

# استرس غوطه‌وری در آب، فاز تاخیری حرکات قطعه مجزای فوندوس معده موش صحرائی را افزایش می‌دهد

## چکیده

زمینه و هدف: زخم معده در نتیجه عدم تعادل بین اثرات عوامل محافظت کننده و عوامل تخریبی در لایه مخاطی معده ایجاد می‌شود. تعداد زیادی عوامل تخریبی وجود دارد که اسید معده - صفرا - داروها (NSAIDs) و افزایش حرکات معده می‌باشند. در این مطالعه ما time-course اثر استرس غوطه‌وری در آب را بر حرکات معده بررسی کردیم. هدف از انجام پژوهش تعیین time-course استرس غوطه‌وری در آب و حرکات انقباضی قطعه مجزای فوندوس معده موش صحرائی می‌باشد.

## \*دکتر حمیدرضا پازوکی طرودی I

## دکتر مرتضی توکلی حسینی II

## زویا طاهر گورابی III

روش بررسی: این مطالعه از نوع تجربی بود. موش‌های صحرائی نژاد Wistar نر در آب ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۲ ساعت غوطه‌ور شدند. موش‌های صحرائی در فواصل ۰/۵، ۱، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت، بعد از غوطه‌وری در آب کشته شدند و معده آن‌ها خارج شد. نوار عرضی از ناحیه فوندوس معده آماده شد و در حمام آبی محتوی محلول کربس با گاز کربوژن (۹۵% O<sub>2</sub> و ۵% CO<sub>2</sub>) و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. فعالیت انقباضی قطعه مجزای فوندوس معده با استفاده از یک ترانس دیوسر ایزوتونیک با کشتش ۲g توسط فیزیوگراف نارکوبیوسیسستم ثبت شد. دامنه و فرکانس انقباضات خودبخودی با گروه‌های کنترل با استفاده از آزمون آماری student t-test مقایسه شد و در تمامی موارد  $p < 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های استرس غوطه‌وری در آب و گروه‌های کنترل آن‌ها به جز در گروه ۲۴ ساعته مشاهده نشد. دامنه انقباضات خودبخودی ۱۶۱ درصد افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: در مدل قطعه مجزای فوندوس معده این نتیجه به دست آمد که افزایش در فعالیت انقباضی معده فقط ۲۴ ساعت بعد از استرس غوطه‌وری رخ می‌دهد. این مسئله بیانگر این مطلب می‌باشد که عوامل گاستریک و عوامل غیرگاستریک در افزایش حرکات معده بر اثر استرس غوطه‌وری در آب دخالت دارند. عوامل غیرگاستریک (مثل عصب واگ، هورمون‌های سپیستمیک و ...) که به سرعت عمل می‌کنند، اثرشان مدت زمان کوتاهی بعد از استرس در مدل‌های حیوانی زنده می‌تواند دیده شود ولی در مدل قطعه مجزای فوندوس که عوامل غیرگاستریک بر آن موثر نیست یک افزایش تاخیری در حرکات می‌تواند دیده شود که به سنتز سلولی محصولات مشابه IEGs (Immediate Early Genes) و HSPs (Heat Shock Proteins) و امثال آن نسبت داده می‌شود.

کلیدواژه‌ها: ۱- معده ۲- استرس غوطه‌وری در آب ۳- فوندوس ایزوله

تاریخ دریافت: ۸۳/۲/۲۸، تاریخ پذیرش: ۸۴/۷/۹

## مقدمه

در حال حاضر عوامل زیر را در ایجاد پپتیک اولسر دخیل می‌دانند: اسید معده، داروهای ضد التهابی غیراستروئیدی (NSAID)، تنش‌های روحی و فیزیکی، عفونت با هلیکوباکتر پیلوری، سیگار کشیدن.

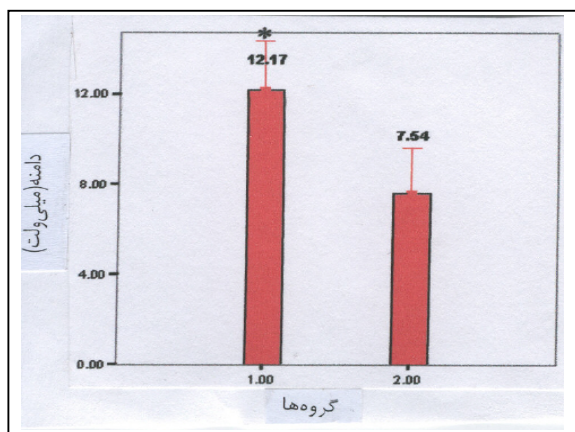
زخم معده یا پپتیک اولسر (peptic ulcer) یکی از بیماری‌های شایع در جامعه امروز می‌باشد.<sup>(۱)</sup> پاتوژنز پپتیک اولسر یک موضوع مورد بحث است زیرا مولتی‌فاکتوریال است.<sup>(۲)</sup>

I) استادیار فیزیولوژی انسانی، دانشکده پزشکی، مرکز علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمان ایران (\*مؤلف مسؤول)

II) پزشک عمومی

III) کارشناس ارشد فیزیولوژی انسانی





نمودار شماره ۱ - مقایسه دامنه انقباضات پریستالتیک در

گروه (استرس - کنترل) بیست و چهار ساعته

گروه ۱: ۲۴ ساعت بعد از استرس غوطه‌وری در آب کشته شدند. تعداد: ۸

گروه ۲: ۴۸ ساعت ناشتا ماندند. تعداد: ۹

این مسئله نشان دهنده بیان time-course پروتئین‌های استرسی خاصی است که توانسته است باعث تغییر الگوی رفتار انقباضی معده موش صحرایی گردد و این تغییر در هیچ یک از گروه‌های مورد مطالعه دیگر یعنی (۰/۵، ۱، ۶، ۱۲ ساعته) مشاهده نگردید. دامنه انقباضات پریستالتیک در تمامی گروه‌های مورد مطالعه در فواصل ۵ دقیقه و ۱۰ دقیقه مطالعه گردیده است (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱ - نتایج مربوط به متغیرهای الگوی حرکتی معده

(فرکانس - دامنه) در گروه‌های تجربی مختلف

نام گروه	دامنه (میلی‌ولت) Mean±SD	فرکانس Mean±SD
استرس ۲۴ ساعته	۱۲/۱۷ ± ۲/۳۹*	۸/۱۸ ± ۲/۲۸
کنترل ۲۴ ساعته	۷/۵۴ ± ۲/۷۱	۹/۶۱ ± ۲/۴۹
استرس ۱۲ ساعته	۸/۸۵ ± ۴/۸۷	۱۰/۲۵ ± ۳/۱۲
کنترل ۱۲ ساعته	۹/۰۹ ± ۵/۱۶	۸/۷۱ ± ۰/۹۹۴
استرس ۶ ساعته	۱۸/۰۸ ± ۱۲/۲۶	۸/۵ ± ۱/۴۱
کنترل ۶ ساعته	۱۵/۸۴ ± ۸/۸۸	۹/۵ ± ۰/۷۰۷۱
استرس نیم ساعته	۶/۵۱ ± ۳/۲۱	۱۰/۸۵ ± ۳/۳۸
استرس یک ساعته	۹/۳۳ ± ۴/۳۹	۱۱/۳۳ ± ۲/۹
کنترل یک ۲۴ ساعت ناشتا	۷/۰۳ ± ۴/۱۸	۱۰/۵۸ ± ۳/۳۲

\* دامنه انقباضات پریستالتیک با  $P < 0.05$  در گروه استرس ۲۴ ساعته نسبت به گروه کنترل ۲۴ ساعته معنی‌دار است.

عرضی از ناحیه فوندوس معده برداشته شد، سپس این نوار به کمک یک نخ به ترانسدیوسر ایزوتونیک با Perload ۲ گرم وصل شد. ترانسدیوسر از یک طرف به کامپیوتر وصل بود که به این ترتیب انقباضات معده هر موش صحرایی به طریق کامپیوتری ثبت می‌گردید و دمای حمام بافتی در حد ۲۶/۵-۲۷ درجه سانتی‌گراد حفظ می‌شد و با مخلوط گازی کربوژن (۹۵٪  $O_2$  و ۵٪  $CO_2$ ) ری پرفیوز می‌شد. بعد از دو بار شستشوی قطعه مجزای معده به فواصل ۱۵ دقیقه، در دقیقه ۴۵، یک دوز ۰/۲mg/ml استیل کولین (آگونیست رسپتور موسکارینی و نیکوتینی کولینرژیک) به بافت اضافه گردید که استیل کولین به عنوان معیاری برای سنجش انقباضات معده استفاده شد.

سپس برای نمونه ثبت شده در پایان کار فرکانس و دامنه انقباضات پریستالتیک و تونیک در گروه‌های مختلف آنالیز شد. نتایج به دست آمده با آزمون آماری student t test در گروه استرس با گروه کنترل مربوط مقایسه شد و سپس با آزمون آماری ANOVA گروه‌های استرس با هم و گروه‌های کنترل با یکدیگر مقایسه شدند و در هر مورد  $p < 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

در این مطالعه مشخص شد که از بین گروه‌های مورد مطالعه ۰/۵، ۱، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعته در مقایسه با گروه کنترل‌شان، تنها در گروه استرس ۲۴ ساعته، دامنه انقباضات پریستالتیک با گروه کنترل ۲۴ ساعته، Student t test تفاوت معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) داشته است و دامنه انقباضات پریستالتیک در سایر گروه‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌دار نداشته است (نمودار شماره ۱).

تغییر دامنه انقباضات پریستالتیک فقط در ۲۴ ساعت بعد از استرس غوطه‌وری در آب (فاز تاخیری) مشاهده شد و در هیچ یک از گروه‌های دیگر (۰/۵، ۱، ۶، ۱۲ ساعت بعد از استرس غوطه‌وری) این تغییر دامنه انقباضات پریستالتیک مشاهده نشد.

ولی ۱۲ ساعت بعد از استرس بیشتر بیان سیتوکین‌های التهابی مثل، TNF- $\alpha$  (Tumor Necrosis Factor) و IL-1 $\beta$  (Interleukin-1B) را داریم که در حقیقت یک پروسه التهابی در معده موش صحرائی را موجب می‌شود.<sup>(۱۷)</sup> شش ساعت بعد از استرس، سرعت آپوپتوزیس (مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده) در حداکثر اثر خود قرار می‌گیرد<sup>(۱۷)</sup> و همچنین فعالیت به دام اندازنده‌های (Scavenger) رادیکال‌های آزاد اکسیژنی که مهم‌ترین آن‌ها SOD (Super Oxide Dismutas) است کاهش می‌یابد<sup>(۱۸)</sup> و غلظت PGI2 (prostaglandin I2) به زیر سطح پایه کاهش می‌یابد و حضور PGI2 در کاهش آسیب لایه مخاطی معده از طریق مهار تجمع لوکوسیت‌ها موثر است.<sup>(۱۹)</sup>

یک و نیم ساعت بعد از استرس، فعالیت آنزیم cNOS (Nitric Oxide Synthase) به خصوص افزایش می‌یابد که خود باعث وازودیلاتاسیون می‌شود<sup>(۲۰)</sup> و همچنین  $\beta$ -آندورفین که یک endogenous opioid محسوب می‌شود، افزایش می‌یابد که این دو عامل در کاهش آسیب لایه مخاطی معده دخیل هستند.<sup>(۲۱)</sup>

با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه می‌توان گفت که پروتئین‌هایی توسط ژن‌هایی با time-course خاص در این زمان ایجاد شده‌اند که توانسته‌اند باعث تغییر رفتار انقباضی عضله صاف قطعه مجزای فوندوس معده موش صحرائی گردند. به منظور تکمیل این مطالعه می‌توان ماهیت دقیق این پروتئین‌ها را با الکتروفورز تعیین کرد و غلظت‌های سرمی و بافتی هر کدام از پروتئین‌ها را مشخص نمود.

#### نتیجه‌گیری

الگوی تغییرات حرکتی فقط در ۲۴ ساعت بعد از استرس غوطه‌وری در آب مشاهده گردید و در تمام موارد (۰/۵، ۱، ۶ و ۱۲ ساعت بعد از استرس) این تغییر حرکتی مشاهده نگردید. این افزایش تأخیری بعد از ۲۴ ساعت در حرکات انقباض ممکن است سنتز سلولی محصولات مشابه IEG (Immediate Early Gene) و HSPS (Heat Shoch Protein) مرتبط باشد.

منظور از ۵ دقیقه این است که بعد از اضافه کردن استیل‌کولین به حمام بافتی و ثبت انقباض ناشی از آن، بافت شستشو داده شد. زمانی که انقباضات بافت به حالت طبیعی بازگشت، دقیقه صفر نامیده شد و سپس انقباضات ثبت شده به فواصل ۵ دقیقه‌ای تقسیم گردید و فرکانس و دامنه انقباضات در این فواصل بررسی شد.

در حین آزمون ANOVA مشخص شد که دامنه انقباضات تونیک هم در گروه استرس ۲۴ ساعته نسبت به گروه استرس ۱ ساعته و ۰/۵ ساعته تفاوت معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) داشته است. همچنین دامنه انقباضات پریستالیتیک هم در گروه استرس ۶ ساعته نسبت به گروه استرس ۱۲ ساعته و نیم ساعته تفاوت معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) در حین آزمون ANOVA داشته است.

#### بحث

استرس غوطه‌وری در آب در موش صحرائی باعث بیان یک سری پروتئین‌ها می‌شود و هر پروتئینی برای ساخته شدن احتیاج به بیان ژن مربوط به خود را دارد و بیان هر ژن دارای یک time-course خاص خود می‌باشد. در واقع این time-course بیان ژن‌ها است که موجب تغییرات الگوهای انقباض معده می‌شود به طوری که ۲۴ ساعت بعد از استرس، تغییراتی در فاکتورهای سیستم فیبرینولیتیک ایجاد می‌شود و بیش از همه دو پروتئین PAI (Plasminogen Activator Inhibitor) و ECLT (Euglobulin Clot Lysis Time) هستند که ECLT طولانی می‌شود و PAI غلظتش افزایش می‌یابد و در حقیقت فرایند به سمت افزایش انعقاد خون و تاثیر بر microcirculation لایه مخاطی و در نتیجه پیشرفت آسیب لایه مخاطی معده است.<sup>(۱۵)</sup>

microcirculation لایه مخاطی معده در حفظ ساختار لایه مخاطی نقش مهمی دارد و تغییرات مورفولوژیک و عملکردی در microcirculation باعث کاهش جریان خون و اشباع اکسیژنی لایه مخاطی معده و ایجاد آروزیون و حتی اولسر معده می‌شود.<sup>(۱۶)</sup>

hemodynamics and gastric motility. *Gastroenterol J* 1990; 25(3): 299-305.

14- Oliver BL, Sha'afi RI, Hajjar JJ. Transforming growth factor alpha and epidermal growth factor activate mitogen-activated protein kinases and its substrates in intestinal epithelial cells. *Proc Soc Exp Biol Med* 1995; 210(2): 162-70.

15- Takada Y, Urano T, Takahashi H, Nagai N, Takada A. Effects of electric footshock and water immersion restraint stresses on fibrinolytic parameters in the plasma of rat. *Thromb Res* 1998; 89(3): 107-14.

16- Cho CH, Ogle CW. Modulatory action of adenosine on gastric function and ethanol-induced mucosal damage in rats. *Dig Dis Sci* 1990; 35(11): 1334-9.

17- Konturek PC, Brzozowski T, Duda A, Kwiecien S, Lober S, Dembinski A, et al. Epidermal growth factor and prostaglandin E(2) accelerate mucosal recovery from stress-induced gastric lesions via inhibition of apoptosis. *J Physiol Paris* 2001; 95(1-6): 361-7.

18- Kitamura M, Yamagishi S, Arakawa A, Kishi K, Watarai K, Itoh M, et al. Changes in mucosal superoxide dismutase activities of gastric lesions. *Rinsho Byori* 1989; 37(9): 988-93.

19- Harada N, Okajima K, Murakami K, Isobe H, Liu W. Gastric prostacyclin PG12 prevents stress-induced gastric mucosal injury in rats primarily by inhibiting leukocyte activation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 1999; 57(5-6): 291-30.

20- Hisanaga Y, Goto H, Tachi K, Hayakawa T, Sugiyama S. Implication of nitric oxide synthase activity in the genesis of water immersion stress-induced gastric lesions in rats: the protective effects of FK506. *Aliment pharmacol Ther* 1996; 10(6): 933-40.

21- Glickman Weiss EL, Nelson AG, Hearon CM, Goss FL, Robertson RJ. Are beta-endorphins and thermoregulation during cold-water immersion related? *Undersea Hyperb Med* 1993; 20(3): 205-13.

## تقدیر و تشکر

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران که هزینه این تحقیق را تقبل نمودند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع

1- Malara B, Josko J, Tyrpien M, Malara P, Steplewska K. Dynamics of changes in vascular endothelial growth factor(VEGF) expression and angiogenesis in stress-induced gastric ulceration in rats. *J Physiol Pharmacol* 2005; 56(2): 259-71.

2- Landeira-fernandez J. Analysis of the cold-water restraint procedure in gastric ulceration and body temperature. *Physiol Behav* 2004; 82(5): 827-33.

3- Chiba T. Future for basic and clinical studies on peptic ulcer disease. *Nippon Rinsho* 2004; 62(3): 429-34.

4- Dembinski A, Warzecha Z, Ceranowicz P, Brozozowski T, Dembinski M, Konturek SJ, et al. Role of capsaicin-sensitive nerves and histamine H1, H2, and H3 receptors in the gastroprotective effect of histamine against stress ulcers in rats. *Eur J Pharmacol* 2005; 508(1-3): 211-21.

5- Kwiecien S, Brzozowski T, Konturek PC, Pawlik MW, Pawlik WW, Kwiecien N, et al. The role of reactive oxygen species and capsaicin-sensitive sensory nerves in the pathomechanisms of gastric ulcers induced by stress. *J Physiol Pharmacol* 2003; 54(3): 423-37.

6- Ohta Y, Nishida K. Protective effect of coadministered superoxide dismutase and catalase against stress-induced gastric mucosal lesions. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2003; 30(8): 545-50.

7- Wolf S. The psyche and stomach. A historical vignette. *Gastroenterology* 1981; 80(3): 605-14.

8- Zhan X, Li Z, Cui Z, Duan Y, Nie S, Liu J, et al. Changes of rat gastric mucosal barrier under stress conditions. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi* 2002; 41(6): 374-7.

9- Ai HB, Zhang ZD. Studies on the mechanism of gastric mucosal injury induced by water-immersion stress in rats. *Sheng Li Xue Bao* 1990; 42(5): 296-502.

10- Garrick T, Buack S, Bass P. Gastric motility is a major factor in cold restraint-induced lesion formation in rats. *Am J Physiol* 1986; 250(2 Pt 1): 191-9.

11- tsukimi Y, okabe S. Recent advances in gastrointestinal pathophysiology: role of heat shock proteins in mucosal defense and ulcer healing. *Biol Pharm Bull* 2001; 24(1): 1-9.

12- Imaki T, Shibasaki T, Chikada N, Harada S, Naruse M, Demura H. Different expression of immediate-early genes in the rat paraventricular nucleus induced by stress: relation to corticotropin-releasing factor gene transcription. *Endocr J* 1996; 43(6): 629-38.

13- Yamaguchi T. Relationship between gastric mucosal

