

اثر ویتامین C و ملاتونین بر زخم معده ایجاد شده موش‌های صحرایی کولستاتیک

بابک رضوانجو^{۱*}، مرتضی ثمنی^۲، فریبرز معیر^۳، پژمان مرتضوی^۴، امیرعلی صولتی^۵

چکیده

زخم معده در جمعیت کولستاتیک بیشتر از جمعیت نرمال است. ملاتونین آنتی اکسیدانی است که وارد سیکل ردوکس نمی‌شود. سیستم‌های ماده‌ای جهت ایجاد تجربی زخم گوارشی بوده و تولید رادیکال‌های آزاد کرده و غلظت دئودنال اندوتلین ۱ را افزایش می‌دهد.

هدف از این مطالعه بررسی اثر پیش درمانی با ملاتونین در زخم معده ناشی از سیستم‌های در گروه‌های کنترل و کولستاتیک است.

مطالعه در دو گروه روی موش‌های صحرایی انجام شد: گروه کنترل و کولستاتیک هر گروه به چهار زیر گروه تقسیم گردید: که سالین، سیستم‌های، ملاتونین به اضافه سیستم‌های و ویتامین C به اضافه سیستم‌های به ترتیب تزریق شد. همه موش‌ها ۲۴ ساعت پس از تزریق کشته شده و معده جهت بررسی J.score جدا شد. در گروه کولستاتیک مجرای صفراوی بسته شد و موش‌ها ۷ روز پس از جراحی علائم یرقان را نشان دادند سپس تزریقات و بررسی زخم مانند گروه کنترل انجام شد.

در گروه کنترل با تزریق سیستم‌های افزایش معنی‌داری در J.score نسبت به زیر گروه سالین دیده شد. با تزریق ویتامین C و ملاتونین کاهش معنی‌داری در J.score نسبت به زیر گروه سیستم‌های دیده شد. در گروه کولستاتیک با تزریق سیستم‌های افزایش شدید و معنی‌داری در J.score نسبت به زیر گروه سالین دیده شد. با تزریق ویتامین C و ملاتونین کاهش معنی‌داری در J.score نسبت به زیر گروه سیستم‌های دیده شد.

نتایج نشان می‌دهند که درمان با ملاتونین و ویتامین C با بهبود استرس اکسیداتیو از گروه‌های کنترل و کولستاتیک در برابر زخم معده ناشی از سیستم‌های محافظت می‌کنند.

واژگان کلیدی: سیستم‌های، اولسر، ملاتونین، ویتامین C، کولستاز.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۳/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۷/۱۴

مقدمه

ملاتونین اثر حفاظتی روی زخم معده ناشی از پراکسیداسیون چربی ناشی از ایندومتاسین دارد(۱). نشان داده شده است که

آسیب مخاط معده ناشی از مواد مهاجم مختلف در موش‌های صحرایی کولستاتیک بیشتر از موش‌های صحرایی شام (Sham) می‌باشد(۲). میزان شیوع زخم‌های معده و روده در جمعیت کولستاتیک بیشتر از جمعیت نرمال است(۳). ملاتونین یک آنتی اکسیدان و جمع‌آوری کننده رادیکال‌های آزاد قدرتمند بوده که وارد چرخه ردوکس (Redox) نمی‌شود یعنی یکبار اکسیده شده و نمی‌تواند به شکل مرحله قبل خود احیاء شود(۴). چرخه ردوکس توانایی مولکول جهت وارد شدن به چرخه تکرار شونده احیاء و اکسیداسیون بوده که می‌تواند ایجاد پرواکسیدان و رادیکال‌های آزاد کند. ویتامین C یا اسید آسکوربیک یک ماده احیاء کننده است که گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند هیدروژن پراکسید را خنثی کرده و بعنوان یک آنتی اکسیدان وارد چرخه ردوکس می‌شود(۵). در این مطالعه ویتامین C بعنوان یک آنتی اکسیدان استاندارد جهت مقایسه با ملاتونین استفاده شد. نشان داده شده است که سیستم‌های یک ماده بسیار قوی جهت ایجاد زخم گوارشی است(۶ و ۷). نشان داده شده است که سیستم‌های در مخاط دئودنوم تجمع می‌یابد(۸). اثر زخم‌زایی سیستم‌های ممکن است باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن(۹ و ۱۰) و همچنین افزایش غلظت اندوتلین-۱ در دئودنوم و کاهش جریان خون مخاطی می‌باشد(۹ و ۸). استرس اکسیداتیو یا افزایش میزان رادیکال‌های آزاد و کاهش آنتی اکسیدان‌های سلول از

۱- بخش فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، کرج، ایران

۲- گروه فارماکولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۳- بخش پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، کرج، ایران

۴- گروه پاتولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۵- گروه دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، ساوه، ایران

جراحی: لاپاروتومی تحت بیهوشی عمومی با تزریق داخل صفاقی داروهای ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم کتامین و ۲۰ میلی گرم در کیلوگرم کلرپرومازین انجام شده مجرای مشترک صفاوی (common bile duct) مشخص، جدا و دو بار لیگاته شد. سپس جدار شکم در دو لایه بخیه شد (عضلات و پوست) (۱، ۲، ۱۳). هفت روز بعد از جراحی حیوانات علائم یرقان را نشان دادند. گروه BDL به ۴ زیر گروه تقسیم گردید و مانند گروه UOC با سالین، سیستتامین، ملاتونین به اضافه سیستتامین و ویتامین C به اضافه سیستتامین به ترتیب درمان شد. حیوانات ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق مانند گروه UOC کشته شدند و نمونه معده جدا گردید.

اندازه‌گیری مقیاس جی (J.SCORE)

در گروه‌های UOC و BDL پس از کشتن حیوانات با اتر معده برداشته شد. معده باز شده و با نرمال سالین به مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه شسته و در فرمالین ۱۰٪ به مدت ۲۴ ساعت فیکس شد. اولسرها با لوپ (5-fold binocular magnifire) بررسی شدند. ضایعات ایجاد شده در معده به کمک روش J.Score ارزیابی شدند. که در این روش زخم‌ها بصورت ماکروسکوپی توسط لوپ بررسی شده و عدد بنام J بصورت زیر بدست می‌آید. (۱)

تعداد زخم‌های کوچکتر از یک میلی متر را شمرده و در عدد یک ضرب کردیم.

تعداد زخم‌های بین ۲-۱ میلی متر را شمرده و در عدد ۲ ضرب کردیم.

تعداد زخم‌های بیش از ۲ میلی متر را شمرده و در عدد ۳ ضرب کردیم.

محاسبات آماری

نتایج به صورت $mean \pm SE$ ارائه و از روش آماری ANOVA استفاده شد و $P < 0.05$ از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. محاسبات با نرم‌افزار SPSS (version 16) انجام شد.

مکانیسم‌های مهم پاتوفیزیولوژیک در بسیاری از بیماری‌ها می‌باشند. با این زمینه اثر حفاظتی ملاتونین روی زخم گوارشی ناشی از سیستتامین در گروه‌های کنترل و کلستاتیک با اندازه‌گیری مقیاس جی (J.score) بررسی گردید.

مواد و روش کار

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نر بالغ از نوع wistar به وزن ۲۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شده است. حیوانات تحت شرایط استاندارد در قفس‌های سه تایی در دمای $22 \pm 2^\circ C$ نگهداری شدند.

این مطالعه در دو گروه (n=48) روی موش‌های صحرایی انجام شد: گروه کنترل (UOC: unoperated control) و گروه کلستاتیک BDL (bile duct-ligated).

حیوانات در هر گروه (n=24) به چهار زیر گروه تقسیم گردید (n=6). به حیوانات در این زیر گروه‌ها سالین، سیستتامین، ملاتونین به اضافه سیستتامین و ویتامین C به اضافه سیستتامین به ترتیب تزریق شد. به حیوانات در زیر گروه UOC1 سالین به میزان ۱ میلی لیتر در کیلوگرم به صورت زیر جلدی در ساعت ۸ و ۱۲ قبل از ظهر تزریق شد. در زیر گروه UOC2 سیستتامین به میزان ۲۳۰ میلی گرم در کیلوگرم به صورت زیر جلدی در ساعت ۸ و ۱۲ قبل از ظهر تزریق شد. در زیر گروه UOC4 ویتامین C سیصدوپنجاه میلی گرم در کیلوگرم به صورت داخل صفاقی در ساعت 7:30 و 11:30 قبل از ظهر و سیستتامین به میزان ۲۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به صورت زیر جلدی در ساعت ۸ و ۱۲ قبل از ظهر به صورت زیر جلدی تزریق و در زیر گروه UOC4 ملاتونین ۴ میلی گرم در کیلوگرم داخل صفاقی در ساعت 7:30 و 11:30 قبل از ظهر و سیستتامین در ساعت ۸ و ۱۲ قبل از ظهر به صورت زیر جلدی تزریق شد. تمام موش‌های صحرایی ۲۴ ساعت پس از آخرین تزریق تحت بیهوشی با اتر کشته شده و معده جهت اندازه‌گیری J.score برداشته شد.

نتایج

طبق مطالعات مشابه و تحقیق انجام شده نتیجه می‌شود که:

۱. کلسناز ضایعات گوارشی در گروه BDL نسبت به گروه UOC تشدید می‌کند.
۲. ویتامین C و ملاتونین به علت کاهش J.score در مدل آزمایشگاهی زخم در موش صحرایی، فعالیت ضد زخم معنی‌داری دارند و این اثر ممکن است به علت افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیماتیک و محافظت سلول از آسیب ناشی از ROS و بهبود اکسیداتیو استرس باشد.

فهرست منابع

- 1- Kiarostami V, Samini L, Ghazi-khansari M. Protective effect of melatonin against multistress condition induced lipid peroxidation via measurement of gastric mucosal lesion and plasma malondialdehyde levels in rats. *World gastroenterology*. 2006; 12(46):7527-7531.
- 2- Moezi L, Nasiripoor S, Mohajer V, Maghsoodi M, Samini M, Dehpour AR. Gastric healing effect of melatonin against different gastroinvasive agent in cholestatic rats. *Pathophysiology*. 2010; 17(1): 65-70.
- 3- Bastid C, Tellechea J, Sahel J, Dose jaundice increase the frequency of gastroduodenal ulceration? *Hepato-gastroenterology*. 1990; 37(6): 612-614.
- 4- Tan DX, Machester LC, Reiter RJ, I WB, Karbownik M, Calvo JR. Significance of melatonin in antioxidative defense system: reactions and products. *Biological signals and receptors*. 2000; 9(3-4):137-159.
- 5- Padayatty S, Katz A, Wang Y, Eck P, et al. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *J Am coll nutr*. 2003; 22(1): 18-35
- 6- Szabo S. Duodenal ulcer disease. Animal model: Cysteamine-induced acute and chronic duodenal ulcer in rat. *Am J Pathol*. 1978; 93(1):273-276.
- 7- Minaiyan M, Ghannadi A, Salehi E. Antiulcerogenic effect of *Zataria multiflora* boiss on cysteamine-induced duodenal ulcer in rats. *Iranian journal of pharmaceutical sciences*. 2005; 1(4): 223-229.

در گروه UOC تزریق سیستتامین با افزایش معنی‌دار j.score (4.83 ± 0.30 ; $P < 0.001$) نسبت به گروه سالین (j.score=0) همراه بود.

پیش‌درمانی با ویتامین C با کاهش معنی‌دار j.score (1.56 ± 0.23 ; $P < 0.001$) نسبت به گروه سالین همراه بود. پیش‌درمانی با ملاتونین با کاهش معنی‌دار j.score (1.40 ± 0.26 ; $P < 0.001$) نسبت به گروه سالین همراه بود. اما تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های ملاتونین و ویتامین C دیده نشد ($P < 0.05$).

در گروه BDL تزریق سیستتامین با افزایش معنی‌دار j.score (4.98 ± 0.40 ; $P < 0.001$) نسبت به گروه سالین همراه بود.

پیش‌درمانی با ویتامین C با کاهش معنی‌دار j.score (1.67 ± 0.33 ; $P < 0.001$) نسبت به گروه سالین همراه بود. پیش‌درمانی با ملاتونین با کاهش معنی‌دار j.score (1.62 ± 0.31 ; $P < 0.001$) نسبت به گروه سالین همراه بود. اما تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های ملاتونین و ویتامین C دیده نشد ($P < 0.05$).

بحث

میزان کافی آنتی‌اکسیدان‌ها جهت به حداقل رساندن اثرات سمی بنیان‌های فعال اکسیژن لازم است (۱۵). نشان داده شده است که ضایعات مخاطی معده ناشی از کاهش فعالیت دفاعی در برابر بنیان‌های فعال اکسیژن ROS بوده و اثر حفاظتی آنتی‌اکسیدان‌ها ناشی از بهبود اکسیداتیو استرس در مخاط معده است (۱۵). نشان داده شده است که رادیکال‌های آزاد نقش مهمی در پاتوژنز ضایعات مخاطی دستگاه گوارش دارند (۱۴). نقش ROS در بسیاری از بیماری‌ها شناخته شده است (۱۱). هنگامیکه تولید ROS به دفاع آنتی‌اکسیدانی غلبه کند در غشاء سلول‌ها لیپید پراکسیداسیون رخ داده و این منجر به آسیب سلول می‌شود (۱۶).

- 8- Nakamura T, Yoshida M, Kitagawa Y, et al. Intravenous injection of micafungin counteracts candida albicans-induced aggravation of duodenal ulcers caused by cysteamine in rats. *Dig. Dis. Sci.* 2008; 53: 2422-2428.
- 9- Khomenko T, Deng X, Jadus MR, Szabo S. Effect of cysteamine on redox-sensitive thiol – containing proteins in duodenal mucosa. *Biochemical and biophysical research communications.* 2003; 309: 910-916.
- 10- Jeitner TM, Lawrence DA. Mechanisms for the cytotoxicity of cysteamine. *Toxicological Sciences.* 2001; 63: 57-64.
- 11- Konyalioglu S, Durmaz G, Yalcin A. The potential antioxidant effect of raloxifene treatment: a study on heart, liver and brain cortex of ovariectomized female rats. *Cell biochem funct.* 2007; 25: 259-266.
- 12- Vogel HG, Vogel WH. Drug discovery and evaluation (pharmaceutical assay). *Berlin: Springer Verlag.* 1997; 486-487.
- 13- Moezi L, Rezayal M, Samini M, Shafaroodi H, Mehr SE, et al. Potentiation of anandamide effects in mesenteric beds isolated from bile duct-ligated rats. Role of nitric oxide. *Eur. J. pharmacol.* 2004; 486: 53-59.
- 14- Sakurai K, Yamasaki K. Protective effect of rebamipide against hydrogen peroxide-induced hemorrhagic mucosal lesions in rat stomach. *Jpn. J. pharmaco.* 1994; 64: 229-234.
- 15- de Cavanagh EMV, Inserra F, Ferder L, Romano L, Ercole L, Fraga CG. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities are increased by enalapril and captopril in mouse liver. *FEBS lett.* 1995;361:22-24.
- 16- Vidyasagar J, Karunakar N, Reddy MS, Rajnarayana K, Surender T, Krishna DR. Oxidative stress and antioxidant status in acute organophosphorous insecticide poisoning. *Indian J Pharmacol.* 2004;36:76-79.