بیان اعضای خانواده IL-36 را در بیماران مبتلا به بیماری‌های التهابی روده گزارش کردند و نقش احتمالی این خانواده را در تنظیم التهاب روده مطرح نمودند (۱۳).

افزایش IL-36α مشاهده شده در گروه کولیت مطالعه حاضر احتمالاً ناشی از آسیب اپی‌تلیال ایجادشده توسط اسید استیک، اختلال در سد مخاطی و فعال شدن گیرنده‌های ایمنی ذاتی مانند TLR4 است. آسیب سد اپی‌تلیالی موجب افزایش تماس اجزای میکروبی با سلول‌های ایمنی مخاطی شده و از طریق فعال‌سازی مسیر MyD88/NF-κB باعث افزایش بیان سایتوکاین‌های التهابی می‌شود. فعال شدن این مسیرها می‌تواند محیط التهابی مناسبی برای افزایش تولید IL-36α ایجاد کند (۷، ۱۴ و ۱۵).

در این مطالعه، درمان با اسید کوئینیک موجب کاهش وابسته به دوز سطح IL-36α در بافت کولون شد. این یافته می‌تواند نشان‌دهنده اثرات ضدالتهابی این ترکیب از طریق تعدیل مسیرهای مولکولی مرتبط با التهاب باشد. اسید کوئینیک یک ترکیب طبیعی مشتق از مسیر شیکیمات گیاهی است که مطالعات مختلف اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی آن را گزارش کرده‌اند. در یک مطالعه مشابه، قاسمی‌دهنو و همکاران نشان دادند که اسید کوئینیک در مدل کولیت القاشده با اسید استیک

موجب کاهش شاخص‌های التهاب، استرس اکسیداتیو و آسیب بافتی از طریق مهار مسیرهای TLR4/NF-κB و NF-κB/iNOS/NO می‌شود (۱۱). بنابراین، کاهش IL-36α در مطالعه حاضر ممکن است بخشی از اثرات مهاری اسید کوئینیک بر شبکه التهابی وابسته به NF-κB باشد.

مسیر TLR4/NF-κB یکی از محورهای اصلی در پاتوژنز کولیت تجربی محسوب می‌شود. فعال شدن بیش از حد این مسیر موجب افزایش تولید TNF-α، IL-1β، IL-6 و سایر میانجی‌های التهابی شده و در نهایت باعث تشدید آسیب مخاطی می‌شود. از آنجا که IL-36α نیز در فعال‌سازی پاسخ‌های التهابی پایین‌دستی نقش دارد، مهار همزمان این مسیرها می‌تواند توضیح‌دهنده کاهش IL-36α پس از درمان با اسید کوئینیک باشد (۱۱، ۱۸-۱۶).

همچنین در مطالعه حاضر، اسید سیرینجیک موجب کاهش معنی‌دار و وابسته به دوز IL-36α شد. اسید سیرینجیک یک ترکیب فنولی طبیعی است که به دلیل دارا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تنظیم‌کننده ایمنی، در مدل‌های مختلف التهاب مورد توجه قرار گرفته است. یکی از مکانیسم‌های پیشنهادی برای اثرات محافظتی این ترکیب، فعال‌سازی مسیر Nrf2/HO-1 و افزایش ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول است (۸ و ۱۰).

در کولیت اولسراتیو، افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) موجب آسیب سلول‌های اپی‌تلیال، فعال شدن مسیرهای التهابی و افزایش تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی می‌شود. فعال شدن مسیر Nrf2 باعث افزایش بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو می‌گردد. بنابراین، اثر اسید سیرینجیک بر کاهش IL-36α احتمالاً به‌واسطه کاهش استرس اکسیداتیو و مهار فعال شدن مسیرهای التهابی مرتبط با آن ایجاد شده است (۱۰).

یافته‌های مطالعه حاضر همچنین نشان داد که اثر هر دو ترکیب QA و SA وابسته به دوز بوده و دوزهای بالاتر موجب کاهش بیشتر سطح IL-36α شدند. این مشاهده نشان می‌دهد که شدت اثرات ضدالتهابی ترکیبات طبیعی می‌تواند با میزان مصرف آن‌ها ارتباط داشته باشد. اگرچه در دوزهای بالاتر، اثر این ترکیبات به‌صورت نسبی با دگزامتازون قابل مقایسه بود، اما باید توجه داشت که مکانیسم عملکرد دگزامتازون با ترکیبات طبیعی متفاوت است. دگزامتازون از طریق اتصال به گیرنده گلوکوکورتیکوئیدی و مهار گسترده رونویسی ژن‌های التهابی عمل می‌کند، در حالی‌که ترکیباتی مانند QA و SA احتمالاً از طریق تعدیل چندین مسیر شامل التهاب، استرس اکسیداتیو و پاسخ ایمنی اثر خود را اعمال می‌کنند (۱۹).

علاوه بر مسیرهای التهابی مستقیم، شواهد اخیر نشان داده‌اند که تغییرات میکروبیوتای روده نیز در تنظیم التهاب مخاطی و شدت بیماری‌های التهابی روده نقش مهمی دارد. اختلال در ترکیب میکروبیوتا می‌تواند موجب افزایش نفوذپذیری مخاط، فعال شدن گیرنده‌های ایمنی ذاتی و افزایش تولید سایتوکاین‌های التهابی شود. برخی ترکیبات طبیعی با اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی قادرند تعامل بین میزبان و میکروبیوتا را تعدیل کنند؛ بنابراین، احتمال دارد بخشی از اثرات محافظتی QA و SA از طریق تنظیم محیط میکروبی روده نیز ایجاد شود، اگرچه این فرضیه در مطالعه حاضر بررسی نشده است (۲۰ و ۲۱).

در مجموع، یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که افزایش IL-36α یکی از پیامدهای مهم التهاب ناشی از کولیت القاشده با اسید استیک است و درمان با اسید کوئینیک و اسید سیرینجیک می‌تواند این افزایش را کاهش دهد. این نتایج نشان می‌دهد که این ترکیبات طبیعی احتمالاً از طریق اثرات همزمان ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی، موجب تعدیل

پاسخ ایمنی مخاطی در کولیت اولسراتیو می‌شوند. با این حال، از آنجا که در مطالعه حاضر تنها سطح پروتئین IL-36α بررسی شد، نمی‌توان درباره اثر مستقیم این ترکیبات بر مسیر IL-36 نتیجه‌گیری قطعی کرد.

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم بررسی سایر اعضای خانواده IL-36 شامل IL-36R و IL-36Ra، عدم ارزیابی مسیرهای سیگنالینگ پایین‌دستی مانند NF-κB و MAPK و نبود بررسی‌های هیستوپاتولوژیک اشاره کرد. بنابراین، مطالعات آینده با استفاده از روش‌های چندسطحی شامل بررسی بیان ژن، پروتئین، تغییرات بافتی، مسیرهای مولکولی و بررسی تعامل با میکروبیوتای روده می‌توانند مکانیسم دقیق اثر QA و SA را در کولیت اولسراتیو مشخص کنند.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که القای کولیت اولسراتیو با اسید استیک موجب افزایش معنی‌دار سطح IL-36α در بافت کولون رت‌ها شد که بیانگر فعال شدن پاسخ‌های التهابی مخاطی است. تجویز QA و SA توانست این افزایش را به‌صورت وابسته به دوز کاهش دهد و در دوزهای بالاتر اثرات قابل توجهی در تعدیل التهاب نشان دهد. کاهش سطح IL-36α در گروه‌های تیمارشده بیانگر آن است که این ترکیبات طبیعی احتمالاً در کنترل پاسخ‌های التهابی دخیل در کولیت اولسراتیو نقش دارند. با توجه به نقش IL-36α در تشدید التهاب مخاطی روده، مهار این سایتوکاین می‌تواند در کاهش آسیب بافتی و شدت بیماری مؤثر باشد. همچنین یافته‌ها نشان دادند که اثرات ضدالتهابی QA و SA ممکن است با تعدیل مسیرهای وابسته به استرس اکسیداتیو و التهاب مرتبط باشد. هرچند در مطالعه حاضر مسیرهای مولکولی به‌طور مستقیم بررسی نشدند، اما نتایج به ظرفیت درمانی بالقوه این ترکیبات در بیماری‌های التهابی روده اشاره دارد. از سوی دیگر، مشاهده اثرات قابل توجه این ترکیبات در مقایسه با دگزامتازون، اهمیت بررسی بیشتر آن‌ها را به‌عنوان گزینه‌های کمکی یا مکمل درمانی نشان می‌دهد. با این حال، برای تبیین دقیق مکانیسم‌های اثر، انجام مطالعات مولکولی، هیستوپاتولوژیک و بالینی در آینده ضروری است.

این مقاله حاصل طرح پژوهشی با کد رهگیری ۷۱۷۴ و کد اخلاق ۰۵۶. IR.SKUMS.AEC. ۱۴۰۲ است که با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شده است. نویسندگان بدین‌وسیله از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد بابت حمایت مالی این پژوهش قدردانی می‌کنند.

سپاس و قدردانی

لازم به ذکر است که گروه‌های مورد مطالعه و القای UC، در موش‌های نر نژاد ویستار قبلاً در طرح دکتر رفیعیان و همکاران با شماره ۵۱۸۶ و کد اخلاق ۱۱۳. IR.SKUMS.REC ۱۳۹۹. انجام شده و از بافت‌های نگهداری شده روده جهت بررسی سطح پروتئین بافتی IL-36α استفاده شد.

تضاد منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Park S, Abdi T, Gentry M, et al. Histological Disease Activity as a Predictor of Clinical Relapse Among Patients With Ulcerative Colitis: Systematic Review and Meta-Analysis. Am J Gastroenterol 2016; 111(12): 1692-1701. 10.1038/ajg.2016.418

2.Podolsky DK. Inflammatory bowel disease (1). N Engl J Med. 1991;325(13):928-937. 10.1056/NEJM199109263251306
3.Logan I, Bowlus CL. The geoepidemiology of autoimmune intestinal diseases. Autoimmun Rev 2010; 9(5): A372-378. 10.1016/j.autrev.2009.11.008
4.Taurog JD, Richardson JA, Croft JT, et al. The germfree state prevents development of gut and joint inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rats. J Exp Med 1994; 180(6): 2359-2364. 10.1084/jem.180.6.2359
5.Swidsinski A, Ladhoff A, Pernthaler A, et al. Mucosal flora in inflammatory bowel disease. Gastroenterology 2002; 122(1): 44-54. 10.1053/gast.2002.30294
6.Vogel IC, Verganista MJ, Candeias NR. Quinic Acid and Synthetic Derivatives in Medicinal Chemistry. ChemMedChem 2026; 21(5): e202500976. 10.1002/cmdc.202500976
7.Zhao Y, Wu J, Liu X, et al. Decoding nature: multi-target anti-inflammatory mechanisms of natural products in the TLR4/NF-κB pathway. Front Pharmacol 2024; 15: 1467193. 10.3389/fphar.2024.1467193
8.Zhao Z, Yang Q, Sun Y, et al. Unveiling the antioxidant and anti-inflammatory potential of syringic acid: mechanistic insights and pathway interactions. Front Pharmacol 2025; 16: 1615294. 10.3389/fphar.2025.1615294
9.Ghasemi-Dehnoo M, Amini-Khoei H, Lorigooini Z, et al. Ferulic acid ameliorates ulcerative colitis in a rat model via the inhibition of two LPS-TLR4-NF-κB and NF-κB-INOS-NO signaling pathways and thus alleviating the inflammatory, oxidative and apoptotic conditions in the colon tissue. Inflammopharmacology 2023; 31(5): 2587-2597. 10.1007/s10787-023-01277-y
10.Ekhtiar M, Ghasemi-Dehnoo M, Mirzaei Y, et al. The coumaric acid and syringic acid ameliorate acetic acid-induced ulcerative colitis in rats via modulator of Nrf2/HO-1 and pro-inflammatory cytokines. Int Immunopharmacol 2023; 120: 110309. 10.1016/j.intimp.2023.110309
11.Ghasemi-Dehnoo M, Lorigooini Z, Amini-Khoei H, et al. Quinic acid ameliorates ulcerative colitis in rats, through the inhibition of two TLR4-NF-κB and NF-κB-INOS-NO signaling pathways. Immun Inflamm Dis 2023; 11(8): e926. 10.1002/iid3.926
12.Russell SE, Horan RM, Stefanska AM, et al. IL-36α expression is elevated in ulcerative colitis and promotes colonic inflammation. Mucosal Immunol 2016; 9(5): 1193-1204. 10.1038/mi.2015.134
13.Nishida A, Hidaka K, Kanda T, et al. Increased Expression of Interleukin-36, a Member of the Interleukin-1 Cytokine Family, in Inflammatory Bowel Disease. Inflamm Bowel Dis 2016; 22(2): 303-314. 10.1097/MIB.0000000000000654
14.Fonseca-Camarillo G, Furuzawa-Carballeda J, Iturriaga-Goyon E, et al. Differential Expression of IL-36 Family Members and IL-38 by Immune and Nonimmune Cells in Patients with Active Inflammatory Bowel Disease. Biomed Res Int 2018; 2018: 5140691. 10.1155/2018/5140691
15.Nakase H, Sato N, Mizuno N, et al. The influence of cytokines on the complex pathology of ulcerative colitis. Autoimmun Rev 2022; 21(3): 103017. 10.1016/j.autrev.2021.103017
16.Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. World J Gastroenterol 2014; 20(1): 91-99. 10.3748/wjg.v20.i1.91
17.Ekhtiar M, Ghasemi-Dehnoo M, Azadegan-Dehkordi F, et al. Evaluation of Anti-Inflammatory and Antioxidant Effects of Ferulic Acid and Quinic Acid on Acetic Acid-Induced Ulcerative Colitis in Rats. J Biochem Mol Toxicol 2025; 39(2): e70169. 10.1002/jbt.70169
18.Neurath MF. Cytokines in inflammatory bowel disease. Nat Rev Immunol 2014; 14(5): 329-342. 10.1038/nri3661
19.Barnes PJ. How corticosteroids control inflammation: Quintiles Prize Lecture 2005. Br J Pharmacol 2006; 148(3): 245-254. 10.1038/sj.bjp.0706736
20.Iliev ID, Ananthakrishnan AN, Guo CJ. Microbiota in inflammatory bowel disease: mechanisms of disease and therapeutic opportunities. Nat Rev Microbiol 2025; 23(8): 509-524. 10.1038/s41579-025-01163-0
21.Ni J, Wu GD, Albenberg L, Tomov VT. Gut microbiota and IBD: causation or correlation? Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2017; 14(10): 573-584. 10.1038/nrgastro.2017.88