

# بررسی زخم معده ناشی از ایندومتاسین در موش صحرایی دیابتی

دکتر گیسو عدل گلچین

داروساز

## خلاصه

زخم معده یکی از شایع‌ترین بیماری‌هاست که فاکتورهای مختلفی در ایجاد آن دخیلند. در انگلستان سالانه ۲۰ میلیون بار داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAIDs) نسخه می‌شوند و آمریکاییان در هر سال حدود ۲ میلیارد دلار برای داروهای ضد درد بدون نسخه که اغلب حاوی NSAIDs می‌باشند، هزینه می‌نمایند که مصرف این داروها از دلایل عمده ایجاد زخم معده می‌باشد.

در بیماران دیابتی، به دلیل عوارض دیابت، افزایش شیوع زخم معده گزارش شده است. در این تحقیق به بررسی عوارض زخم‌زایی داروی ایندومتاسین در موشهای صحرایی دیابتی در مقایسه با موشهای سالم پرداخت شده است که نتیجه آن فرضیه تشدید زخم معده ناشی از NSAIDs در بیماران دیابتی را ثابت می‌کند.

تشدید زخم معده در بیماران دیابتی، به هیچ وجه به دلیل کاهش قندخون در این بیماران نمی‌باشد، بلکه عمدتاً به دلیل عوارض دیابت بر عروق خونی، کاهش میزان Blood flow عروقی معده و افزایش پس رفت یون هیدروژن در این بیماران می‌باشد که این عوامل به دلیل هم سو بودن با عوارض ناشی از داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی، سبب افزایش شدت زخم معده در این بیماران می‌شود.

## مقدمه

زخم معده یکی از بیماری‌های شایع می‌باشد که فیزیوپاتولوژی آن هنوز به خوبی روشن نشده است. سیر مزمن بیماری و عواقب ناشی از آن، هم چنین تکرار حملات حاد بیماری، کیفیت زندگی روزمره انسان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در بروز زخم معده مصرف داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی (NSAIDs)، فاکتورهای ژنتیکی، مصرف سیگار، عوامل سایکولوژیک و

هلیکوباکتر پیلوری مؤثر می‌باشد. برای مطالعه زخم معده می‌توان از روش‌های تجربی استفاده کرد، یکی از روش‌های مزبور مصرف ترکیبات ضد التهاب غیر استروئیدی از جمله ایندومتاسین برای ایجاد زخم حاد می‌باشد. در این تحقیق به بررسی زخم معده ناشی از ایندومتاسین در موش صحرایی دیابتی پرداخته شده است. هدف از این تحقیق با توجه به گزارش‌های حاکی از رایج بودن زخم معده در

بیماران دیابتی، بررسی خطر احتمالی ایجاد شده به علت دیابت در بیماران دیابتی، برای ابتلای بیشتر به آسیب مخاطی معده و در نتیجه شیوع بیشتر زخم معده، هنگام مصرف داروهای NSAIDs می‌باشد.

## ایجاد دیابت تجربی در حیوانات آزمایشگاهی

در آزمایشگاه می‌توان با موادی که باعث تخریب سلولهای بقای پانکراس می‌شوند، مثل آلوکسان، اسیداوریک، بعضی کینولون‌ها، دهیدرواسکوربیک اسید و استرپتوزوسین، دیابت تجربی ایجاد کرد. در این تحقیق از استرپتوزوسین (STZ) برای ایجاد دیابت تجربی استفاده شده است. میزان تزریق STZ جهت ایجاد دیابت تجربی، طبق منابع مختلف بین ۶۵-۷۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم از وزن حیوان گزارش شده است که می‌تواند به صورت تزریق IV یا IM باشد. حیوانات بین ۱۴ روز تا ۲ ماه پس از تزریق، با توجه به تفاوت‌های شرایط آزمایش، دیابتی شده‌اند (۱۰، ۸، ۲).

## اندازه‌گیری قند خون

قند خون حیوانات با روش آنزیمی گلوکز اکسیداز اندازه‌گیری شد تا از دیابتی بودن حیوانات اطمینان حاصل شود. این روش برای اندازه‌گیری مایع نخاع و سرم مناسب است.

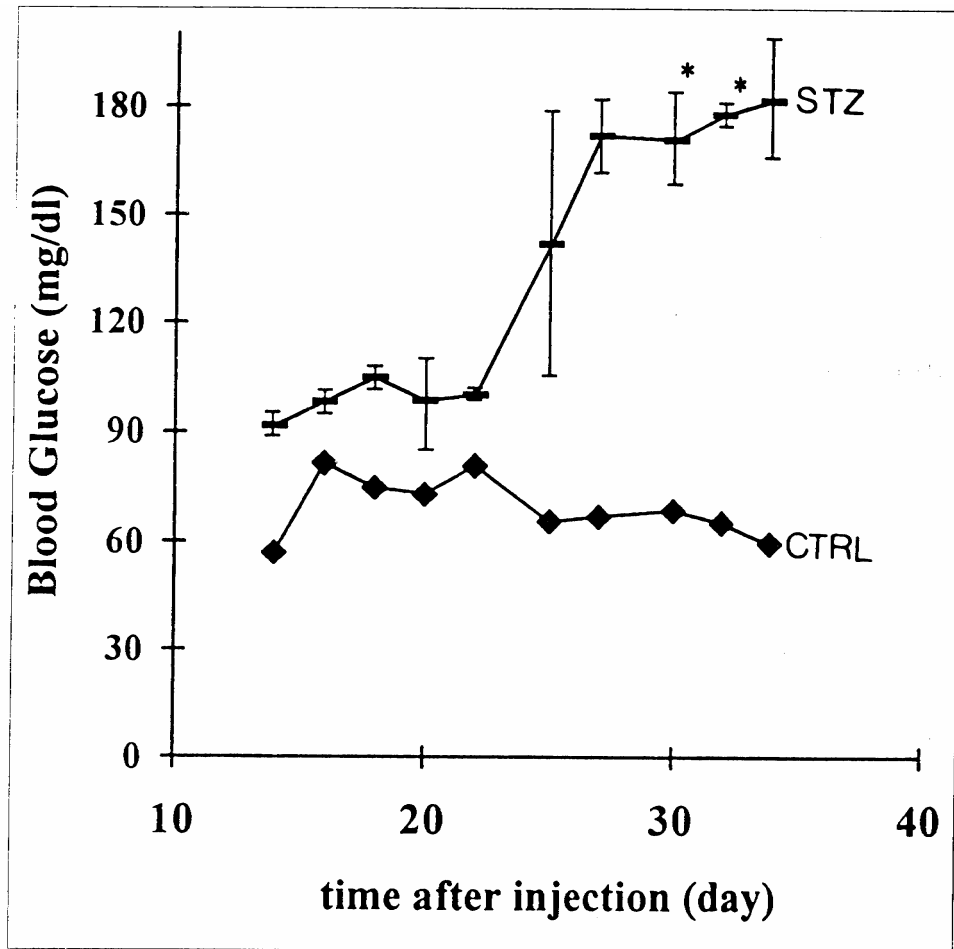
## مواد و روش کار

در این تحقیق از موش‌های سفید صحرایی نر از نژاد Wistar استفاده شد. موش‌ها به چهار دسته تقسیم شدند: دسته اول به‌عنوان کنترل

انتخاب شده و هیچ‌گونه دارویی به جز نرمال سالین به آنها تزریق نشد و قند خون این گروه به‌عنوان گروه کنترل اندازه‌گیری شد. دسته دوم موش‌هایی بودند که فقط ایندومتاسین دریافت کرده و زخم معده در آنها بررسی شد. به دسته سوم تزریق استرپتوزوسین انجام گردید و برای رسم نمودار افزایش قند خون پس از تزریق استرپتوزوسین و تعیین روز مناسب تزریق ایندومتاسین از آنها استفاده شد و معده آنها نیز جهت بررسی زخم احتمالی ناشی از STZ بررسی شد. دسته چهارم موش‌های دیابتی بودند که در آنها به وسیله تزریق ایندومتاسین زخم ایجاد نمودیم.

الگوی کلی کار بدین صورت بود که ابتدا به موش‌های دسته سوم داروی STZ به میزان ۶۵mg/kg به‌صورت داخل صفاقی (IP) تزریق شد و از روز چهاردهم پس از تزریق در فواصل مساوی از دو موش که STZ دریافت کرده بودند و یک موش کنترل، خون‌گیری شد که طبق نمودار ذیل و نتایج به دست آمده، موش‌های دریافت‌کننده STZ به مرور زمان میزان گلوکز خونسشان بالا می‌رفت و در محدوده روز سی‌ام قند خون تقریباً ثابت شد که دلیل دیابتی بودن موش‌ها در این محدوده زمانی در نظر گرفته شد. آزمایشات بعدی که شامل بررسی زخم معده بود، روی موش‌های دیابتی انجام شد.

برای ایجاد زخم معده، موش‌ها به مدت ۴۸ ساعت گرسنه نگهداشته شده و در این مدت فقط از آب آشامیدنی استفاده می‌کردند. تزریق ایندومتاسین ۵۰mg/kg به‌صورت داخل صفاقی انجام شد. در این مرحله موش‌ها چهار دسته بودند:



نمودار ۱- مقایسه قندخون حیوانات کنترل و تزریق شده توسط استرپتوزوسین از روز چهاردهم تا روز سی و چهارم پس از تزریق ( $P < 0.001$ )

سی‌ام تزریق ایندومتاسین به آنها انجام شد. دسته چهارم موش‌های دیابتی بودند که به روش فوق دیابتی شده بودند و معده آنها جهت بررسی زخم احتمالی ناشی از استرپتوزوسین باز شد.

#### بررسی زخم‌ها

۴ ساعت پس از تزریق ایندومتاسین ابتدا از

دسته اول گروه کنترل که فقط یک سی‌سی نرمال سالین دریافت کردند. دسته دوم گروه سالم دریافت‌کننده ایندومتاسین بودند.

دسته سوم موش‌هایی بودند که قبلاً در دو مرحله با فاصله ۱۴ روز، استرپتوزوسین به آنها تزریق شده بود و پس از دیابتی شدن، حدود روز

موش‌ها خون‌گیری شده و قند خون آنها تعیین شد، سپس معده آنها باز و با جریان ملایم آب شسته شده و به بررسی زخم‌ها پرداخته شد. آسیب‌های مخاطی را به‌طور ماکروسکوپی بررسی کرده و براساس خونریزی سطحی، زخم‌ها و تعداد آنها درجه‌بندی بین ۰ تا ۴ به آنها داده شد. سپس ulcer Index محاسبه شده، به‌صورت  $ulcer\ Index \pm S.E.M$  گزارش شد.

### نتایج

پس از بررسی زخم معده در چهار گروه یاد شده نتایج زیر به دست آمد.

- در گروه کنترل هیچ زخمی مشاهده نشد.
- در موش‌های دیابتی که فقط STZ دریافت کرده بودند نیز هیچ‌گونه زخمی دیده نشد.
- در گروه دیابتی دریافت‌کننده ایندومتاسین نسبت به گروه سالم دریافت‌کننده ایندومتاسین، تعداد زخم‌ها و وسعت آنها به‌طور واضحی

بیشتر بود که مقایسه بین ulcer Index و Incidence زخم بین این دو گروه در جدول ۱ نشان داده شده است.

در مقایسه بین  $Ulcer\ Index \pm S.E.M$  در دو گروه نرمال و دیابتی، طبق Student Unpaired t-test,  $P < 0/001$  به دست آمد که دارای ارزش آماری بسیار بالا می‌باشد.

جدول ۲ تفاوت قند خون در سه گروه کنترل، گروه‌های سالم و دیابتی دریافت‌کننده ایندومتاسین را نشان می‌دهد.

- در مقایسه بین دو گروه دریافت‌کننده In + STZ با In,  $P < 0/001$  به دست آمد که دارای ارزش آماری بسیار بالا می‌باشد.
- در مقایسه بین دو گروه دریافت‌کننده In و گروه Ctrl, دارای ارزش آماری نبود.
- در مقایسه بین دو گروه دریافت‌کننده In + STZ و گروه Ctrl,  $P < 0/001$  بود که دارای ارزش آماری بسیار بالا می‌باشد.

جدول ۱- فراوانی زخم‌ها و وسعت آنها در دو گروه مورد بررسی دریافت‌کننده ایندومتاسین

	Indomethacin (mg/kg)	Grade	Mucosal lesions		Ulcer Index (Mean $\pm$ S.E.M)	Incidence
			Number	%		
موش‌های دیابتی	۵۰	۰	۰	۰	$2/85 \pm 0/76$	۱۰۰
		۱	۰	۰		
		۲	۰	۰		
		۳	۳	۱۵		
		۴	۱۷	۸۵		
موش‌های نرمال	۵۰	۰	۰	۰	$1/7 \pm 0/48$	۱۰۰
		۱	۳	۴۲/۸۵		
		۲	۳	۴۲/۸۵		
		۳	۱	۱۴/۳		
		۴	۰	۰		

جدول ۲- میزان قند خون در سه گروه دریافت کننده ایندومتاسین

Drugs	Number	Blood glucose level (mg/dl) (Mean ± S.E.M)
Saline (Ctrl)	۱۰	۶۹/۳۷ ± ۲/۶۲
In. + stz	۲۰	۱۸۰/۴۴ ± ۴/۴۵
In	۷	۷۵/۵ ± ۴/۱۸

## بحث

دکتر lennart و همکارانش در سال ۱۹۶۱، (۹) شیوع اختلالات معدی را در بیماران دیابتی و Goyal , Katz la در سال ۱۹۶۶، (۷) و ۱۹۷۱، (۵) شدت و رایج بودن زخم معده را در این بیماران گزارش دادند.

تحقیق James و همکارانش در سال ۱۹۸۱ و بررسی وجود زخم معده ذاتی در رت‌هایی که به طور مادرزادی دیابتی بودند، نشان داد که زخم معده به طور ذاتی در ۴۳٪ موش‌های دیابتی و ۹/۷٪ موش‌های سالم وجود دارد که در رت‌های دیابتی که زخم معده در آنها دیده شده و رت‌های دیابتی که معده سالم داشته‌اند، مقدار گلوکز ادرار یکسان ولی کتون ادرار در گروه اول بیشتر بوده است و قابل ذکر است که استفاده مداوم از انسولین سبب کاهش تعداد زخم‌ها و شیوع آن در رت‌های دیابتی می‌شود (۶).

در تحقیقات سال ۱۹۹۵ به وسیله Chen - Road و همکارانش، نقش مهم پس‌رفت یون هیدروژن در ایجاد زخم موکوس معده و درمان این زخم‌ها با دارو در رت‌های دیابتی، مورد تحقیق قرار گرفت و چنین نتیجه‌گیری شد که اثر اصلی ایجاد زخم معده در رت دیابتی، افزایش پس‌رفت یون هیدروژن به دلیل ورم معده و هم‌چنین شکستن سد لایه

موکوسی، تغییرات نفوذپذیری عروق به دلیل دیابت و تشدید عمل پس‌رفت یون هیدروژن می‌باشد و ارتباطی به افزایش ترشح اسید معده که در بعضی تحقیقات به آن اشاره شده بود، ندارد. در موش‌های دیابتی کاهش جریان خون موکوسی نیز مشاهده شده که به دلیل تغییرات پاتولوژیک سرخرگ‌ها و مشکلات همودینامیک به وجود می‌آید (۲).

در رت‌های دیابتی برگشت نمک‌های صفراوی به معده نیز شایع بود (۲) که در این تحقیق نیز برگشت صفرا به معده در رت‌های دیابتی مشاهده شد که این عامل نیز طبق تحقیقات Darenport در سال ۱۹۶۸، (۳) و Ritchi در سال ۱۹۷۵، (۱۲) و Whittle در سال ۱۹۷۷، (۱۳) به دلیل خواص فعالیت سطحی می‌تواند باعث صدمه به موکوس معدی شده و باعث تحریک پس‌رفت یون هیدروژن از لومن به موکوس می‌گردد و با توجه به تحقیقات آقایان جهانگیری و ابطی در سال ۱۹۷۵ می‌توان گفت مسلماً در پاتورژن، زخم‌های معدی ایجاد شده با NSAIDS موثر است (۱۴).

در سال ۱۹۸۸، دکتر Pychaturawat به بررسی آسیب موکوس معدی ایجاد شده در رت دیابتی به وسیله STZ پرداخت که این آسیب‌ها

میکروسکوپی و شامل پرخونی موکوس، ریختن یاخته‌های اپی‌تلیوم سطحی و خونریزی پراکنده شدید در حیوانات بود (۱۱). اما در این تحقیقات هیچ‌گونه تغییر ماکروسکوپی در موکوس معده بر اثر تزریق STZ مشاهده نگردید.

می‌توان با توجه به هم‌سو بودن نتایج به دست آمده در تشدید زخم معده به وسیله بیماری دیابت، چنین پیشنهاد کرد که شیوع زخم معده در بیماران دیابتی می‌تواند به دلایل زیر باشد:

- ۱- آسیب موکوس معدی به‌طور ذاتی در دیابت.
- ۲- افزایش پس‌رفت یون هیدروژن به دلیل آسیب سد موکوس معدی.
- ۳- افزایش نفوذ عروق معدی به دلیل آزاد شدن هیستامین

- ۴- کاهش جریان خون مخاط معده
- ۵- برگشت نمک‌های صفراوی به معده و از آنجایی که ایندومتاسین با افزایش نفوذپذیری به یون هیدروژن، مهار ترشح موکوس، کاهش جریان مخاط، مهار سنتز پروستاگلاندین‌ها، برگشت نمک‌های صفراوی به معده، کاهش قند خون و تحریک سیستم glucoprivic به ایجاد زخم در بیماران دیابتی کمک می‌کند، افراد دیابتی در صورتی که از داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی استفاده کنند، بیش از افراد سالم در معرض ابتلا به مشکلات معدی و زخم معده می‌باشند، مخصوصاً اگر به‌طور مداوم و منظم به درمان دیابت توسط انسولین اهمیت ندهند.

#### منابع:

1. Abtahi, F.S. & Djahanguiri, B. Decreased incidence of Indomethacin induced gastric ulceration in rats by bile duct diversion. *Br. I. Surg.*, 62: 113 - 114. 1975
2. Chen - Road Hung and Eng - Yen Huang. Role of acid back - diffusion in the formation of mucosal ulceration and its treatment with drugs in diabetic rats. *I. pharm. pharmacol*, 47: 493 - 498. 1995.
3. Darenport, H.W., Chaver, V.I. Destruction of the gastric mucosal barrier by detergents and urea. *Gastroenterology*, 54: 175 - 181. 1968.
4. Du Plessis. D.j. Pathogenesis of gastric ulceration. *Lancet*, i, 974 - 978. 1965.
5. Goyal, R.K. Spiro, H.M. Gastrointestinal manifestations of Diabetes mellitus, *Med - Clin - North Am*. 55: 1031 - 1044. 1971.
6. James R Wright, Jr. Allan J Yates, Hari M Sharma, and Pierre Thibert. Spontaneous Gastric Erosions and Ulceration in BB Wistar rats. *Laboratory Animal Sciences*. P: 63 - 66. 1981.
7. Katz LA, Spiro H.M. Gastrointestinal manifestations of diabetes. *N.Engl. J. Med*: 275: 1350 - 61. 1966.
8. Koji Takehara, Kimihito Tashima. Shinichikato and Kojitakeuchi. Failure of the nitric oxide synthase inhibitor to stimulate duodenal bicarbonate secretion in streptozotocin - diabetic rats. *Life Science*. Vol. 60. No. 17, PP. 1505 - 1514, 1997.
9. Lennart, A. Gerhand. D. ,Lehmann, K.E. The gastric mucosa in diabetes mellitus - a functional and histopathological study. *Acta Medica Scandinavia*. 169. fasc. 3: 339 - 349. 1971.
10. O. Garcia Hermida, T. Fontela, M. Ghiglione & L.O.Uttenthal. Effect of lithium on plasma glucose, insulin and glucagon in normal and STZ - diabetic rats: Role of the hyperglycemic response. *Br. I. Pharmacol*. 111, 861 - 865. 1994.
11. Piyachaturawat, P., Poprasit, I. Glinsukon, T., Waichanon, C. Gastric mucosal lesions in STZ - diabetic rats. *Cell. Biol. Int. Rep*. 12: 53 - 63. 1988.
12. Ritchie, W.P. Acute gastric mucosal damage induced by bile salts, acid and ischemia. *Gastroenterology*. 68: 699 - 704. 1975.
13. Whittle, B.J.R. Mechanism underlying gastric damage induced by indomethacin and bile salts and the action of prostaglandins. *Br.J. Pharmacol*. 60: 455 - 460. 1977.