

نقش محافظتی استروژن و پروژسترون بر بافت معدی به دنبال ایسکمی - رپرفیوژن معدی در موش‌های صحرایی نر

دکتر زکیه کشاورزی^۱، رضا محبتی^۲، وجیهه علی‌خانی^۳، دکتر بهرام بیباک^۱، دکتر موسی الرضا حاج‌زاده^۳

نویسنده‌ی مسوول: ^۱دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، گروه فیزیولوژی zakieh_keshavarzi@yahoo.com

دریافت: ۹۲/۱۱/۱۹ پذیرش: ۹۳/۶/۸

چکیده

زمینه و هدف: آسیب ایسکمی - رپرفیوژن مجدد (I/R) (Ischemia-Reperfusion) به کرات در شرایطی مثل جراحی، هموراژی، سوختگی، تروما و عفونت اتفاق می‌افتد. همچنین مشخص شده است که جنس ماده مقاومت بیشتری نسبت به جنس نر دارد که نشان دهنده عملکرد محافظتی هورمون‌های جنسی زنانه است. لذا هدف از این تحقیق تعیین نقش استروژن، پروژسترون و ترکیب این دو استروئید در حفاظت از آسیب معدی ناشی از I/R می‌باشد.

روش بررسی: ۴۰ سر رت نژاد ویستار به طور تصادفی به چهار گروه سالم (intact)، آسیب ایسکمی - رپرفیوژن (I/R)، +I/R (استرادیول با دوز ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم (E)، +I/R پروژسترون با دوز ۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم (P) و +I/R ترکیب استرادیول (۱ میلی‌گرم در کیلوگرم) + پروژسترون (۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) تقسیم شدند. بعد از بیهوشی حیوان و لاپاراتومی، شریان سلیاک به مدت ۳۰ دقیقه مسدود شده و سپس گردش خون به مدت ۲۴ ساعت برقرار شد و نهایتاً پارامترهای مورد نظر بررسی گردید. نتایج بصورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان و $P < 0.05$ معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها: غلظت اسید معدی بعد از القای آسیب ایسکمی - رپرفیوژن معدی به مقدار قابل توجهی افزایش یافت ($P < 0.001$). درمان با استرادیول، پروژسترون ($P < 0.05$) و ترکیب استرادیول و پروژسترون ($P < 0.01$) به‌طور معناداری میزان اسید معدی را کاهش داد. ارزیابی هیستوپاتولوژیک بافت معدی نشانگر حضور یک زخم معده‌ی فعال همراه با خراش‌های سطحی و خونریزی، ادم زیر مخاطی و التهاب مشخص در گروه ایسکمی - رپرفیوژن بود. در گروه‌های تحت درمان با استروژن و پروژسترون، اولسر مشاهده نشد و لیکن خراش‌های سطحی، ادم و التهاب دیده شد. **نتیجه‌گیری:** با توجه به اثرات کاهش دهنده‌ی اسید و ویژگی‌های محافظتی استروژن و پروژسترون بر بافت معدی به دنبال آسیب ایسکمی - رپرفیوژن معدی ایجاد شده، شاید بتوان از استروئیدهای جنسی زنانه در رفع اختلالات ایسکمیک دستگاه گوارش استفاده کرد.

واژگان کلیدی: استروژن، پروژسترون، اسید معده، موش صحرایی، ایسکمی - رپرفیوژن

مقدمه

آسیب ایسکمی - رپرفیوژن (I/R) که اغلب در پاتولوژی‌های جراحی ایجاد می‌شود حایز اهمیت می‌باشد زیرا سبب مشکلات کلینیکی جدی در بافت‌های مختلف می‌گردد. علاوه بر پاتولوژی‌های جراحی، در شرایط شوک مانند هموراژی، سوختگی، تروما، عفونت و یا در فتق‌های مخفی و در چسبندگی‌های فیبروزی که به‌طور مکانیکی عروق

۱- دکترای تخصصی فیزیولوژی، استادیار گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد

۲- کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۳- دکترای تخصصی فیزیولوژی، استاد گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

گرددیده است که استروئیدها اعمال فیزیولوژیک متعددی مانند رشد و تمایز را انجام می‌دهند که نه تنها از طریق اندوکرین عمل می‌کنند بلکه به‌طور اتوکرین و پاراکرین هم وارد عمل می‌شوند. اگر چه تخمدان‌ها یک منبع اصلی استروژن سیستمیک در زنان می‌باشند، اما در دستگاه گوارش (سلول‌های جداری) نیز به‌عنوان یک منبع استرویدی نقش دارند (۱۲). استرادیول (E) و پروژسترون (P) نقش محافظتی در پاسخ التهابی و تغییرات اپیتلیال معدی در طی عفونت *H.pylori* حیوانات ماده دارند. مطالعات دیگر نشان داده است که E و P اثرات ضد زخم در مخاط معدی دارند (۱۳). همچنین در ترشح اسید معدی از لحاظ جنسیت تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای گزارش شده است، به‌طوری‌که زنان اسید کمتری نسبت به مردان ترشح می‌کنند (۱۴). مطالعات در موش‌های ماده و زنان نشان داد که استروژن‌های سرمی باعث مهار ترشح اسید معدی می‌شوند. با توجه به اینکه هر دو گیرنده $ER\alpha$ و $ER\beta$ در سلول‌های اپیتلیال معدی بیان می‌گردد پیشنهاد شده است که استروژن ممکن است به‌طور مستقیم فعالیت ترشجی این سلول‌ها را تنظیم کند (۱۵). لذا با توجه به وقوع زیاد آسیب ایسکمی - رپرفیوژن در بدن به‌ویژه در سیستم گوارشی و نقش غیر قابل انکار استروئیدهای جنسی زنانه در حفاظت بافتی ناشی از ایسکمی - رپرفیوژن، مطالعه‌ی حاضر به‌منظور تعیین نقش استروژن، پروژسترون و ترکیب این دو استروئید در حفاظت از آسیب معده ناشی از I/R طراحی شد.

روش بررسی

در این مطالعه از ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات در شرایط دمایی ۲۰ تا ۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و دوره روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته در حیوان‌خانه‌ی دانشکده‌ی پزشکی نگهداری شدند و آب و غذا آزادانه در اختیار آن‌ها قرار داشت. حیوانات

مزانتریک را مسدود می‌کنند آسیب I/R دیده می‌شود (۲ و ۱). رپرفیوژن مخاط معدی یک فاکتور اساسی در توانایی مخاط جهت مقاومت در مقابل اثرات مضر است و مشخص شده که فاکتورهای اصلی تولیدکننده‌ی آسیب القا شده با ایسکمی - رپرفیوژن، رادیکال‌های آزاد اکسیژن و فعال سازی نوتروفیلی است (۳ و ۴).

به‌علاوه آسیب ایسکمی - رپرفیوژن همراه با پاسخ‌های التهابی است که به‌وسیله‌ی القای سایتوکاین‌های التهابی و تراوش نوتروفیلی باعث آسیب بافتی می‌شود. تجمع نوتروفیل‌ها به جایگاه‌های التهاب همراه با تولید سایتوکاین‌ها مانند $IL-1\beta$ می‌باشد که در فرایند التهاب نقش اصلی را ایفا می‌کند. سیستم‌های گلوکوکورتیکوئید مانند گلوکوکورتیکوئید داخل سلولی یا گروه‌های سولفیدریل پروتئین‌ها در مناطق خارج عروقی نمایانگر یکی از مکانیسم‌های اصلی کاهش استرس اکسیداتیو است. بنابراین یک عدم تعادل بین عوامل محافظتی و توکسیک معدی منجر به التهاب حاد و نقص انسجام مخاط معدی می‌گردد (۵-۸). بنابراین با توجه به شیوع بالای آسیب‌های گوارشی به دنبال ایسکمی، پیدا کردن یک روش درمانی مناسب به نظر ضروری می‌باشد. البته قابل توجه است که مخاط معدی خود نیز توانایی ذاتی جهت دفاع در مقابل تحریکات دردناک دارد. از مکانیسم‌های خود دفاعی می‌توان به‌عواملی مانند افزایش جریان خون مخاطی، ترشح موکوس و کاهش ترشح اسید به دنبال آسیب معدی اشاره کرد. همچنین پاسخ‌های معده‌ی آسیب دیده به‌وسیله مدیاتورهای محافظتی مانند پروستاگلاندین‌ها به‌ویژه پروستاگلاندین E_2 ، نیتریک اکسید و پپتیدهای حسی میانجی می‌گردد (۹ و ۱۰).

مطالعات نشان داده است که کلا جنس ماده مقاومت بیشتری در مقابل آسیب ایسکمیک نسبت به مذکر دارد که این تفاوت مشخص کننده‌ی نقش استروئیدهای مترشح از تخمدان است (۱۱). عملکرد استروئیدهای تخمدانی بر دستگاه گوارش به‌طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار نگرفته است ولی مشخص

۴-۰ بخیه زده شد. انسداد به مدت ۳۰ دقیقه ادامه یافت و پس از این مدت با لاپاراتومی مجدد کلیپ برداشته شده و گردش خون به مدت ۲۴ ساعت برقرار شد (۱۸). روش اندازه‌گیری میزان اسید ترشح شده: ۲۴ ساعت قبل از آزمایش حیوان از خوردن غذا محروم شد ولی دسترسی آزاد به آب وجود داشت. سپس حیوان لاپاراتومی شده و با ایجاد سوراخی در دئودنوم، کانولی وارد دئودنوم شده و تا معده پیش رانده شد. برای اندازه‌گیری غلظت اسید معده از روش wash out به مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد. برای تهیه نمونه‌ها، ابتدا ۱ میلی‌لیتر از محلول سرم فیزیولوژی به داخل معده تزریق و پس از پایان ۱۵ دقیقه، ۱ میلی‌لیتر از معده کشیده شد. اندازه‌گیری اسید نمونه‌ها بلافاصله پس از جمع‌آوری در دمای آزمایشگاه و با استفاده از دستگاه تیترا تور دستی صورت گرفت (۱۱).

ارزیابی هیستوپاتولوژیک: جهت ارزیابی هیستوپاتولوژی، بخش کوچکی از دیواره قسمت ترشعی دیواره‌ی معده جدا و در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت گردید. پس از آماده‌سازی نمونه‌ها، مقاطع نازک ۵ میکرونی تهیه و به روش هماتوکسیلین - ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی گردید. ارزیابی هیستوپاتولوژی از طریق بررسی کیفی پارامترهای مختلفی از قبیل میزان التهاب، تغییر و آشفتگی سلول‌ها و بافت‌های ناحیه‌ی آسیب دیده، میزان ترمیم سلول‌های اپی‌تلیال محل زخم و میزان خونریزی پرخونی عروق انجام پذیرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: جهت آنالیز آماری از SPSS 15 استفاده گردید. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شد و جهت مقایسه‌ی متغیرهای کمی بین گروه‌های مختلف از آزمون Anova استفاده شد. سطح معناداری به صورت $P < 0.05$ بیان گردید.

یافته‌ها

الف) تغییرات غلظت اسید معدی: غلظت اسید معدی

به‌طور تصادفی به پنج گروه که هر گروه شامل ۸ سر موش صحرایی است، تقسیم شدند و در هر گروه میزان اسید معده و تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت معدی ارزیابی شد. قابل ذکر است که استروژن و پروژسترون از شرکت دارویی ابوریحان (ایران) خریداری گردید. گروه‌های تحت مطالعه شامل:

۱- سالم دست نخورده (intact): موش‌های صحرایی نر سالم
۲- گروه آسیب ایسکمی - رپرپیوژن: حیوانات به مدت ۳۰ دقیقه تحت آسیب ایسکمی و سپس به مدت ۲۴ ساعت تحت رپرپیوژن قرار گرفتند.

۳- گروه استرادیول با دز ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم (E): تزریق استرادیول با دز ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم به صورت داخل صفاقی، در دو نوبت و به ترتیب قبل از شروع ایسکمی و قبل از شروع رپرپیوژن، انجام شد (۱۶).

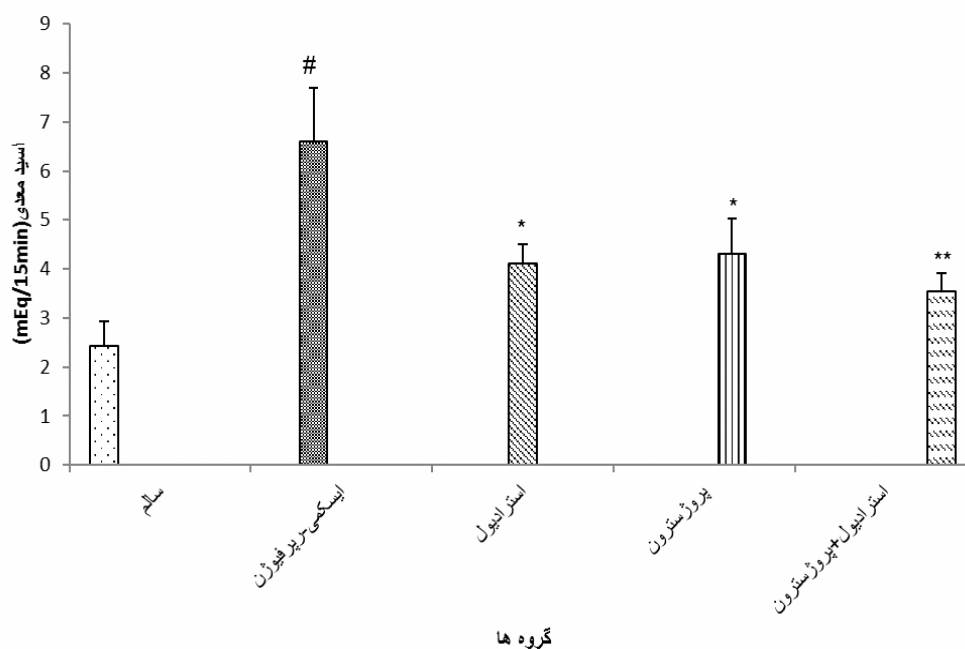
۴- گروه پروژسترون با دز ۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم (P): تزریق پروژسترون با دز ۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم به صورت داخل صفاقی، در دو نوبت و به ترتیب قبل از شروع ایسکمی و قبل از شروع رپرپیوژن، انجام شد (۱۷).

۵- گروه استرادیول (۱ میلی‌گرم در کیلوگرم) + پروژسترون (۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم): دقیقاً قبل از شروع ایسکمی و قبل از شروع رپرپیوژن، ترکیب استرادیول با دز ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم و پروژسترون با دز ۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم به صورت داخل صفاقی تزریق شد (۱۷ و ۱۶).

روش ایجاد ایسکمی - رپرپیوژن معدی: حیوان توسط تیوپنتال (۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) به صورت (IP) داخل صفاقی بیهوش شدند، یک برش طولی در خط وسط شکمی داده شد و پوست، فاسیا و عضلات و احشای شکمی کنار زده و سپس شریان سلیاک را که شاخه‌ای از آئورت نزولی است از بافت‌های اطراف به دقت ایزوله کرده و توسط یک کلیپ میکرواسکولار مسدود شد، سپس، شریان را به محل خود برگردانده و ناحیه‌ی برش داده شده به‌طور موقت با سیلک

میلی‌اکی‌والان در ۱۵ دقیقه کاهش داد. درمان ترکیبی با استرادیول و پروژسترون اثر مشخص‌تری داشت و این مقدار را به $3/54 \pm 0/38$ میلی‌اکی‌والان در ۱۵ دقیقه رساند که نسبت به درمان منفرد استرادیول و پروژسترون مشخص‌تر بود (نمودار ۱).

در گروه سالم $2/44 \pm 0/49$ میلی‌اکی‌والان در ۱۵ دقیقه بود که بعد از القای آسیب ایسکمی - رپرفیوژن این مقدار به $6/61 \pm 1/08$ میلی‌اکی‌والان در ۱۵ دقیقه افزایش یافت که تفاوت قابل توجهی با گروه سالم داشت. درمان با استرادیول و پروژسترون به‌طور معناداری میزان اسید معدی را به‌ترتیب به $4/12 \pm 0/39$ میلی‌اکی‌والان در ۱۵ دقیقه و $4/31 \pm 0/71$

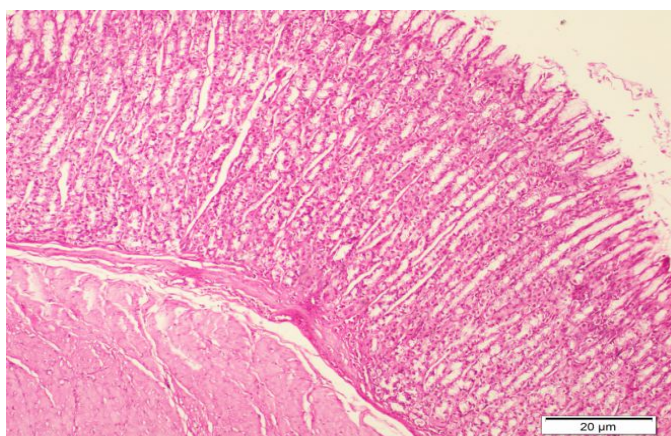


نمودار ۱: تغییرات غلظت اسید معدی (۱۵ دقیقه در میلی‌اکی‌والان) در گروه‌های مختلف

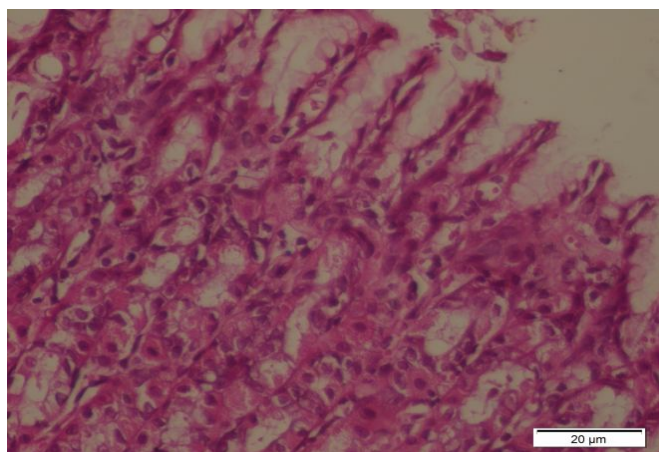
Intact، گروه سالم، *IR*، گروه ایسکمی - رپرفیوژن معدی، *E*، گروه درمان با استرادیول (۱ میلی‌گرم در کیلوگرم)، *P*، گروه درمان با پروژسترون (۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم)، *EP*، گروه درمان با ترکیب استروژن و پروژسترون، $P < 0/01$ ؛ #، در مقایسه با گروه سالم؛ $P < 0/05$ * در مقایسه با گروه *IR*، $P < 0/01$ **، در مقایسه با گروه *IR*.

زخم مشاهده نشد ولیکن زخم مخاطی سطحی، ادم و التهاب دیده شد. درمان با پروژسترون نیز باعث درمان اولسره‌های معدی گردید ولی ادم و التهاب دیده شد. همچنین اروزویون و هموراژی کانونی نیز دیده شد. درمان ترکیبی با استروژن و پروژسترون نیز باعث از بین رفتن زخم گردید اما التهاب خفیف و پراکنده‌ای مشاهده شد (شکل ۷-۱).

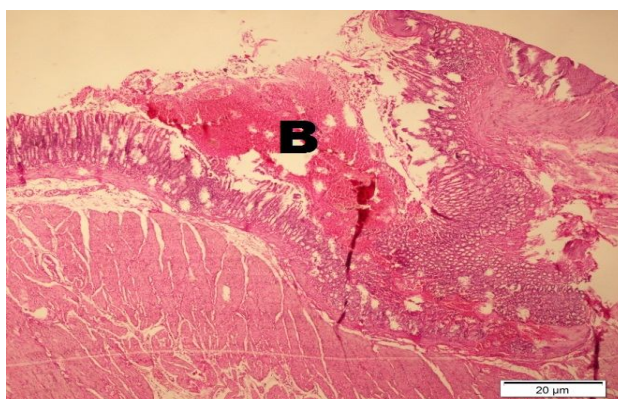
ب) تغییرات هیستوپاتولوژی بافت معدی: گروه کنترل سالم نشانگر یک بافت معدی نرمال بود. بعد از القای آسیب ایسکمی - رپرفیوژن معدی، رنگ آمیزی با هِماتوکسیلین - اتوزین نشان دهنده‌ی حضور یک زخم معده‌ی فعال همراه با زخم مخاطی و خونریزی بود، ادم زیر مخاطی و التهاب مشخص وجود داشت. در گروه‌های تحت درمان با استروژن،



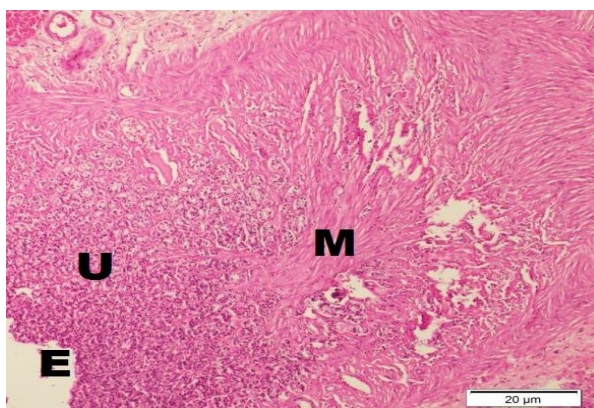
شکل ۱: مقطع میکروسکوپی از دیواره‌ی بخش ترش‌خ‌ی معده موش صحرایی نر، گروه سالم. طبقات مخاط، زیر مخاط و عضلانی در شرایط طبیعی قابل مشاهده می‌باشند ($H\&E \times 4$)



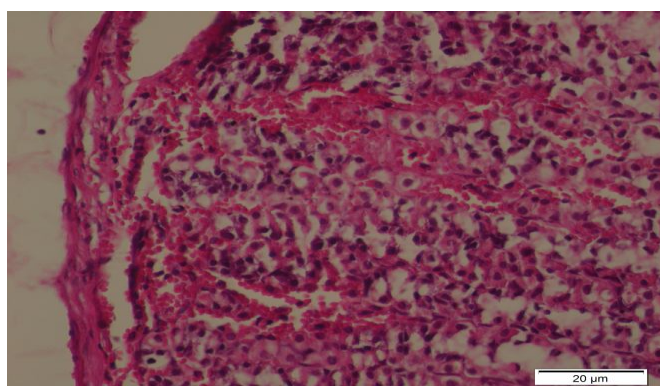
شکل ۲: مقطع میکروسکوپی از دیواره‌ی بخش ترش‌خ‌ی معده موش صحرایی نر، گروه سالم. اپی تلیوم و غدد گاستریک مستقر در آستر مخاط در شرایط طبیعی قابل مشاهده می‌باشند. ($H\&E \times 40$)



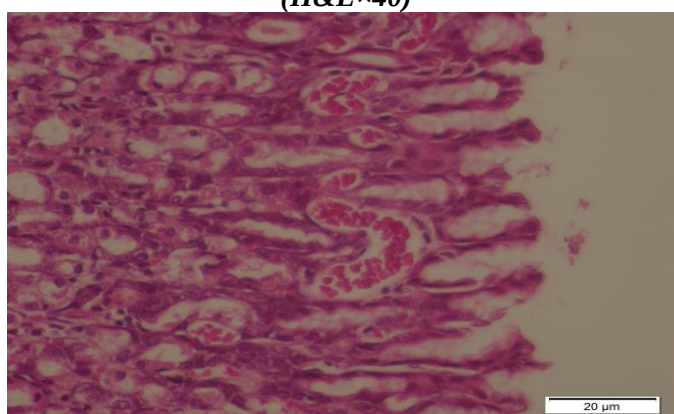
شکل ۳: مقطع میکروسکوپی از دیواره‌ی بخش ترش‌خ‌ی معده موش صحرایی نر، گروه ایسکمی. خونریزی در سطح مخاط (B) بدن‌بال شرایط ایسکمی ایجاد شده است. ($H\&E \times 4$)



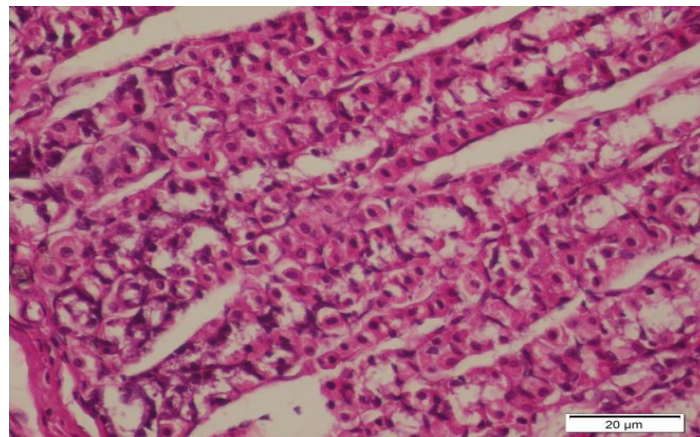
شکل ۴: مقطع میکروسکوپی از دیواره‌ی بخش ترش‌حی معده موش صحرایی نر، گروه ایسکمی. تخریب غدد گاستریک در محل تشکیل اولسر در مخاط معده (U) و تخریب اپی تلیوم (E) به همراه آشفتنگی لایه عضلانی (M)، بدنبال شرایط ایسکمی ایجاد شده است. (H&E×4)



شکل ۵: مقطع میکروسکوپی از دیواره‌ی بخش ترش‌حی معده موش صحرایی نر، گروه ایسکمی. تخریب غدد گاستریک در محل تشکیل اولسر در مخاط معده و خروج خون از بستر عروقی در لایه آستر مخاط، بدنبال شرایط ایسکمی ایجاد شده است. (H&E×40)



شکل ۶: مقطع میکروسکوپی از دیواره‌ی بخش ترش‌حی معده موش صحرایی نر، گروه استروژن. آرایش طبیعی غدد گاستریک در آستر مخاط معده و نظم در اپی تلیوم همراه با مقداری پرخونی پس از تجویز استروژن (1 میلی گرم در کیلوگرم) قابل مشاهده است. (H&E×40).



شکل ۷: مقطع میکروسکوپی از دیواره‌ی بخش ترشحی معده موش صحرایی نر، گروه پروژسترون و گروه ترکیبی استروژن و پروژسترون، بدنبال تجویز پروژسترون (۱۶ میلی‌گرم در کیلوگرم)، از تخریب غدد گاستریک در آستر مخاط معده به میزان قابل توجهی جلوگیری به عمل آمده است، علایم میکروسکوپی اولسر موجود نمی‌باشد (H&E×40).

بحث

که به‌کاربردن استرادیول باعث کاهش قابل توجه آسیب ایسکمی - رپرفیوژن قلبی، مغزی و کلیوی می‌گردد (۲۰-۲۲). مطالعات نشان داده است که شدت ضایعات معدی در جنس ماده در طی حاملگی کاهش می‌یابد. علاوه بر این اولسرهای معدی به میزان بیشتری در مردان در مقایسه با زنان رخ می‌دهد. همچنین زخم‌های گوارشی القا شده با هیستامین در حیوانات آزمایشگاهی در طی حاملگی کاهش می‌یابد. دراگو و همکاران نشان دادند که برداشتن تخمدان‌ها همراه با تجویز پروژسترون به موش‌های صحرایی ماده منجر به کاهش زخم‌های دئودنومی القا شده با هیستامین یا ایندومتاسین می‌گردد. مکانیسم این اثر محافظتی شامل نقش هورمون‌های جنسی زنانه بر نفوذپذیری عروقی و افزایش ترشح موکوس است (۲۳ و ۲۴). ماچوسکا و همکاران اثرات تستوسترون و پروژسترون را بر روی مراحل ترمیم زخم‌های معدی و زبانی القا شده با اسید استیک به‌ترتیب در موش‌های صحرایی ماده و نر مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که این دو هورمون اثرات متناقض داشته به‌طوری‌که تستوسترون باعث تاخیر در ترمیم زخم‌های گوارشی می‌شود اما پروژسترون سرعت ترمیم را افزایش می‌دهد (۲۵). استروژن و پروژسترون

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که آسیب ایسکمی - رپرفیوژن باعث افزایش میزان اسید معدی می‌گردد و سپس پیش‌درمانی با استرادیول و پروژسترون باعث کاهش قابل توجه میزان اسید معدی می‌شود. در مطالعه‌ای که بر روی سلول‌های اپی‌تلیال ایزوله انجام شده، نشان داده است که درمان با ۱۷- بتا استرادیول باعث کاهش تولید اسید معدی تحریک شده با هیستامین تا ۲۰ درصد می‌شود. مکانیسم‌هایی که استروژن ممکن است ترشح اسید معده را تغییر دهند مشخص نشده است. اثرات مستقیم بر سلول‌های اپی‌تلیال معدی و به‌طور ثانویه از طریق واکنش‌های انترواندوکراین ممکن است تنظیم‌کننده‌ی ترشح باشند (۱۹). اسمیت و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان دادند که استرادیول واجد اثرات محافظتی در مقابل آسیب دئودنومی القا شده با اسید معدی است که این اثر محافظتی از طریق افزایش ترشح بیکربنات انجام می‌گیرد (۱۶). همچنین تجویز استرادیول و پروژسترون باعث کاهش آسیب ایجاد شده در معده به بدنبال آسیب ایسکمی - رپرفیوژن معدی گردید که در مطالعات هیستوپاتولوژی اثبات گردید. مطالعات گسترده‌ای وجود دارد

۱۷- بتا استرادیول اثرات محافظتی در مقابل آسیب ایسکمی - رپرفیوژن دارد به طوری که در مطالعه‌ی *In Vitro* مشخص گردید که میزان زنده بودن سلول‌های اپی‌تلیال روده‌ای را افزایش و آپوپتوز آن‌ها را کاهش می‌دهد. از طرف دیگر محتوای مالون دی‌آلدهید را کاهش و فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز را افزایش می‌دهد. این اثرات ۱۷- بتا استرادیول به وسیله‌ی فولوسترانت مهار گردید که نشان دهنده‌ی این است که اثرات محافظتی آن مربوط به رسپتور استروژنی است (۳۱). همچنین نشان داده شده است که استروژن نقش مهمی در کاهش زخم‌های دئودنومی از طریق تنظیم ترشح بیکربنات دارد (۳۲). لیو و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که ۱۷- بتا استرادیول به طور وابسته به دز باعث مهار آسیب ایسکمی - رپرفیوژن معدی می‌گردد و همچنین به طور قابل توجهی آسیب ایسکمی - رپرفیوژن را در یک ساعت بعد از رپرفیوژن کاهش می‌دهد. ۱۷- بتا استرادیول باعث مهار آپوپتوز مخاط معدی و پیشبرد تکثیر سلول‌های اپیتلیال معدی می‌گردد. همچنین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز و فعالیت مهاری هیدروکسیل را افزایش و فعالیت زانتین اکسیداز و محتوای مالون دی‌آلدهید را کاهش می‌دهد (۳۳). در مطالعه‌ی دیگری که توسط آشوکان و همکاران صورت گرفت مشخص گردید که استروژن قابلیت محافظتی در مقابل زخم‌های دئودنومی القا شده با هیستامین دارد. مطالعات بیوشیمیایی در این مطالعه نشان داد که محتوای گلیکوپروتئین معدی در موش‌های صحرایی فاقد تخمدان اولسری شده با هیستامین به طور قابل توجهی کاهش یافت اما بعد از درمان با استروژن افزایش پیدا کرد (۳۴). علی رغم مطالعات گسترده‌ای که در تایید مطالعه‌ی ما وجود دارد سانگما و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که استفاده از استروژن و پروژسترون به طور مستقل و ترکیبی اثری بر روی ضایعات معدی القا شده با آسپرین نداشت (۳۵). همچنین در مطالعه‌ی دیگری اثبات شد که ۱۷- بتا استرادیول اثر پیش

اعمال خود را به وسیله‌ی گیرنده‌های هسته‌ای استروژنی (ER) و پروژسترونی (PR) میانجی می‌کنند. دو ایزوفرم رسپتوری آلفا و بتا رسپتورهای استروژنی که به وسیله‌ی ژن‌های متفاوتی کد می‌شود مشخص شده است. هر دو ایزوفرم به استروژن با میل ترکیبی بالا متصل می‌گردد و اعمال متعددی را تنظیم می‌کنند. گیرنده‌ی پروژسترونی نیز دو ایزوفرم دارد که به نام‌های PR-A و PR-B است که به وسیله‌ی ژن مشابهی سنتز می‌گردند ولی به وسیله‌ی پروموتورهای مجزایی سنتز می‌شوند (۲۷ و ۲۶). وجود ER و PR در معده انسان، موش صحرایی و موش سوری و چند گونه دیگر از حیوانات اثبات گردیده است (۲۸).

یافته‌های مشابهی در بافت‌های روده‌ای انسان گزارش شده است و mRNA مربوط به ER- β در کل مخاط دستگاه گوارش گزارش شده است. نوروهای انتریک معدی و فیبرهای آن‌ها همچنین حاوی پروتئین‌های ER α و ER β می‌باشند. وجود ER α هم در جسم سلولی و هم در فیبر عصبی تایید گردیده است (۱۵). همچنین حضور هر دو ایزوفرم گیرنده‌ی پروژسترونی به نام‌های PR-A و PR-B و ER- α در gerbils اثبات گردیده است (۱۳).

مطالعات نشان داده‌اند که استروژن‌ها به عنوان یک سیستم آنتی‌اکسیدانی قوی عمل می‌کنند که این عملکرد خود را توسط به دام انداختن رادیکال‌های آزاد اکسیژنی انجام می‌دهند. استروژن‌ها همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را در سلول افزایش می‌دهند (۲۹). در مطالعه‌ی دیگری کاپریو و همکاران اثر درمان مزمن با استروژن و فیتواستروژن‌ها را بر روی پارامترهای استرس اکسیداتیو کبد در موش‌های صحرایی ماده مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که تجویز استروژن و فیتواستروژن به طور قابل توجهی باعث افزایش فعالیت گلوکوتایون پراکسیداز و گلوکوتایون S- ترانسفراز بافت کبدی شده و سطح نیتریک اکساید کاهش می‌یابد (۳۰). لیو و همکاران نشان دادند که

ایسکمی - رپرفیوژن ایجاد شده، احتمالاً می‌توان از استروئیدهای جنسی زنانه در رفع اختلالات ایسکمیک دستگاه گوارش استفاده کرد

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی جهت حمایت مالی این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

References

- 1- Dubin A, Estenssoro E, Murias G, et al. Effects of hemorrhage on gastrointestinal oxygenation. *Intensive Care Med.* 2001; 27: 1931-6.
- 2- Qiao WL, Wang L, Zhang YM, Zhang JF, Wang GM. Extracellular signal-regulated kinase 1- and 2-mediated gastric mucosal injury and repair in gastric ischemia-reperfusion of rats. *J Gastroenterol.* 2006; 41: 1158-66.
- 3- Sínay L, Kürthy M, Horváth S, et al. Ischemic postconditioning reduces peroxide formation, cytokine expression and leukocyte activation in reperfusion injury after abdominal aortic surgery in rat model. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2008; 40: 133-42.
- 4- Wada K, Kamisaki Y, Kitano M, Kishimoto Y, Nakamoto K, Itoh T. A new gastric ulcer model induced by ischemia-reperfusion in the rat: role of leukocytes on ulceration in rat stomach. *Life Sci.* 1996; 59: 295-301.
- 5- Herskowitz A, Choi S, Ansari AA, Wesselingh S. Cytokine mRNA expression in postischemic/

برنده‌ی زخم دارد و زخم‌های معدی القا شده با هیستامین را در موش‌های صحرایی بدتر می‌کند، در حالی‌که پروژسترون آن را کاهش می‌دهد (۳۶). این نتایج نشان می‌دهد که اثرات استروژن و پروژسترون وابسته به زمان و دز می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در مجموع از یافته‌های فوق می‌توان نتیجه گرفت که با توجه به اثرات کاهش دهنده‌ی اسید و ویژگی‌های محافظتی استروژن و پروژسترون بر بافت معدی به دنبال آسیب

- reperfusion myocardium. *Am J Pathol.* 1995; 146: 419-28.
- 6- Andrews FJ, Malconenti-Wilson C, O'Brien PE. Polymorphonuclear leukocyte infiltration into gastric mucosa after ischemia-reperfusion. *Am J Physiol.* 1994; 266: G48-G54.
 - 7- Ishii M, Shimizu S, Nawata S, Kiuchi Y, Yamamoto T. Involvement of reactive oxygen species and nitric oxide in gastric ischemia reperfusion injury in rats: protective effect of tetrahydrobiopterin. *Dig Dis Sci.* 2000; 45: 93-8.
 - 8- Konturek PC, Duda A, Brzozowski T, et al. Activation of genes for superoxide dismutase, interleukin-1beta, tumor necrosis factor-alpha and intracellular adhesion molecule-1 during healing of ischemia reperfusion gastric injury. *Scand J Gastroenterol.* 2000; 35: 425-63.
 - 9- Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowska I, Pawlik T. Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation. *J Physiol Pharmacol.* 2005; 56: 33-55.

- 10- Derin N, Izgut-Uysal VN, Agac A, Aliciguzel Y, Demir N. L-carnitine protects gastric mucosa by decreasing ischemia– reperfusion induced lipid peroxidation. *J Physiol Pharmacol.* 2004; 55: 595-606.
- 11- Hiroshi H, Erik H, Da-Zhong X, Qi L, Rena F, Edwin A. The female intestine is more resistant than the male intestine to gut injury and inflammation when subjected to conditions associated with shock states. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2005; 288: G466-72.
- 12- Ueyama T, Shirasawa N, Numazawa M, et al. Gastric parietal cells: potent endocrine role in secreting estrogen as a possible regulator of gastro-hepatic axis. *Endocrinology.* 2002; 143: 3162-70.
- 13- Saqui M, Rocha BL, Barrios JA, Ruiz G. Effects of estradiol and progesterone on gastric mucosal response to early *Helicobacter pylori* infection in female gerbils. *Helicobacter.* 2006; 11: 123-30.
- 14- Feldman M, Richardson CT, Walsh JH. Sex-related differences in gastrin release and parietal cell sensitivity to gastrin in healthy human beings. *J Clin Invest.* 1983; 71: 715-20.
- 15- Campbell-Thompson M, Reyher KK, Wilkinson LB. Immunolocalization of estrogen receptor α and β in gastric epithelium and enteric neurons. *J Endocrinol.* 2001; 171: 65-73.
- 16- Smith A, Contreras C, Ko KH, et al. Gender-specific protection of estrogen against gastric acid-induced duodenal injury: stimulation of duodenal mucosal bicarbonate secretion. *Endocrinology.* 2008; 149: 4554-66.
- 17- Chen G, Shi J, Ding Y, Yin H, Hang C. Progesterone prevents traumatic brain injury-induced intestinal nuclear factor kappa B activation and proinflammatory cytokines expression in male rats. *Mediators Inflamm.* 2007; 10: 1155-62.
- 18- Gemici B, Tan R, Ongüt G, Izgüt-Uysal VN. Expressions of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in gastric ischemia-reperfusion: role of angiotensin II. *J Surg Res.* 2010 1; 161: 126-33.
- 19- Girma K, Janczewska I, Romell B, Seensalu R, Sandin A, Wilander E, Nilsson G. Twenty-four-hour basal and repetitive pentagastrin stimulated gastric acid secretion in normal and sham-operated rats and in rats after gonadectomy or treatment with estradiol or testosterone. *Scand J Gastroenterol.* 1997; 32: 669-75.
- 20- Patten RD, Pourati I, Aronovitz MJ, et al. 17 β estradiol reduces cardiomyocyte apoptosis in vivo and in vitro via activation of phosphoinositide-3 kinase/Akt signaling. *Circ Res.* 2004; 95: 692-99.
- 21- Satake A, Takaoka M, Nishikawa M, et al. Protective effect of 17 β -estradiol on ischemic acute renal failure through the PI3K/Akt/eNOS pathway. *Kidney Int.* 2008; 73: 308-17.
- 22- Fujita K, Kato T, Shibayama K, et al. Protective effect against 17 β -estradiol on neuronal apoptosis in hippocampus tissue following transient ischemia/recirculation in Mongolian

- gerbils via down-regulation of tissue transglutaminase activity. *Neurochem Res.* 2006; 31: 1059-68.
- 23- Montoneri C, Drago F. Effects of pregnancy in rats on cysteamine-induced peptic ulcers: role of progesterone. *Dig Dis Sci.* 1997; 42: 2572-5.
- 24- Drago F, Montoneri C, Varga C, Laszlo F. Dual effect of female sex steroids on drug-induced gastroduodenal ulcers in the rat. *Life Sci.* 1999; 25: 2341-50.
- 25- Machowska A, Szlachcic A, Pawlik M, Brzozowski T, Konturek SJ, Pawlik WW. The role of female and male sex hormones in the healing process of preexisting lingual and gastric ulcerations. *J Physiol Pharmacol.* 2004; 55: 91-104.
- 26- Peluso JJ. Multiplicity of progesterone's actions and receptors in the mammalian ovary. *Biol Reprod.* 2006; 75: 2-8.
- 27- Yamashita S. Localization and functions of steroid hormone receptors. *Histol Histopathol.* 1998; 13: 255-270.
- 28- Saqui-Salces M, Neri-Gómez T, Gamboa-Dominguez A, Ruiz-Palacios G, Camacho-Arroyo I. Estrogen and progesterone receptor isoforms expression in the stomach of Mongolian gerbils. *World J Gastroenterol.* 2008; 14: 5701-6.
- 29- Prokai-Tatrai K, Perjesi P, Rivera-Portalatin NM, Simpkins JW, Prokai L. Mechanistic investigations on the antioxidant action of a neuroprotective estrogen derivative. *Steroids.* 2008; 73: 280-8.
- 30- Kireev RA, Tresquerres AF, Vara E, Ariznavarreta C, Tresquerres JA. Effect of chronic treatments with GH, melatonin, estrogens, and phytoestrogens on oxidative stress parameters in liver from aged female rats. *Bio-gerontology.* 2007; 8:469-82.
- 31- Liu MJ, Fei SJ, Qiao WL, et al. The protective effect of 17 β -estradiol postconditioning against hypoxia/reoxygenation injury in human gastric epithelial cells. *Eur J Pharmacol.* 2010; 645: 151-7.
- 32- Tuo B, Wen G, Wei J, Liu X, Wang X, Zhang Y, et al. Estrogen regulation of duodenal bicarbonate secretion and sex-specific protection of human duodenum. *Gastroenterology.* 2011; 141: 854-63
- 33- Liu MJ, Fei SJ, Qiao WL, et al. The protective effect of 17 β -estradiol postconditioning against hypoxia/reoxygenation injury in human gastric epithelial cells. *Eur J Pharmacol.* 2010; 645: 151-7.
- 34- Ashokan K, Kurane M, Pillai M. Effect of ovariectomy and of estrogen administration upon duodenal ulceration induced by cysteamine. *Internet J Gastroenterology.* 2009; 8.
- 35- Sangma TK, Jain S, Mediratta PK. Effect of ovarian sex hormones on non-steroidal anti-inflammatory drug-induced gastric lesions in female rats. *Indian J Pharmacol.* 2014; 46: 113-6.
- 36- Drago F, Montoneri C, Varga C, László F. Dual effect of female sex steroids on drug-induced gastroduodenal ulcers in the rat. *Life Sci.* 1999; 64: 2341-50.

The Protective Role of Estrogen and Progesterone on Gastric Tissue Following Gastric Ischemia - Reperfusion in Male Rats

Keshavarzi Z¹, Mohebbati R², Alikhani V², Bibak B¹, Hadjzadeh MAR²

¹Dept. of Physiology, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

²Dept. of Physiology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Corresponding Author: Keshavarzi Z, Dept. of Physiology, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran

E-Mail: Zakieh_keshavarzi@yahoo.com

Received: 8 Feb 2014 **Accepted:** 30 Aug 2014

Background and Objective: Ischemia-reperfusion (I/R) injury repeatedly occurs in situations such as surgery, hemorrhage, burns, trauma, and infection. It has also been found that females were more resistant than males, indicating that female sex hormones have a protective function. The aim of this study was to determine the role of estrogen, progesterone, and their combination in protecting the gastric damage induced by I/R.

Materials and Methods: 40 Wistar rats were randomly divided into four groups: intact, ischemia - reperfusion (IR), IR + estradiol (1mg/kg), IR + progesterone (16 mg / kg) (P) and IR + combination of estradiol (1mg / kg) and progesterone (16 mg / kg). After animal anesthesia and laparotomy, celiac artery was occluded for 30 minutes and then circulation was established for 24 hours. Results expressed as mean $\pm$ SEM and $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: The gastric acid concentration significantly increased after induction of gastric ischemia - reperfusion ($p < 0.001$). Treatment with estradiol, progesterone ($p < 0.05$) and combined estradiol and progesterone ($p < 0.01$) significantly reduced gastric acid levels. The histopathological evaluation of gastric tissue indicated the presence of gastric ulcer with active bleeding, erosion, submucosal edema and identified inflammation in ischemia - reperfusion group. In groups treated with estrogen and progesterone, the ulcer was not found; however, erosion, edema and inflammation of serous surfaces were observed.

Conclusion: Regarding acid-lowering and protective effects of estrogen and progesterone upon gastric tissue following gastric ischemia-reperfusion, female sex steroids can be used to reduce gastrointestinal ischemic disorders.

Keywords: Estrogen, Progesterone, Gastric acid, Rat, Ischemia- reperfusion