

بررسی اثر ملاتونین بر زخم معده ناشی از استرس در موش صحرایی

دکتر مرتضی ثمینی، دکتر احمد رضا دهپور، الهام بابازاده خامنه
گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

مقدمه: یکی از اعمال سودمند منسوب به ملاتونین، حفاظت در برابر اکسیده کننده‌های آندوژن است. هدف این مطالعه بررسی اثر محافظتی ملاتونین در برابر رادیکال‌های آزاد، در زخم معده ناشی از استرس می‌باشد.

مواد و روشها: در این مطالعه برای ایجاد زخم معده ناشی از استرس در موش صحرایی، از روش فیزیکی غوطه‌ور کردن حیوان در آب سرد استفاده شده است. حیوانات به مدت یک ساعت در آب ۱۸ تا ۲۱ درجه سانتی گراد غوطه‌ور شده و پس از ۴ ساعت زخم‌های ایجاد شده در مخاط معده آنها به روش ماکروسکوپی شمارش و با متod J. Score اندازه‌گیری شده است.

یافته‌ها، نتیجه گیری: نتایج ما نشان داد که:

- ۱- پیش مدایی حیوانات با ملاتونین بطور وابسته به دوز ایجاد زخم معده توسط استرس را کاهش می‌دهد.
- ۲- آنزیم نیتریک اکساید سیتاز با (L-Nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME باعث تشدید زخم معده ناشی از استرس می‌شود.
- ۳- ملاتونین ایجاد زخم معده ناشی از استرس و L-NAME را نیز کم می‌کند. به این ترتیب به نظر می‌رسد عملکرد حفاظتی ملاتونین از طریق افزایش تولید نیتریک اکساید می‌باشد.

مقدمه

مطالعه قرار گرفته است. این ماده از عوامل حفاظتی بدن در مقابل رادیکال‌های آزاد شناخته شده است و در ضمن تولید گلوتاتیون پراکسیداز را افزایش می‌دهد. اثر دیگر ملاتونین القاء تولید نیتریک اکساید است. نیتریک اکساید از راه‌های مختلف روی غشاء دستگاه گوارش ایجاد نقش حفاظتی اعمال می‌کند.

مواد و روشها

این مطالعه بر روی موش‌های صحرایی نر از نوع albino به وزن ۱۵۰ تا ۲۰۰ گرم انجام گرفته است. حیوانات از ۴۸ ساعت قبل از مطالعه از دسترسی به غذا محروم می‌شدند ولی به آب آشامیدنی دسترسی داشتند. حیوانات در قفس‌های نگهداری می‌شدند که امکان دسترسی به مدفوع خود را نیز نداشته باشند. اصول اخلاقی برای بررسی حیوانات (۵) مورد ملاحظه قرار می‌گرفت. حیوانات با ضربه به سر به صورت آنی کشته شده و در حالت بی دردی کامل، شکم آنها باز می‌شد.

برای تهیه محلول‌های دارویی، ملاتونین را در نرمال‌سالین و NAME-۲۰۰ را در آب مقطر حل کردیم.

حیوانات به پنج گروه تقسیم شدند:

۱- گروه نرمال‌سالین: حیوانات این گروه دو بار، هر بار یک میلی‌لیتر نرمال‌سالین از راه داخل صفاقی دریافت می‌کردند (جدول ۱).

۲- گروه استرس شاهد: حیوانات این گروه پس از تزریق نرمال‌سالین (مثل گروه ۱) از طریق غوطه‌ور کردن در آب ۱۸ تا ۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت در معرض استرس قرار می‌گرفتند.

۳- گروه ملاتونین: در این گروه به ۶ زیر گروه دوزهای ۰/۲۵، ۰/۱۵، ۱، ۰/۱۰، ۰/۵ و ۱۰ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن حیوانات ملاتونین از راه داخل صفاقی تزریق کرده و نیم ساعت بعد مانند گروه استرس به آنها به مدت یک ساعت استرس داده می‌شد.

از عوامل مهم دخیل در ایجاد زخم معده می‌توان به افزایش ترشح اسید و پپسین، کاهش جریان خون مخاطی، کاهش سنتز پروستاگلاندین‌ها، کاهش تولید اکسید نیتریک و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اشاره کرد که روش‌های فیزیکی ایجاد زخم معده از جمله استرس با تأثیر بر بعضی از این عوامل عمل می‌کند. داروهای مختلفی که بتوانند به نحوی اثر عوامل ایجاد کننده زخم معده را خنثی کنند اثر ضد زخم معده خواهند داشت (۲).

ملاتونین هورمونی است که در اپی‌فیز و بعضی بافت‌های دیگر از جمله دستگاه گوارش از سروتونین سنتز می‌شود و مسئول تنظیم سیکل خواب و بیداری است و نیز اثرات دیگری مثل حفاظت در برابر اکسید کننده‌های آندوزن (۳،۴)، جلوگیری از پیری و مؤثر بودن در درمان افسردگی و عفونت با HIV و انواع سرطان به آن نسبت داده شده است. از عوامل مهم و شناخته شده دفاعی در مخاط دستگاه گوارش می‌توان به موكوس (ماده مخاطی گلیکوپروتئینی)، بی‌کربنات سدیم، جریان خون دستگاه گوارش، پروستاگلاندین‌ها و اکسید نیتریک اشاره نمود. بعضی از این عوامل اثر خود را با خاصیت جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد اعمال می‌کنند. رادیکال‌های آزاد، الکترون جفت نشده دارند و چون تعامل به گرفتن الکترون برای جفت کردن الکترون‌های خود دارند اکسید کننده می‌باشند و به پروتئین‌ها، لپیدها و DNA حمله می‌کنند و به آن‌ها آسیب می‌زنند. از مهمترین رادیکال‌های آزاد می‌توان به رادیکال آزاد سوپر اکسید و رادیکال آزاد هیدروکسیل اشاره نمود. از عوامل ضد رادیکال آزاد بدن می‌توان ویتامین E، ویتامین C، ملاتونین، سلنیوم، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپر اکساید دیسموتاز (SOD) و کاتالاز را بر شمرد که سلول‌ها را در مقابل غلظت بالا و خطرناک رادیکال‌های آزاد محافظت می‌نمایند. با توجه به اینکه رادیکال‌های آزاد در ایجاد زخم معده دخالت دارند، تحقیقات برای پیدا کردن ترکیباتی که بعنوان آنتی‌اکسیدان عمل کرده، اثر ضد زخم داشته باشند ادامه دارد. در این مطالعه اثر ملاتونین روی زخم معده ناشی از استرس در موش صحرایی مورد

برای محاسبات آماری از نرمافزار SPSS و روش آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد و $P < 0.05$ را اختلاف معنی دار در نظر گرفتیم.

یافته ها

استرس ایجاد شده از طریق غوطه وری حیوانات در آب در همه حیوانات ایجاد زخم کرد در حالیکه در حیوانات گروه کنترل زخمی در معده ملاحظه نشد. ملاتونین بصورت وابسته به دوز در مقابل زخم ایجاد شده توسط استرس ایجاد اثر حفاظتی نمود (جدول ۱) و با دوز ۱۰ میلی گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن J. Score را از $30/67 \pm 1/28$ به $7/00 \pm 0/43$ کاهش داد. تزریق داخل صفاقی L-NAME قبل از استرس باعث تشدید اثر زخم زایی استرس شد و J. Score را به $60/67 \pm 1/88$ افزایش داد، ولی تزریق ملاتونین در حیواناتی که همزمان تحت استرس و درمان با L-NAME بوده باعث کاهش J. Score به $21/81 \pm 0/72$ گردید (جدول ۱).

۴- گروه L-NAME: در حیوانات این گروه به هر حیوان ۱۰ mg برای هر کیلوگرم وزن بدن L-NAME از راه داخل صفاقی تزریق کرده و نیم ساعت بعد، مثل گروه استرس به آنها به مدت یک ساعت استرس داده می شد.

۵- گروه L-NAME و ملاتونین: در این گروه ابتدا به حیوانات ۱۰ میلی گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن L-NAME تزریق شد. نیم ساعت بعد از 10 mg/kg ملاتونین تزریق شد و ۳۰ دقیقه بعد به مدت یک ساعت به آنها استرس وارد شد. حیوانات گروه نرمال سالین $2/5$ ساعت پس از دومین تزریق نرمال سالین و تمام گروه ها $2/5$ ساعت پس از اتمام زمان استرس، کشته شده و بلا فاصله بعد از ایجاد شکاف در ناحیه شکم، معده را از بدن خارج کرده و از ناحیه انحنای کوچک شکافته و پس از شستشوی آن با نرمال سالین، آسیب های مخاطی ایجاد شده را بصورت ماکروسکوپی بررسی کرده و عدد J. Score را بدست آوردیم (۶). تعداد زخم کوچکتر از یک میلی متر را a ، تعداد زخم های بین ۱ تا ۲ میلی متر را b و زخم های بزرگتر از ۲ میلی متر را C نامیده و J را از رابطه زیر حساب کردیم:

$$J = a + 2b + 3c$$

جدول شماره ۱ - اثر ملاتونین، L-NAME و ملاتونین همراه L-NAME بر زخم معده ناشی از استرس

P	Mean \pm sem (n= 6)	زمان (ساعت)					گروه مورد آزمایش
		۴	۲/۵	۱	۰/۵	صفر	
—	—	کشته شدن	استراحت	نرمال سالین	—	نرمال سالین	گروه نرمال سالین
—	$30/67 \pm 1/28$	کشته شدن	استراحت	استرس	نرمال سالین	نرمال سالین شاهد	گروه استرس شاهد
P<0.05	$27/87 \pm 0/37$	کشته شدن	استراحت	استرس	ماتلونین (۱۰)	نرمال سالین	گروه ملاتونین (۱)
P<0.001	$21/00 \pm 0/71$	کشته شدن	استراحت	استرس	ماتلونین (۰/۵)	نرمال سالین	گروه ملاتونین (۲)
P<0.001	$15/83 \pm 0/75$	کشته شدن	استراحت	استرس	ماتلونین (۱)	نرمال سالین	گروه ملاتونین (۳)
P<0.001	$10/00 \pm 0/77$	کشته شدن	استراحت	استرس	ماتلونین (۲/۵)	نرمال سالین	گروه ملاتونین (۴)
P<0.001	$8/17 \pm 0/65$	کشته شدن	استراحت	استرس	ماتلونین (۵)	نرمال سالین	گروه ملاتونین (۵)
P<0.001	$7/50 \pm 0/43$	کشته شدن	استراحت	استرس	ماتلونین (۱۰)	نرمال سالین	گروه ملاتونین (۶)
P<0.001	$60/67 \pm 1/88$	کشته شدن	استراحت	استرس	L-NAME	L-NAME	گروه L-NAME
				—			(۱۰)
P<0.001	$21/87 \pm 0/83$	کشته شدن	استراحت	استرس	L-NAME	L-NAME	گروه L-NAME و ملاتونین
							(۱۰)

بحث

نتیجه فعالیت آنتی اکسیدانی آن می باشد. در ضمن نشان داده شده که نیتریک اکساید (NO) اثر حفاظتی روی سلول های مخاط معده دارد (۹). چون در مطالعات ما مهار تولید NO باعث تشدید اثر زخم زایی استرس شده و ملاتونین شدت زخم زایی استرس و L-NAME بطور همزمان را کاهش داده، می توان نتیجه گیری نمود که ملاتونین احتمالاً به نحوی باعث تقویت مسیر تولید نیتریک اکساید شده و از این طریق سهمی در اثر ضد زخم معده این دارو ایفا می کند.

نتایج ما نشان داد که اثر زخم زایی استرس توسط ملاتونین خنثی ولی توسط L-NAME تشدید می شود و جلو اثر زخم زایی استرس همزمان با L-NAME نیز توسط ملاتونین گرفته می شود. چون استرس از طریق افزایش تولید رادیکال های آزاد عمل می کند (۲,۷) و ملاتونین آنتی اکسیدان بوده و باعث کاهش رادیکال های آزاد در ضمن استرس می شود (۴,۸). می توان گفت احتمالاً اثر حفاظتی ملاتونین روی مخاط معده

منابع

- Yashikawa T, et al. Pathogenesis of stress-induced lesions, J Clin Biochem 1987; 2: 163-170.
- Das D, et al. Hydroxy radical is the major causative factor in stress-induced gastric ulceration, Free radical Biol Med 1997; 23(1): 8-18.
- Martindale 2000; 1599-1600.
- Lagneux C, et al. Protective effects of melatonin against ischemia reperfusion injury in isolated rat heart. Life Sci 2000; 66(6): 503-509.

- Zimmermann M. Ethical guidelines for investigation of experimental pain in conscious animals 1983; 16: 106-110.
- Morley JE, et al. Endogenous opioids and stress ulceration. Life Sci 1982; 31: 683-699.
- Kato K, et al. Melatonin gastroprotective and antistress roles involve both central and peripheral effects. J Gastroenterol 2001; 36(2): 91-95.
- Eliss A, et al. Melatonin increases the efficacy of ranitidine and omeprazole in reducing gastric damage. J Pineal Rss 2002; 33(1): 1-7.
- Kontunet JU, et al. Endogenous nitric oxide in the regulation of gastric secretory and motor activity in humans. Aliment Pharmacol 1990; 13(12): 1683-1691.