

اثر زخم‌زای پردنیزولون بر روی مخاط معده خرگوش و نقش نوتروفیل‌ها

دکتر لیلا برجیان*
مهرافزین فشارکی†

چکیده

در مورد اثر زخم‌زای (Ulcerogenic) کورتیکواستروئیدها بر روی مخاط لوله گوارش، نظرات ضد و نقیضی وجود دارد. در تحقیق حاضر که جزئی از یک تحقیق گسترده‌تر است (بررسی نقش نوتروفیل‌ها در ایجاد آسیب مخاطی حاد توسط عوامل مختلف)، اثر پردنیزولون به عنوان یک داروی کورتیکواستروئید پرمصرف بر روی مخاط معده خرگوش (Rat) بررسی شد. پردنیزولون با دوز یک میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن، در نواحی خاصی از معده خرگوش (Rat) آسیب مخاطی حادی (پس از ۳ ساعت) را ایجاد نمود. ایجاد نوتروپنی متوسط بوسیله متوترکسیت (Methotrexate) توانست بصورت وابسته به "شدت نوتروپنی" ایجاد آسیب مخاطی حاد توسط پردنیزولون را کاهش دهد. نوتروپنی شدید ناشی از سرم ضد نوتروفیل از ایجاد آسیب مخاطی حاد توسط پردنیزولون جلوگیری نمود. یک قسمت از معده خرگوش که توسط پردنیزولون دچار آسیب حاد شد، مخاطی کاملاً مشابه مخاط مری داشت. بنابراین، احتمالاً پردنیزولون در مری نیز می‌تواند آسیب مخاطی حاد ایجاد بنماید. نوتروپنی در این ناحیه نیز از اثر زخم‌زای (Ulcerogenic) پردنیزولون کاست. بنابراین با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت که: (۱) پردنیزولون می‌تواند در مری و معده خرگوش (Rat) ایجاد آسیب مخاطی حاد بنماید. (۲) آسیب مخاطی حاد ناشی از پردنیزولون در مری و معده خرگوش، یک پدیده وابسته به نوتروفیل است.

کلید واژه‌ها: ۱- بیماریهای دستگاه گوارش ۲- پردنیزولون ۳- زخم پپتیک
۴- نوتروفیل ۵- بیماریهای معده ۶- زخم معده

مقدمه

زخم معده بیماری چند چهره‌ای است که علت آن همچنان ناشناخته باقی مانده است. در طی دو دهه اخیر، آقای بلاک با کشف اثر داروهای مسدودکننده گیرنده‌های H_2 تحول عظیمی در درمان این بیماری ایجاد کرد. این دسته از داروها از طریق کاهش ترشح اسید و پپسین عمل می‌کنند، در حالی که در بسیاری از بیماران مبتلا به زخم معده میزان ترشح اسید و پپسین در حد طبیعی و یا حتی کمتر از طبیعی است. تحقیقات سالهای اخیر بیشتر با قصد مشخص کردن

ساختار (Mechanism) بیماری صورت می‌گیرند تا بلکه بتوان موادی بدست آورد که بدون تأثیر بر میزان ترشح اسید و پپسین از جدار لوله گوارش محافظت کنند. بدین منظور اثر مواد مختلف زخم‌زا (Ulcerogenic) بر روی مخاط لوله گوارش مورد بررسی و تحقیق قرار می‌گیرد تا شاید راهگشائی برای مشخص شدن ساختار (Mechanism) بیماری باشد. در این تحقیق اثر پردنیزولون بر روی مخاط معده خرگوش (Rat) مورد بررسی قرار گرفته است. در بسیاری از تحقیقات

* استادیار فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی اصفهان

† مربی فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی اصفهان

تحقیق ب. اثر نوتروپنی ناشی از متوترکسیت (MTX) (۲/۵) میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن) بر روی ایجاد آسیب مخاطی حاد توسط پردنیزولون: این تحقیق به منظور بررسی نقش نوتروفیل‌ها در ایجاد آسیب مخاطی حاد توسط پردنیزولون انجام شد و خرموشها بطور اتفاقی به ۴ گروه ۶‌تایی تقسیم شدند:

گروه ۱: سالین فیزیولوژیائی (Physiological saline) (۱) میلی‌لیتر) به مدت ۳ روز به داخل صفاق تزریق می‌شد. در روز هشتم به حیوانات حلال پردنیزولون (۱ میلی‌لیتر آب) خوراندند (خوراندن دارو جهت زخم‌زائی [Ulcerogenesis]).

گروه ۲: تزریق داخل صفاقی MTX (۱ میلی‌لیتر حاوی MTX) به مقدار ۲/۵ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن) به مدت ۳ روز و خوراندن حلال پردنیزولون (۱ میلی‌لیتر آب) (خوراندن دارو جهت زخم‌زائی [Ulcerogenesis]) در روز هشتم

گروه ۳: تزریق داخل صفاقی سالین فیزیولوژیائی (۱) میلی‌لیتر) به مدت ۳ روز و خوراندن محلول پردنیزولون (۱) میلی‌لیتر حاوی پردنیزولون به مقدار ۱ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن) (خوراندن دارو جهت زخم‌زائی [Ulcerogenesis]) در روز هشتم

گروه ۴: تزریق داخل صفاقی MTX (۱ میلی‌لیتر حاوی MTX) به مقدار ۲/۵ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن) به مدت ۳ روز و خوراندن ۱ میلی‌لیتر محلول پردنیزولون (۱) میلی‌لیتر حاوی پردنیزولون به مقدار ۱ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن) (خوراندن دارو جهت زخم‌زائی [Ulcerogenesis]) در روز هشتم

تحقیق ج. بررسی اثر نوتروپنی شدید ناشی از سرم ضدنوتروفیل بر روی ایجاد آسیب مخاطی حاد توسط پردنیزولون: در این تحقیق خرموشها به ۴ گروه تقسیم شدند: گروه ۱: تزریق داخل صفاقی سالین فیزیولوژیائی (Physiological saline) (۱ میلی‌لیتر) و خوراندن حلال پردنیزولون (۱ میلی‌لیتر آب) (خوراندن دارو جهت زخم‌زائی) ۵ ساعت بعد از تزریق

قبلی نشان داده شده‌است که میزان بروز (Incidence) ضایعات حاد معدی در افرادی که کورتیکواستروئید مصرف می‌کنند از افراد عادی بیشتر نیست^(۱۲). بعضی از تحقیقات دیگر نشان داده‌اند که مصرف پردنیزولون در صورتی که با دوز زیاد و به مدت طولانی باشد، می‌تواند ایجاد آسیب مخاطی بکند^(۳،۲). با این حال دیده شده‌است که گاهی مصرف کوتاه مدت کورتیکواستروئیدها نیز در معده ایجاد آسیب حاد مخاطی می‌کند. در تحقیق حاضر اثر مصرف کوتاه مدت پردنیزولون، به عنوان یک کورتیکواستروئید پرمصرف، بر روی مخاط خرموش (Rat) بررسی شد. این بررسی به این منظور صورت گرفت که مشخص شود آیا زخم معده از عوارض مصرف کوتاه مدت دارو هم هست یا نه. در صورت مثبت بودن پاسخ شاید تحقیق در ساختار (Mechanism) ایجاد آن، به عنوان یک عارضه دارویی، بتواند ساختار اصلی ایجاد زخم معده را مشخص نماید.

روش بررسی

حیوانات مورد آزمایش خرموشهای (Rats) نر و ماده با وزن بین ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم بودند. خرموشها (Rat) طی شب بی‌غذا نگه داشته می‌شدند ولی آب در اختیارشان بود. حیوانات به سه دسته تحقیق و هر دسته به ۲ تا ۴ گروه، تقسیم می‌شدند. هر گروه حداقل شامل ۶ خرموش می‌شد. آزمایشها بدین ترتیب انجام گرفت:

تحقیق الف. بررسی اثر پردنیزولون بر روی مخاط معده خرموش (Rat): به منظور اینکه مشخص شود پردنیزولون اثر زخم‌زای (Ulcerogenic) حاد دارد یا خیر، این دسته از آزمایشها انجام شد. در این تحقیق خرموشها (Rat) به دو گروه تقسیم شدند.

گروه ۱ (گروه شاهد): به این گروه ۱ میلی‌لیتر حلال پردنیزولون (آب) خوراندند می‌شد.
گروه ۲: به این گروه ۱ میلی‌لیتر محلول پردنیزولون (حاوی پردنیزولون به مقدار یک میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن) خوراندند می‌شد.

گروه ۲: تزریق داخل صفاقی سالیین فیزیولوژیائی (*Physiological saline*) (۱ میلی‌لیتر) و خوراندن محلول پردنیزولون (۱ میلی‌لیتر حاوی پردنیزولون به مقدار ۱ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن) (خوراندن دارو جهت زخم‌زائی) ۵ ساعت بعد از تزریق

گروه ۳: تزریق داخل صفاقی سرم طبیعی خرگوش (*NRS*) (۱ میلی‌لیتر) و خوراندن محلول پردنیزولون (۱ میلی‌لیتر حاوی پردنیزولون به مقدار ۱ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن) (خوراندن دارو جهت زخم‌زائی) ۵ ساعت بعد از تزریق

گروه ۴: تزریق داخل صفاقی سرم ضد نوتروفیل (۱ میلی‌لیتر) و خوراندن محلول پردنیزولون (۱ میلی‌لیتر حاوی پردنیزولون به مقدار ۱ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن بدن) (خوراندن دارو جهت زخم‌زائی) ۵ ساعت بعد از تزریق

۳ ساعت پس از خوراندن دارو جهت زخم‌زائی (*Ulcerogenesis*) حیوانات به وسیله وارد کردن ضربه به سر کشته شده، معده آنها خارج می‌گردید. معده از طرف انحنای بزرگ باز شده، بر روی تخته پهن می‌گردید و سپس به وسیله سالیین فیزیولوژیائی (*Physiological saline*) شستشو می‌شد. بلافاصله آسیب‌های قابل رؤیت معده به طریق زیر نمره‌دهی می‌شدند (۹،۵):

وجود پستی‌های قابل رؤیت = ۱

آسیب‌های مساوی یا کوچکتر از ۲ میلی‌متر = ۲

آسیب‌های بین ۲ تا ۴ یا مساوی ۴ میلی‌متر = ۳

آسیب‌های بین ۴ تا ۶ یا مساوی ۶ میلی‌متر = ۴

آسیب‌های بزرگتر از ۶ میلی‌متر = ۵

از جمع نمره‌هایی که به طریق فوق برای هر معده بدست می‌آمد، نمره کل آن مشخص می‌شد.

پس از نمره‌دهی ظاهری (*Gross*)، معده در فرمالین ۱۰٪ تثبیت می‌شد. سپس تمام معده به ۸ رشته مساوی تقسیم شده، در پارافین قرار می‌گرفت. بعد ورقه ورقه می‌شد (به ضخامت ۶ میکرومتر) و با میکروسکوپ تحت بررسی قرار می‌گرفت. نمره‌دهی میکروسکوپی به طریق زیر (۶) انجام می‌شد.

بافت طبیعی = ۰

آسیب سطح و سلول‌های گوده‌های (*Pits*) معدی = ۱

آسیب سطحی غدد معدی = ۲

آسیب عمقی غدد معدی = ۳

زخم = ۴

از جمع نمره‌هایی که به طریق فوق برای هر معده بدست می‌آمد، نمره کل آن مشخص می‌شد.

همه نتایج بصورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده‌اند. اختلاف بین گروه‌های مختلف به وسیله تحلیل واریانس (*Analysis of variance*) مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی اختلاف بین دسته‌های یک گروه از برآزش (*Regression*) و آزمون *t* استفاده شد. مقادیر *P* کمتر از ۰.۰۵٪ به عنوان اختلاف آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

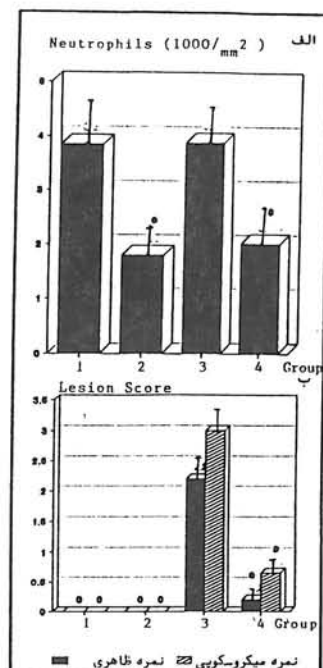
یافته‌ها

تحقیق الف. بررسی اثر پردنیزولون بر روی مخاط

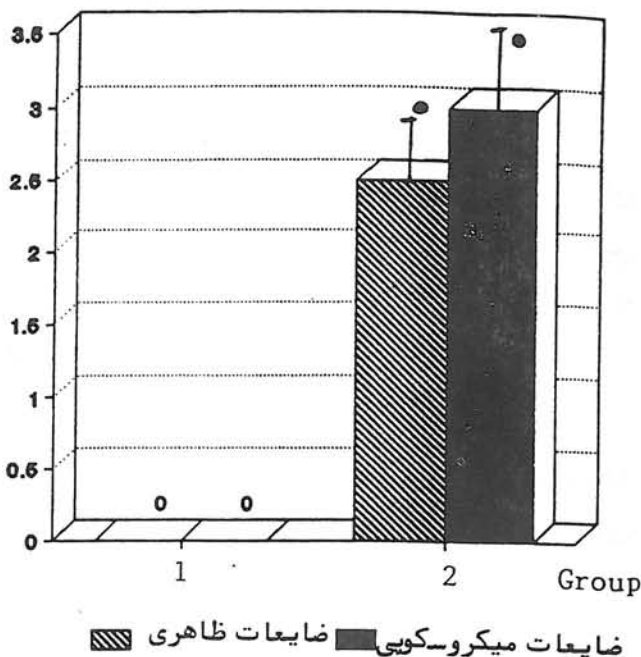
معدۀ خرگوش (*Rat*): همانطوری که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، در گروه ۱ (شاهد) که حلال پردنیزولون (آب) دریافت کردند، میزان آسیب صفر بود. در حالی که در گروه ۲ که محلول پردنیزولون دریافت کردند، آسیب مخاطی مشاهده شد. این آسیب بطور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد است ($P > 0.01$).

تحقیق ب. اثر نوتروپنی متوسط ناشی از MTX بر روی

ایجاد آسیب مخاطی حاد توسط پردنیزولون: همانطور که در نمودار ۲ دیده می‌شود MTX به تنهایی باعث کاهش نوتروفیل‌های موجود در گردش خون به میزان ۴۵٪ شده است. ولی آسیب مخاطی حاد در خرگوشها (*Rats*) ایجاد نکرده است. (مقایسه گروه ۱ و ۲). پردنیزولون در خرگوشهائی (*Rats*) که تعداد نوتروفیل طبیعی داشته‌اند (گروه ۳) به طور معنی‌دار ایجاد آسیب حاد مخاطی نموده است (مقایسه گروه ۳ با گروه ۱، $P > 0.001$). تجویز MTX قبل از پردنیزولون باعث کاهش معنی‌دار ایجاد آسیب حاد مخاطی توسط پردنیزولون شده است (مقایسه گروه ۳ و ۴، $P > 0.001$). برای بررسی بیشتر ارتباط بین ایجاد آسیب حاد مخاطی توسط پردنیزولون و تعداد نوتروفیل‌ها، تعداد ضایعات (ظاهری و میکروسکوپی) ایجاد شده در تمام خرگوشهائی (*Rats*) که پردنیزولون خورده بودند در مقابل تعداد نوتروفیل‌های هر کدام بر روی منحنی آورده شد (نمودار ۳). همانطور که در نمودار مشخص است،



Lesion Score



نمودار ۲- اثر تجویز متوترکسیت (MTX) بر روی تعداد نوتروفیل‌های گردش خون (الف) و ضایعات مخاطی معده ناشی از پردنیزولون (ب) به خرموشها (MTX) ۲/۵ میلی‌گرم به ازاء هر ۱ کیلوگرم از وزن) به مدت ۳ روز خوراندند می‌شد. گروه شاهد سالیین فیزیولوژیائی دریافت می‌کردند. در روز پنجم، پس از آخرین تجویز MTX، به خرموشها دارویی جهت زخم‌زائی (۱ میلی‌لیتر حلال یا ۱ میلی‌لیتر پردنیزولون حاوی یک میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن خوراندند می‌شد. شمارش نوتروفیل‌ها ۳۰ دقیقه قبل از خوراندن داروی زخم‌زا انجام می‌شد که نتایج آن در قسمت "الف" تصویر نشان داده شده‌است. ۳ ساعت پس از خوراندن داروی زخم‌زا، خرموشها کشته می‌شدند. در قسمت "ب" اطلاعات راجع به ضایعات مخاطی معده داده شده‌است. نتایج بدست آمده با چشم غیرمسلح، بوسیله ستونهای توپر و ضایعات بافتی میکروسکوپی بوسیله ستونهای توخالی نشان داده شده‌است. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار مربوط به ۶ خرموش است.

گروه ۱، سالیین فیزیولوژیائی و حلال دریافت کرده‌است. گروه ۲، MTX و حلال دریافت کرده‌است. گروه ۳، سالیین فیزیولوژیائی و پردنیزولون دریافت کرده‌است. گروه ۴، MTX و پردنیزولون دریافت کرده‌است.

الف: مقایسه با گروههای ۱ و ۳: $P > 0.001$

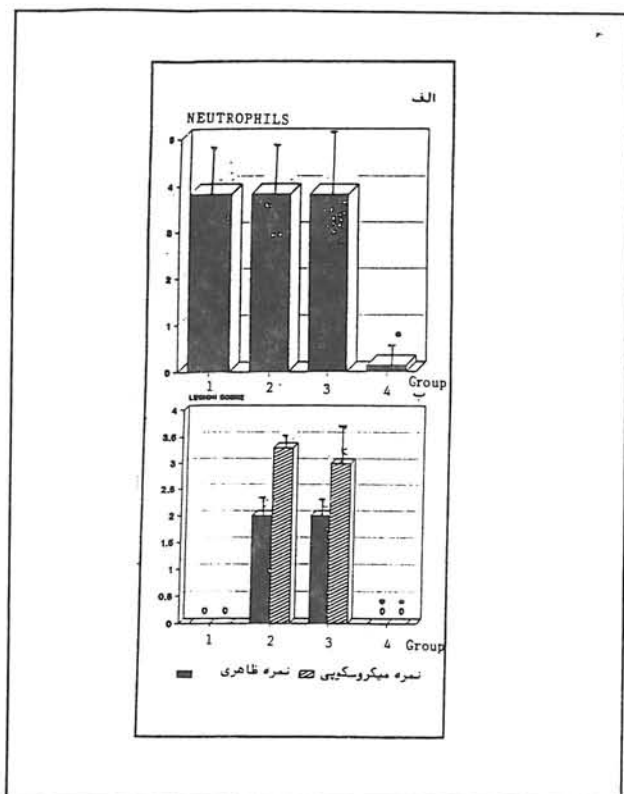
ب: مقایسه با گروههای ۱، ۲ و ۳: $P > 0.001$

نمودار ۱- ایجاد آسیب حاد مخاطی توسط پردنیزولون در گروه ۱ به خرموشها ۱ میلی‌لیتر حلال پردنیزولون (آب) خوراندند شد، در حالیکه به خرموشهای گروه ۲، یک میلی‌لیتر محلول پردنیزولون (۱ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن) داده شد. ۳ ساعت پس از خوراندن حلال یا پردنیزولون (خوراندن دارو جهت زخم‌زائی) خرموشها کشته می‌شدند. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار برای ۶ خرموش است.

● $P > 0.01$

ارتباط معنی‌داری بین تعداد ضایعات ایجاد شده و تعداد نوتروفیل‌ها وجود دارد (با چشم غیرمسلح $P > 0.05$ و $r = 0.685$ و با چشم مسلح $P > 0.05$ و $r = 0.66$) به عبارت دیگر درجه محافظت مخاطی حاصل از نوتروپنی در مقابل آسیب مخاطی حاد ناشی از پردنیزولون، مستقیماً متناسب با شدت نوتروپنی است.

تحقیق ج. اثر نوتروپنی شدید ناشی از سرم ضد نوتروفیل بر روی ایجاد آسیب حاد مخاطی توسط پردنیزولون: همانطور که در جدول ۱ می‌بینید، تجویز سرم ضد نوتروفیل خرگوش منجر



نمودار ۴- اثر تجویز سرم ضدنوتروفیل (ANS) بر روی تعداد نوتروفیل‌های گردش خون (الف) و ایجاد ضایعات مخاطی معده بوسیله پردنیزولون (ب) ۵ ساعت قبل از تجویز داروی زخم‌زا، به خرموشها ANS به صورت داخل صفاقی تزریق می‌شد (گروه ۴) در حالی که به گروههای شاهد (گروههای ۱ تا ۳) سالین فیزیولوژیایی و سرم طبیعی خرگوش تجویز می‌شد.

الف: شمارش نوتروفیل‌ها درست قبل از تجویز داروی زخم‌زا انجام می‌شد. خرموشها ۳ ساعت پس از تجویز این دارو (پردنیزولون ۱ میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم از وزن یا حلال پردنیزولون به عنوان شاهد) کشته می‌شدند.
ب- ضایعات مخاطی (نمره ضایعات رؤیت شده با چشم غیرمسلح به وسیله ستونهای توپر و نمره ضایعات رؤیت شده با میکروسکوپ بوسیله ستونهای توخالی نشان داده شده‌است)

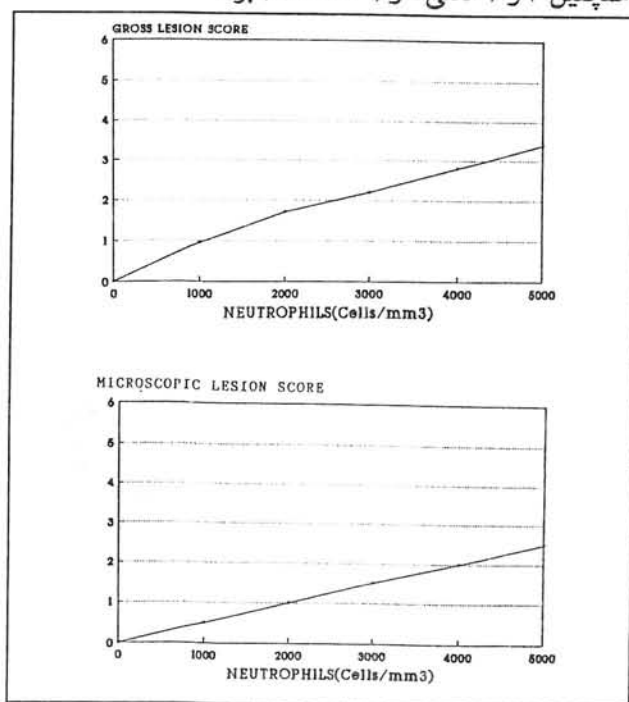
نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار برای ۶ خرموش است. گروه ۱، سالین فیزیولوژیایی و حلال دریافت کرده‌است. گروه ۲، سالین فیزیولوژیایی و پردنیزولون دریافت کرده‌است. گروه ۳، سرم طبیعی خرگوش و پردنیزولون دریافت کرده‌است. گروه ۴، سرم ضدنوتروفیل و پردنیزولون دریافت کرده‌است.

الف: نشان دهنده $P > 0.001$ در مقایسه با گروههای ۲، ۱ و ۳

ب: نشان‌دهنده $P > 0.001$ در مقایسه با گروههای ۲ و ۳

به ایجاد نوتروپنی شدید در گروه ۴ شده‌است، در حالی که تجویز سالین فیزیولوژیایی (Physiological saline) یا سرم طبیعی خرگوش در گروههای ۱ تا ۳، هیچ تأثیری بر روی تعداد نوتروفیل‌ها نداشته‌است.

مقایسه خرموشهایی (Rats) که تعداد نوتروفیل طبیعی داشته، محلول پردنیزولون دریافت کردند (گروه ۲ و ۳) با گروه شاهد (گروه ۱)، یعنی خرموشهایی که از نظر تعداد نوتروفیل مشابه این دو گروه بودند و به جای پردنیزولون حلال آن (آب) را دریافت کردند، نشان داد که پردنیزولون منجر به ایجاد آسیبهای مخاطی ظاهری (Gross) و میکروسکوپی بیشتری شده‌است که از نظر آماری کاملاً معنی‌دار است ($P > 0.001$) (نمودار ۴). تجویز سرم ضدنوتروفیل (گروه ۴)، باعث نوتروپنی شدید و همچنین محافظت کامل جدار در مقابل اثر پردنیزولون شده‌است. از این نظر، اختلاف معنی‌داری بین گروه ۱ و ۴ وجود نداشت. ولی اختلاف بین گروههای ۲ و ۴ و همچنین ۳ و ۴ معنی‌دار ($P > 0.05$) بود.



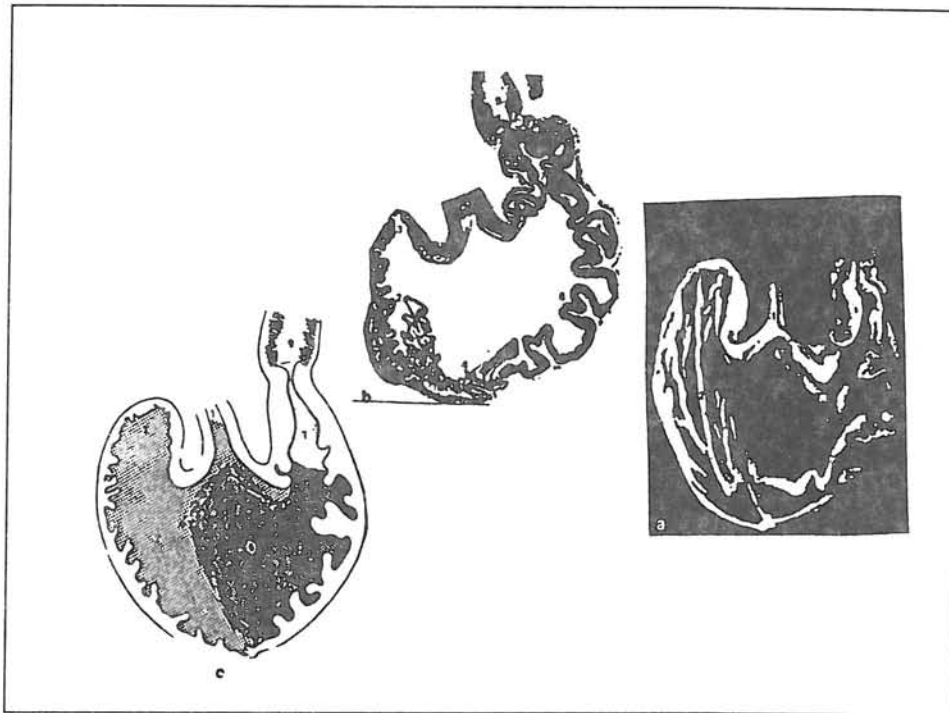
نمودار ۳- رابطه بین تخریب مخاطی حاد معده ناشی از پردنیزولون و تعداد نوتروفیل‌های گردش خون
الف: ارتباط بین تعداد ضایعات رؤیت شده با چشم و تعداد نوتروفیل‌ها، $r = 0.685$ و $P = 0.05$
ب: ارتباط بین تعداد ضایعات رؤیت شده با میکروسکوپ و تعداد نوتروفیل‌ها، $r = 0.660$ و $P = 0.05$

جدول ۱- شمارش نوتروفیل‌ها قبل و بعد از تجویز سالین فیزیولوژیائی (NS)، سرم طبیعی خرگوش (NRS) یا سرم ضدنوتروفیل (ANS)*

شمارش نوتروفیل‌ها (تعداد در میلی‌متر مکعب)

گروه	داروی تجویز شده	قبل از تزریق	پنج ساعت بعد از تزریق	هشت ساعت بعد از تزریق
۱	+NS حلال	۱۶۷±۳۸۰۰	۱۶۷±۳۸۰۰	۱۲۱±۳۸۳۳
۲	+NS پردنیزولون	۱۱۱±۳۸۵۰	۱۴۷±۳۸۸۳	۱۴۷±۳۸۸۳
۳	+NRS پردنیزولون	۸۷±۳۸۵۰	۱۲۱±۳۸۳۳	۱۳۶±۳۸۸۳
۴	+ANS پردنیزولون	۱۸۶±۳۸۶۶	†۱۷±۳۱۷۰	†۱۳±۱۳۷/۵

* اعداد بدست آمده میانگین ± انحراف معیار در ۶ خرگوش است. نوتروفیل‌ها ۵ ساعت پس از تزریق داخل صفاقی (درست از دریافت ماده زخم‌زا) و همچنین هشت ساعت بعد از تزریق (درست قبل از کشتن حیوانات) شمرده شده‌اند. گروه‌های ۱ و ۲ و ۳ به عنوان شاهد، سالین فیزیولوژیائی (NS) و سرم طبیعی خرگوش (NRS) دریافت کرده‌اند. در حالی که، گروه چهار یک میلی‌لیتر سرم ضدنوتروفیل (ANS) گرفته است. خرگوشها ۳ ساعت بعد از دریافت ماده زخم‌زا (پردنیزولون) به مقدار یک میلی‌گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن) کشته شده‌اند. † مقدار P نسبت به گروه شاهد کمتر از ۰/۰۰۱ است.



تصویر ۱- معده خرگوش

(a) نمای داخلی (b) نمای بافت‌شناختی (Histologic) (c) طرحی از سطوح پرده غشاء (۱) کاردیا (۲) بخش گرانولر (۳) *saccusceus* (۴) خط مرزی بین ناحیه گرانولر و ناحیه غیرگرانولر (۵) ناحیه‌ای که غدد کاردیا در آن قرار دارد (۶) ناحیه‌ای که غدد fundic در آن قرار دارد (۷) ناحیه‌ای که غدد پیلوری در آن وجود دارد (۸) اسفکتروپیلوری (۹) دوازده

جدول ۲- پراکندگی ضایعات مخاطی ناشی از پردنیزولون معده خرموش*

گروه درمانی	شمارش نوتروفیلها (تعداد در هر میلی‌متر مکعب)	نمره ظاهری ضایعات (میانگین \pm انحراف معیار)	نمره میکروسکوپی ضایعات (میانگین \pm انحراف معیار)	محل پراکندگی ضایعات
+NS پردنیزولون	۱۴۸+۳۸۸۳	۰/۸۹±۳/۳	۰/۵۱±۲/۶	۵ و ۴ و ۲
+NRS پردنیزولون	۱۳۶±۳۸۸۳	۳±۲/۳۳	۰/۸۱±۲/۳	۵ و ۴ و ۲
+MTX پردنیزولون	۱۳۲±۲۰۱۶	۰/۴±۰/۲۵	۰/۸۸±۰/۶۶	۴ و ۲
+ANS پردنیزولون	۱۳±۱۳۷/۵	۰	۰	-

* مقایسه بین پراکندگی محل ضایعات در حیواناتی که تعداد نوتروفیل‌های آنها طبیعی بود (گروه ۳ از تحقیق ب و گروه‌های ۲ و ۳ از تحقیق ج) با حیواناتی که دچار نوتروپنی شده بودند (گروه ۴ از تحقیق ج)

پراکندگی آسیب حاد مخاطی ناشی از پردنیزولون : مخاط

معه خرموش (*Rats*) به قسمت‌های مختلفی تقسیم می‌شود (تصویر ۱). مخاط ناحیه ۲ آن مشابه مخاط مری می‌باشد. پردنیزولون در نواحی ۴، ۲ و ۵ ایجاد آسیب مخاطی نمود (۵۰٪ در ناحیه ۲ و ۵۰٪ در ناحیه ۴ و ۵).

همان طور که در مقدمه اشاره شد، تحقیق حاضر قسمتی از یک تحقیق وسیع‌تر می‌باشد که تأثیر نوتروپنی را بر روی ایجاد آسیب حاد مخاطی ناشی از چند ماده مختلف زخم‌زا (*Ulcerogen*) بررسی می‌کند. ما در این رشته از تحقیقات، مواد زخم‌زای (*Ulcerogen*) مختلفی را مورد استفاده قرار دادیم. غیر از پردنیزولون، بقیه مواد به طور عمده باعث ایجاد آسیب حاد مخاطی در نواحی ۴ و ۵ معده خرموش (*Rat*) می‌شدند. در حالی که آسیب‌های مخاطی ناشی از پردنیزولون علاوه بر نواحی ۴ و ۵، در ناحیه ۲ نیز ایجاد می‌شد. مخاط ناحیه ۲ مشابهت بسیاری به مخاط مری دارد. نوتروپنی متوسط ناشی از *MTX*، ایجاد آسیب حاد مخاطی توسط پردنیزولون را در منطقه ۵ به صفر رساند و در منطقه ۲ و ۴ کاهش داد. نوتروپنی شدید ناشی از *ANS* به طور کامل از ایجاد ضایعات مخاطی ناشی از پردنیزولون در معده خرموش جلوگیری کرد (جدول ۲).

بحث و نتیجه‌گیری

در بین تحقیقاتی که در مورد کورتیکواستروئیدها و اثر آنها

بر روی مخاط معده انجام شده، اکثر موارد حاکی از آن هستند که میزان بروز (*Incidence*) ضایعات حاد معدی در افرادی که کورتیکواستروئید مصرف می‌کنند بیشتر از افراد عادی نیست^(۱). اما تعدادی از تحقیقات نشان داده‌اند که مصرف پردنیزولون با دوز زیاد و به مدت طولانی می‌تواند آسیب حاد مخاطی ایجاد کند^(۲،۳). به طور پراکنده دیده شده است که حتی با مصرف کوتاه مدت کورتیکواستروئیدها نیز گاهی آسیب حاد مخاطی بوجود می‌آید. علاوه بر کورتیکواستروئیدها، که در مورد زخم‌زا (*Ulcerogenic*) بودن آنها نظرات ضد و نقیض است، مواد و عوامل دیگری وجود دارند که در مورد آسیب‌رسانی آنها به مخاط لوله گوارش نظرات یکسان و موافق است^(۴،۵،۶،۹) چون ساختار (*Mechanism*) ایجاد زخم معده به طور کامل شناخته نشده است، این مواد مورد توجه قرار گرفته‌اند. سعی می‌شود با بررسی اثر این مواد بر روی مخاط معده و تحقیق در ساختار (*Mechanism*) ایجاد زخم (*Ulcer*) توسط آنها به روشن شدن ساختار (*Mechanism*) ایجاد زخم معده کمک شود. بسیاری از تحقیقات اخیر^(۴،۵،۶،۱۰،۱۱،۱۲) پیشنهاد می‌کنند که احتمالاً نوتروفیلها در ایجاد زخم توسط این مواد دخالت دارند. ابتدا *Kitahora* و *Guth*^(۷) نشان دادند که قبل از ایجاد آسیب حاد مخاطی توسط آسپیرین، ترومبوسهای (*Thrombi*) سفید در عروق میکروسکوپی مخاط ظاهر می‌شوند. سپس *Wallace* و همکاران^(۱۶) اظهار کردند که تجویز سرم ضدنوتروفیل (*ANS*) یا *MTX* به خرموشها منجر به

نوتروپنی شده، به کاهش ایجاد ضایعات حاد مخاطی توسط داروهای غیرآسپیرین غیراستروئیدی ضدالتهابی، مثل ایندومتاسین و ناپروکسین، می‌انجامد. پس از آن نشان‌داده شد پادتن (*Antibody*) مونوکلونالی که بر ضد مولکول چسبندۀ لکوسیت می‌باشد، می‌تواند از تحریک مخاطی ناشی از ایندومتاسین جلوگیری کند. این یافته نشان می‌دهد که چسبیدن لکوسیت به اندوتلیوم، یک قدم اساسی در ایجاد ضایعات حاد مخاطی توسط ایندومتاسین است^(۱۵). در نهایت نشان داده شد که نوتروفیل‌ها در ایجاد تخریب مخاطی لوله گوارش ناشی از اتانول با غلظت ۲۰٪ و ایسکمی نقش دارند^(۹). تحقیقاتی که به وسیله ضداکسایندوها (*Antioxidants*) صورت گرفتند، نقش نوتروفیل‌ها را در نمونه‌های مختلفی از آسیب‌های مخاطی تأیید نمودند^(۱۴،۱۳).

تحقیق حاضر دو چیز را نشان می‌دهد. اول این که پردنیزولون، که یکی از کورتیکواستروئیدهای پرمصرف است، می‌تواند منجر به ایجاد آسیب حاد مخاطی (پس از ۳ ساعت) بشود. دوم اینکه نوتروپنی می‌تواند ایجاد آسیب حاد مخاطی ناشی از پردنیزولون را در معده خرگوش (*Rat*) به طور معنی‌داری (*Significant*) کاهش دهد. در طی آزمایش‌های ما نوتروپنی به دو طریق ایجاد شد. کی بوسیله *ANS* که توسط پادتن (*Antibody*) باعث کاهش نوتروفیل‌های موجود در گردش خون می‌شد^(۱۳) و دیگری بوسیله *MTX* که با مهار گرانولوپوئیز در مغز استخوان باعث ایجاد نوتروپنی می‌شد^(۱۷،۱). در هر دو نمونه، نوتروپنی موجب محافظت مخاط از اثر زخم‌زای پردنیزولون شد. شدت محافظت در هر دو مورد به شدت نوتروپنی بستگی داشت. بنابراین یافته‌های ما نشان‌دهندۀ این است که نوتروفیل‌ها در ایجاد آسیب حاد مخاطی ناشی از پردنیزولون نقش بسیار مهمی دارند. این یافته‌ها، با یافته‌های *Wallace* و همکاران^(۱۶،۱۵) در مورد داروهای غیراستروئیدی غیرآسپیرین ضدالتهابی (ایندومتاسین و ناپروکسان) و *Lee* و همکاران^(۱۰) در مورد *ASA* شباهت بسیار دارد.

نتایج تحقیق ما همچنین نشان داد که آسیب حاد مخاطی ناشی از پردنیزولون بیشتر در ناحیه ۲ معده خرگوش (*Rat*)

(۵۲٪) ایجاد می‌شود. چون مخاط این ناحیه شبیه مخاط مری است، می‌توان نتیجه گرفت که پردنیزولون در مری نیز می‌تواند آسیب حاد مخاطی ایجاد کند. به علاوه نوتروپنی از ایجاد آسیب حاد مخاطی توسط پردنیزولون در ناحیه ۲ هم جلوگیری کرد. این امر نشان می‌دهد که احتمالاً ایجاد آسیب حاد مخاطی توسط پردنیزولون، در مری نیز یک پدیده وابسته به نوتروفیل است. در ضمن چون پردنیزولون علاوه بر نواحی ۴ و ۵، که سایر زخم‌زها (*Ulcerogens*) در آنها ایجاد آسیب می‌کردند، در ناحیه ۲ (ناحیه مشابه مری) هم ایجاد آسیب حاد مخاطی نمود، می‌توان نتیجه گرفت که ساختار (*Mechanism*) ایجاد زخم توسط این ماده با ساختار ایجاد زخم توسط سایر عوامل متفاوت است. همان طور که گفته شد شدت جلوگیری از آسیب حاد مخاطی توسط نوتروپنی به میزان کاهش نوتروفیل‌ها بستگی دارد. با کاهش نوتروفیل‌ها، اولین قسمتی که در مقابل اثر زخم‌زای (*Ulcerogenic*) پردنیزولون محافظت می‌شود، ناحیه ۵ معده است که نشان می‌دهد ایجاد آسیب حاد مخاطی در این ناحیه از معده خرگوش وابستگی شدیدتری به نوتروفیل دارد.

به طور خلاصه از این تحقیق نتیجه گرفته می‌شود که نوتروفیل‌ها در ایجاد آسیب حاد مخاطی ناشی از پردنیزولون در مری و معده خرگوش نقش مؤثری دارند.

منابع

- 1) Capizzi RL, Deconti RC, Marsh JC, et al: Methotrexate therapy of head and neck cancer: Improvement in the therapeutic index by the use of leucovorin rescue. *Cancer Res* 30: 1782-1788, 1970.
- 2) Caruso I, Bianchi Porro G: Gastroscopic evaluation of anti-inflammatory agents. *Br Med J* 280 (6207): 75-78, 1980.
- 3) Chon HO, Blitzer BL: Nonassociation of adrenocorticoid therapy and peptic ulcer. *N Engl J Med* 294: 423, 1976

- 4) Etienne A, Thonier F, Hocquet F, et al: Role of neutrophils in gastric damage induced by platelet-activating factor. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 338: 422-425, 1998.
- 5) Faust TW, Lee E, Redfern JS, et al: Effect of prostaglandin F3 alpha on gastric mucosal injury by ethanol in rats: Comparison with prostaglandin F2 alpha. *Prostaglandins* 37(4): 493-504, 1989.
- 6) Glavin GB, Szabo S: Experimental gastric mucosal injury: Laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. *FASEB J* 6: 825-831, 1992.
- 7) Kitahora T, Guth PH: Effects of aspirin plus hydrochloric acid on the gastric mucosal microcirculation. *Gastroenterology* 93: 810-817, 1987.
- 8) Kvietys PR, Twohig B, Danzell J, et al: Ethanol-induced injury to the rat gastric mucosa. Role of neutrophils and xanthine oxidase - derived radicals. *Gastroenterology* 98(4): 909-920, 1990.
- 9) Lee M, Feleman M: Nonessential role of leukotrienes as mediators of acute gastric mucosal injury induced by aspirin in rats. *Dig Dis Sci* 37(8): 1282-1287, 1992.
- 10) Lee M, Aldred K, Lee E, et al: Aspirin - induced acute gastric mucosal injury is a neutrophil-dependent process in rats. *AM J Physiol* 263(6 Pt 1): G 920-926, 1992.
- 11) Pihan G, Regillo C, Szabo S: Free radicals and lipid peroxidation in ethanol- or aspirin-induced gastric mucosal injury. *Dig Dis Sci* 32(12):1395-1401, 1987.
- 12) Piper DW: The treatment of chronic peptic ulcer. *Front Gastrointest Res* 6: 109, 1980.
- 13) Sandler H, Hogstrop H, Lundberg C, et al: Antiserum-induced neutropenia in the rat: Characterization of a rabbit anti-rat neutrophil serum. *Br J Exp Pathol* 68: 71-80, 1987.
- 14) Vaananen PM, Meddings JB, Wallace JL: Role of oxygen derived free radicals in indomethacin-induced gastric injury. *Am J Physiol* 261 (3 Pt 1): G 470-475, 1991.
- 15) Wallace JL, Artors KE, McKnight GW: A monoclonal antibody against the CD18 leukocyte adhesion molecule prevents indomethacin-induced gastric damage in the rabbit. *Gastroenterology* 100: 878-883, 1991.
- 16) Wallace JL, Keenan CM, Granger DN: Gastric ulceration induced by nonsteroidal anti-inflammatory drug is a neutrophil-dependent process. *Am J Physiol* 259 (3 Pt 1): G 462-467, 1990.
- 17) Willoughby DA, Giroud JD: The role of polymorphonuclear leucocytes in acute inflammation in agranulocytic rats. *J Pathol* 98(1): 53-60, 1969.

ULCEROGENIC EFFECT OF PREDNISOLONE ON RAT GASTRIC MUCOSA AND ROLE OF NEUTROPHILS

*L. Borjian, MD** *M. Fesharaki[†], MS*

ABSTRACT

The ulcerogenic effect of corticosteroids has always been subject of controversial discussion. In this study, which is a part of another extensive study (the role of neutrophil in induction of gastric mucosal injury by different agents), the effect of prednisolone, as a widely used corticosteroid, on the rat gastric mucosa, was investigated. Prednisolone (1 mg/kg) induced acute mucosal injury (after 3 hours) in special regions of the rat stomach.

Moderate neutropenia, induced by methotrexate, significantly reduced the prednisolone induced injury. Profound neutropenia induced by anti-neutrophil serum, completely prevented the induction of injury by prednisolone. A specific mucosal area of the rat stomach is quite similar to the mucosa of the esophagus. Neutropenia also diminished the ulcerogenic effect of prednisolone in this area. These findings suggest a role of neutrophil in induction of gastric, and probably eosophageal acute mucosal injury by prednisolone in rat.

Key Words: 1) Digestive system diseases

2) Prednisolone

3) Peptic ulcer

4) Stomach diseases

5) Neutrophil

6) Stomach ulcer

7) Gastric ulcer

* Assistant Professor of Physiology, Esfahan University of Medical Sciences and Health Services

† Instructor of Physiology, Esfahan University of Medical Sciences and Health Services