جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان / زمستان ۱۳۸۸ / دوره ۱۱ / شماره ۴ (پی در پی ۳۲) / صفحات ۱۶ تا ۲۰

تحقیقی

اثر هیدروژن سولفید بر فعالیت حرکتی ژژنوم موش سوری

دکتر رضا رحمتی *[1]، دکتر دیوید گروندی[2]

۱- استادیار گروه فیزیولوژی ، دانشگاه علوم پزشکی گرگان ، مرکز تحقیقات گوارش و کبد گلستان.

۲- استاد گروه فیزیولوژی ، بخش علوم بیومدیکال دانشگاه شفیلد انگلستان.

چکیده

زمینه و هدف : *نقش بیولوژیکی هیدروژن سولفید روی عضله صاف بافت‌های عروقی و غیرعروقی تا حدودی متناقض بوده و شامل فعالیت‌های انقباضی و شل‌شدن می‌باشد. این مطالعه به منظور تعیین اثر هیدروژن سولفید بر فعالیت حرکتی عضله صاف ژژنوم موش سوری انجام شد.*

روش بررسی : *در این مطالعه تجربی از ۲۳ سر موش با یک زمینه ژنتیکی C57/BL6 به وزن‌های ۲۵-۲۰ گرم استفاده شد. ابتدا حیوانات بیهوش شدند و سپس به وسیله تزریق داخل صفاقی دوز بالای سدیم پنتوباربیتون (۸۰mg/kg) کشته شدند. سپس قسمتی از ژوژنوم جدا شد و در محلول کربس گازدهی شده با اکسیژن ؛ قرار گرفت. قطعات ژوژنوم جدا شده به طول تقریبی ٤ سانتی‌متر به طور افقی در حمام بافتی قرار گرفتند. فعالیت حرکتی بافتی به صورت تغییرات فشار از بخش آنالی توسط ترانسدیوسر فشار اندازه‌گیری شد. اثرات سدیم هیدروژن سولفید در غلظت‌های مختلف (۳۰۰۰-۱۰۰ میکرومول) به مدت ده دقیقه روی فعالیت حرکتی قطعات جدا شده بررسی گردید.*

یافته‌ها : *کاربرد سدیم هیدروژن سولفید (پیش‌ساز هیدروژن سولفید) در حمام بافت در حالت وابستگی به دوز، سبب مهار فعالیت حرکتی شد و تفاوت معنی‌داری بین موش‌های دارای گیرنده وانلوئیدی و فاقد گیرنده وانلوئیدی مشاهده نشد. در حضور تترودوتوکسین (یک میکرومول) سدیم هیدروژن سولفید سبب کاهش در تنوس پایه ($n=5$ ، $P<0/05$ و ۱۹/۵ درصد) و مهار انقباض حاصل از ۳۰میکرومول بتانکول و مهار انقباض حاصل از ۳۰میکرومول بتانکول ($n=5$ ، $P<0/05$ و ۵۵ درصد) گردید.*

نتیجه‌گیری : *این مطالعه نشان داد که هیدروژن سولفید مهار کننده مهم فعالیت حرکتی در ژژنوم موش سوری است.*

کلید واژه‌ها : *هیدروژن سولفید ، فعالیت حرکتی ، روده کوچک ، موش سوری*

---

* *نویسنده مسؤول : دکتر رضا رحمتی ، پست الکترونیکی : rahmati.r@gmail.com*

نشانی : گرگان ، دانشگاه علوم پزشکی گرگان ، دانشکده پزشکی ؛ گروه فیزیولوژی ، تلفن : ۳ و۴۴۲۱۶۵۱ (۰۱۷۱) ، نمابر : ۴۴۲۱۲۸۹

وصول مقاله : ۸۷/۱۰/۳۰، اصلاح نهایی : ۸۸/۴/۲، پذیرش مقاله : ۸۸/۵/۳

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

هیدروژن سولفید یک گاز سمی است که در مقادیر زیاد در لوله گوارش به وسیله مکانیسم‌های درون‌زا و در مقادیر خیلی زیاد توسط باکتری‌های کولون تولید می‌شود (۱و۲). در حالی که فعالیت بیولوژیکی واسطه گازی از قبیل نیتریک اکسید به طور وسیعی طی سالیان درازی مورد بررسی قرار گرفته است ؛ فعالیت بیولوژیکی هیدروژن سولفید به عنوان گاز فعال بیولوژیکی دیگر مورد توجه کمتری واقع شده است. هیدروژن سولفید به عنوان یک نورومدولاتور گازی بعد از نیتریک اکسید معرفی شده که اثرات عمده‌ای بر روی بافت‌های تحریک‌پذیر از قبیل اعصاب وعضلات صاف دارد (۶-۳). در مطالعه‌ای مشخص شد که هیدروژن سولفید دارای اثر تحریکی بر روی انقباضات مثانه است و این عمل از طریق اعصاب حساس به کاپسایسین صورت می‌گیرد (۷). مطالعات در مورد اثر هیدروژن سولفید بر روی عضله صاف از بافت‌های عروقی و غیرعروقی تا حدودی متناقض است و شامل فعالیت‌های انقباضی و شل شدن هر دو می‌شود. این یافته نشان می‌دهد که فعالیت‌های انقباضی و شل شدن از طریق اعصاب یا عضلات صاف می‌تواند صورت گیرد (۹-۶).

اثرات هیدروژن سولفید بر روی فعالیت‌های حرکتی لوله گوارش مورد ارزیابی قرار نگرفته است. این مطالعه به منظور ارزیابی اثر هیدروژن سولفید بر فعالیت حرکتی ژژنوم موش سوری در محیط آزمایشگاه انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی از ۲۳ سر موش با یک زمینه ژنتیکی C57/BL6 به وزن‌های ۲۵-۲۰ گرم که از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه شفیلد تهیه شده بودند؛ استفاده گردید. به علاوه از موش‌هایی که گیرنده وانلوییدی آنها به وسیله روش‌های نوترکیبی هومولوگی (۱۰) حذف شده بود؛ به منظور ارتباط اثر گیرنده وانلوییدی در پاسخ‌های انقباضی هیدروژن سولفید نیز استفاده شد. کلیه نکات اخلاقی مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب دانشگاه شفیلد رعایت گردید. ابتدا حیوانات بیهوش شدند و سپس به وسیله تزریق داخل صفاقی دوز بالای سدیم پنتوباربیتون (۸۰mg/kg) کشته شدند. بعد از لاپاراتومی با استفاده از یک تهیه بافتی، فعالیت حرکتی قطعات جدا شده از موش‌های سوری ثبت گردید. ۴سانتی‌متر از بافت ژژونوم انتخاب و سریعاً به یک حمام بافتی حاوی محلول کربس گازدهی شده با اکسیژن با pH ۷/۴ و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. بعد از قرار دادن بافت به طور افقی در محفظه، دو طرف بافت به طور محکم به دو کاتتر بسته شد و یک اتساع نسبتاً ثابت ۲/۵ سانتی‌متر آب بر آنها اعمال شد. ثبت انقباضات ژژونوم به صورت تغییرات فشار روده تحت شرایط ایزوولومتریکی با استفاده از ترانسدیوسر فشار متصل شده به بخش آنالی بافت صورت گرفت. بعد از قرار دادن بافت در محفظه، بافت به طور مداوم در تمام طول آزمایش با یک سرعت جریان ثابت ۴/۵ میلی‌لیتر در دقیقه از طریق لوله متصل شده به پمپ پرفیوژنه شد. بعد از ۳۰ دقیقه تثبیت بافت و ایجاد کمپلکس‌های حرکتی خودبه‌خودی هیدروژن سولفید از سدیم هیدروژن سولفید تولید شد و اثرات آن بر روی فعالیت حرکتی روده ایزوله در موش‌های دارای گیرنده وانلوییدی و فاقد گیرنده وانلوییدی بررسی شد.

از ترکیب محلول کربس برحسب میلی‌مول در لیتر به صورت زیر استفاده شد:

۴/۶۱ KCL	۲۱/۹۰ NaHCO3
۱۱۵/۴۸ NaCl	۱۰/۱۰ glucose
۱/۱۶ MgSo4	۲/۵۰ Cacl2
۱/۱۴ NH2Po4	

مواد مورد استفاده شامل سدیم هیدروژن سولفید (NaHS)، تترودوتوکسین (TTX) و بتانکول هیدروکلراید بود که از شرکت سیگما فراهم گردید. سدیم هیدروژن سولفید برای ۱۰ دقیقه پرفیوژن شد و آنتاگونیست‌ها تترودوتوکسین (TTX) و بتانکول هیدروکلراید ۳۰ دقیقه قبل از سدیم هیدروژن سولفید مورد استفاده قرار گرفتند.

سدیم هیدروژن سولفید مستقیماً به داخل حمام بافتی در سطح سروزی در غلظت‌های مختلف (۳۰۰۰-۱۰۰ میکرومول) به مدت ۱۰ دقیقه مورد استفاده قرار گرفت. یک فاصله ۱۵ دقیقه‌ای بین هر تست هیدروژن سولفید در نظر گرفته شد. در برخی آزمایش‌ها، برای اثبات یک مسیر عصبی موثر در تشکیل کمپلکس‌های حرکتی و همچنین اثرات ناشی از سدیم

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

هیدروژن سولفید، تترودوتوکسین به محلول‌های کنترل اضافه گردید.

نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شد. برای مقایسه نتایج در هر یک از گروه‌ها قبل و بعد مداخله، از آزمون آماری تی زوج و برای مقایسه گروه‌ها با هم از آزمون ANOVA استفاده گردید. سیگنال‌های به‌دست آمده از طریق دستگاه مبدل انالوگ به دیجیتال (CED 1401+ Cambridge Electronic Design, Cambridge UK) به کامپیوتر منتقل شد و با استفاده از نرم‌افزار SPSS-15 مورد تجزیه وتحلیل قرار گرفت. سطح معنی‌داری کلیه آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

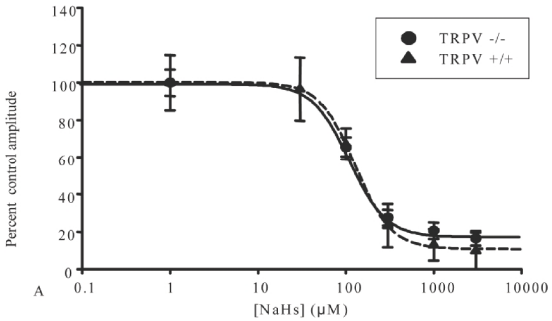
یافته‌ها

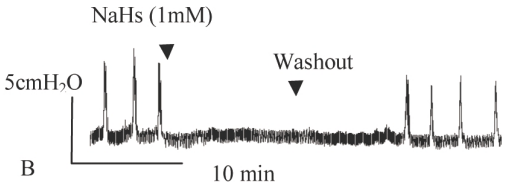
اثرات کاربرد سدیم هیدروژن سولفید بر روی کمپلکس‌های حرکتی روده:

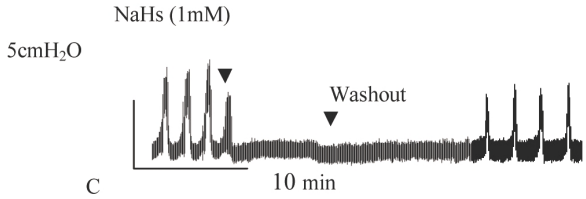
کاربرد داخل سروزی NaHS در موش‌های دارای گیرنده وانلوییدی و فاقد گیرنده وانلوییدی به صورت وابسته به دوز پاسخ‌های حرکتی روده را مهار کرد و اختلافی بین آنها مشاهده نشد (نمودار A۱). در دوزهای بالا (میکرومول ۳۰۰۰-۳۰۰) NaHS به طور کامل از تولید دوره‌ای پاسخ‌های حرکتی جلوگیری کرد و بین آنها با دوزهای کمتر از ۳۰۰ در هر دو گروه تفاوت معنی‌داری به دست آمد (P<۰/۰۰۱). بنابراین اثر مهاری NaHS در غلظت ۳۰۰ میکرومول به ماکزیمم رسید. مهار اثر NaHS نیز در طی چند ثانیه شروع شد و اثرات مهاری NaHS بعد از شستشوی بافت در هر دو گروه از بافت‌های دارای گیرنده وانلوییدی و فاقد گیرنده وانلوییدی بعد از چند دقیقه برگشت‌پذیر شد (نمودار B۱وC).

اثر TTX بر روی اثرات ناشی از NaHS:

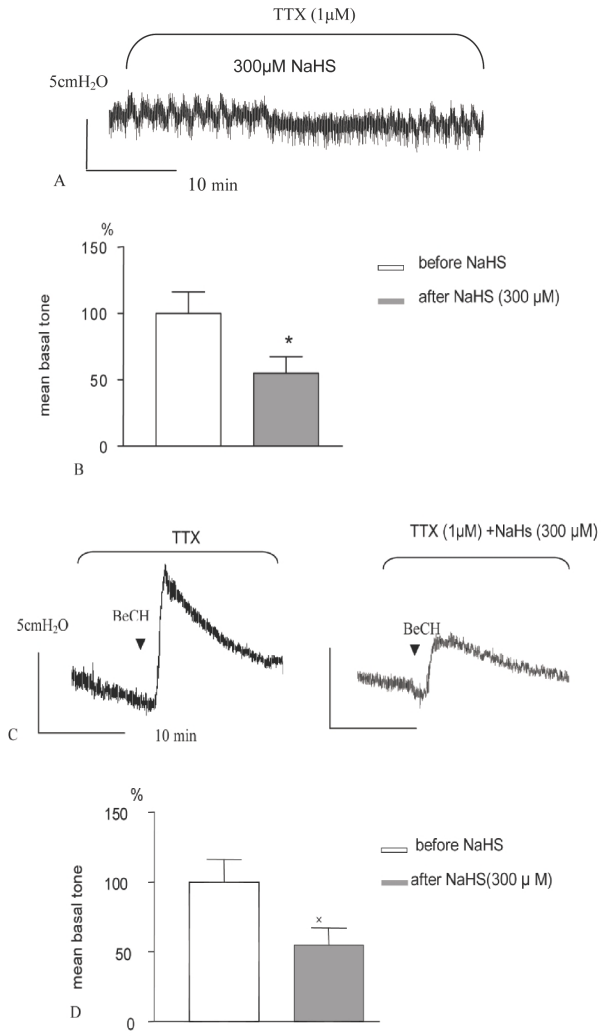
اضافه کردن TTX بر روی سطح سروزی بافت در موش‌های سوری سبب مهار پاسخ‌های کمپلکس‌های حرکتی دوره‌ای و تبدیل آنها به انقباضات با دامنه بسیار پایین گردید (نمودار A۲). کاربرد NaHS (۳۰۰ میکرومول) در حضور TTX (۱میکرومول) سبب کاهش در تنوس پایه (P<۰/۰۵ و ۱۹/۵ درصد) گردید (نمودار B۲). NaHS همچنین انقباضی را که به وسیله کاربرد بتانکول (۳۰میکرومول) به وجود آمد را مهار نمود (نمودار C۲). در حضور TTX (۱میکرومول) انقباضات تونیکی که به وسیله ۳۰ میکرومول بتانکول ایجاد گردید؛ به میزان ۵۵درصد کاهش داد (P<۰/۰۵ و n=۵) (نمودار D۲). بنابراین نقش انتقال وابسته به نورونی در تغییرات فعالیت حرکتی در ارتباط با هیدروژن سولفید غیرمحتمل به نظر می‌رسد.







نمودار ۱ : (A) منحنی دوز – پاسخ سدیم هیدروژن سولفید. کاربرد سدیم هیدروژن سولفید سبب مهار وابسته به دوز در دامنه انقباضات در بافت‌های موش‌های دارای گیرنده وانلوئیدی و فاقد گیرنده وانلوئیدی می‌شود. منحنی پاسخ بین موش‌های دارای گیرنده وانلوئیدی و فاقد گیرنده وانلوئیدی تفاوت معنی‌داری ندارند. (B) اثر کاربرد داخل سروزی سدیم هیدروژن سولفید بر روی کمپلکس‌های حرکتی در موش سوری دارای گیرنده وانلوئیدی. (C) اثر کاربرد داخل سروزی سدیم هیدروژن سولفید بر روی کمپلکس‌های حرکتی در موش فاقد گیرنده وانلوئیدی



نمودار ۲ : (A) اثر هیدروژن سولفید (۳۰۰ میکرومول) بر روی انقباضات در حضور تترودوتوکسین (۱ میکرومول) در روده موش. (B) یافته‌های گروهی نشان‌دهنده اثر کاربرد سروزی هیدروژن سولفید (۳۰۰ میکرومول) بر روی تنوس پایه در ژژونوم است (n=۵). (C) تصویرها نشان‌دهنده انقباضات ناشی از بتانکول در حضور تترودوتوکسین بدون سدیم هیدروژن سولفید (سمت چپ) و همراه با سدیم هیدروژن سولفید در ژژونوم موش است. (D) یافته‌های گروهی نشان می‌دهد که در حضور تترودوتوکسین (۱میکرومول) سدیم هیدروژن سولفید (۳۰۰ میکرومول) سبب یک کاهش در تنوس پایه می‌شود و انقباضات ناشی از بتانکول (۳۰میکرومول) را به میزان ۵۵ درصد مهار می‌کند (P<۰/۰۵).

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که در هر دو گروه از بافت‌های دارای گیرنده‌های وانلوییدی و فاقد گیرنده‌های وانلوییدی کمپلکس‌های حرکتی مشابه بوده و در یک جهت دهانی به دمی یا آنالی منتقل می‌شوند. در مطالعات دیگر نیز روده موش‌های صحرایی و موش‌های کوچک سفید آزمایشگاهی الگوی فعالیت حرکتی مشابهی را نشان داده است (۱۱و۱۲). در مطالعه حاضر هیدروژن سولفید سبب ایجاد مهاری در کمپلکس‌های حرکتی روده باریک به صورت وابسته به دوز در موش‌های سوری گردید. در تحقیق Gallego هیدروژن سولفید سبب مهار کمپلکس‌های حرکتی در روده بزرگ موش‌های صحرایی و انسان گردید (۱۳). در مطالعه حاضر اثر مهاری هیدروژن سولفید در موش‌های سوری دارای گیرنده‌های وانلوییدی و غیروانلوییدی مشابه است. این موضوع نشان می‌دهد که نورون‌های آوران موجود در دستگاه گوارش که دارای گیرنده‌های وانلوییدی هستند؛ احتمالاً در پاسخ به هیدروژن سولفید دخالت ندارند. با این وجود بررسی دیگری نشان می‌دهد که هیدروژن سولفید بر روی فعالیت حرکتی مثانه در موش‌های صحرایی نقش تحریکی دارد و این اثر به وسیله نورون‌های آوران موجود در مثانه صورت می‌گیرد (۷). کمپلکس‌های حرکتی به وسیله TTX مهار می‌شوند. تترودوتوکسین سم عصبی است که از پتانسیل عمل جلوگیری می‌کند؛ بدون این که فعالیت تحریکی سلول‌های عضلانی صاف را تحت تاثیر قرار دهد. بنابر این ماهیت فعالیت کمپلکس‌های حرکتی عصبی است. بتانکول برای تقلید اثرات استیل کولین که به صورت درون‌زا در عضلات صاف برای ایجاد انقباض آزاد می‌شود؛ به کار می‌رود. بتانکول گیرنده‌های موسکارینی بر روی عضلات صاف را در جهت انقباضات عضلانی تحریک می‌کند (۱۴).

در مطالعه حاضر و همچنین مطالعه دیگری مشخص شده است که بتانکول انقباضات لوله گوارش را افزایش می‌دهد (۱۴). گیرنده‌های موسکارینی نوع ۲و۳ به عنوان انواع گیرنده‌های عمده موسکارینی عضلات صاف ایلیوم خوکچه هندی یافت می‌شوند (۱۵و۱۶). در مطالعه حاضر در حضور TTX هیدروژن سولفید سبب کاهشی در تنوس پایه گردید و انقباضی را که به وسیله بتانکول ایجاد شد؛ مهار کرد. به نظر می‌رسد که عمل بتانکول به صورت مستقیم بر روی گیرنده‌های عمده موسکارینی عضلات صاف انجام می‌شود. این یافته مجدداً تایید می‌کند که مکانیسم‌های عصبی در پاسخ مهاری به هیدروژن سولفید دخالت ندارند. از آنجایی که اثر مهاری هیدروژن سولفید در حضورTTX ادامه می‌یابد؛ احتمال

دارد که عمل هیدروژن سولفید بر روی نورون‌ها نبوده و در سطح غشاء سلول عضلانی اعمال گردد. در تحقیق Bhatia روی عضلات صاف عروقی، هیدروژن سولفید آزادسازی نیتریک اکسید را تسهیل کرد و به مهار انقباضات عضلات صاف توسط آزادسازی نیتریک اکسید کمک نمود (۱۷). اگرچه مخاط لوله گوارش به طور طبیعی کارایی لازم را برای سم‌زدایی هیدروژن سولفید دارد؛ با این حال در صورتی که مخاط لوله گوارش (درحالت التهاب) صدمه ببیند و یا در جایی که (در حالت رشد بالای باکتریایی) تولید باکتریایی آن افزایش یابد؛ می‌توان فرض نمود که هیدروژن سولفید ممکن است؛ حرکت روده را تحت تاثیر قرار دهد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان داد که هیدروژن سولفید یک مهار کننده مهم فعالیت حرکتی در روده موش است و می‌توان آن را در ردیف مواد مهارکننده گازی قرار داد. اثرات هیدروژن سولفید مستقل از گیرنده وانلوییدی بوده و ممکن است؛ به وسیله مکانیسم غیرعصبی بر روی عضلات صاف اعمال شود. اگرچه این یافته‌های جدید دلیل اولیه‌ای برای نقش هیدروژن سولفید در روده فراهم می‌کند؛ اما این که دقیقاً چه مکانیسم‌هایی این اثرات را واسطه‌گری می‌کنند؛ جای بررسی بیشتری دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه برای اخذ درجه دکترای فیزیولوژی بود. بدین وسیله از وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی به خاطر حمایت مالی پژوهش سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Wang R. The gasotransmitter role of hydrogen sulfide. Antioxid Redox Signal. 2003 Aug;5(4):493-501.

2. Deplancke B, Finster K, Graham WV, Collier CT, Thurmond JE, Gaskins HR. Gastrointestinal and microbial responses to sulfate-supplemented drinking water in mice. Exp Biol Med (Maywood). 2003 Apr;228(4):424-433.

3. Wang R. Two's company, three's a crowd: can H2S be the third endogenous gaseous transmitter? FASEB J. 2002 Nov;16(13):1792-1798.

4. Teague B, Asiedu S, Moore PK. The smooth muscle relaxant effect of hydrogen sulphide in vitro: evidence for a physiological role to control intestinal contractility. Br J Pharmacol. 2002 Sep;137(2):139-145.

5. Zhao W, Wang R. H(2)S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2002 Aug;283(2):H474-H480.

6. Qu K, Lee SW, Bian JS, Low CM, Wong PT. Hydrogen sulfide: neurochemistry and neurobiology. Neurochem Int. 2008 Jan;52(1-2):155-165.

7. Patacchini R, Santicioli P, Giuliani S, Maggi CA. Hydrogen sulfide (H2S) stimulates capsaicin-sensitive primary afferent neurons in the rat urinary bladder. Br J Pharmacol. 2004 May;142(1):31-34.

8. Chahl LA. Hydrogen sulphide: an endogenous stimulant of capsaicin-sensitive primary afferent neurons? Br J Pharmacol. 2004 May;142(1):1-2.

9. Zhong G, Chen F, Cheng Y, Tang C, Du J. The role of hydrogen sulfide generation in the pathogenesis of hypertension in rats induced by inhibition of nitric oxide synthase. J Hypertens. 2003 Oct;21(10):1879-1885.

10. Davis JB, Gray J, Gunthorpe MJ, Hatcher JP, Davey PT, Overend P, et al. Vanilloid receptor-1 is essential for inflammatory thermal hyperalgesia. Nature. 2000 May 11;405(6783):183-187.

11. Abdu F, Hicks GA, Hennig G, Allen JP, Grundy D. Somatostatin sst(2) receptors inhibit peristalsis in the rat and mouse jejunum. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2002 Apr;282(4):G624-G633.

12. Bian X, Ren J, DeVries M, Schnegelsberg B, Cockayne DA, Ford AP, et al. Peristalsis is impaired in the small intestine of mice lacking the P2X3 subunit. J Physiol. 2003 Aug 15;551(Pt 1):309-322.

13. Gallego D, Clavé P, Donovan J, Rahmati R, Grundy D, Jiménez M, et al. The gaseous mediator, hydrogen sulphide, inhibits in vitro motor patterns in the human, rat and mouse colon and jejunum. Neurogastroenterol Motil. 2008 Dec;20(12):1306-1316.

14. Eglen RM, Hegde SS, Watson N. Muscarinic receptor subtypes and smooth muscle function. Pharmacol Rev. 1996 Dec;48(4):531-565.

15. Eglen RM, Watson N. Selective muscarinic receptor agonists and antagonists. Pharmacol Toxicol. 1996 Feb;78(2):59-68.

16. Malagelada JR, Rees WD, Mazzotta LJ, Go VL. Gastric motor abnormalities in diabetic and postvagotomy gastroparesis: effect of metoclopramide and bethanechol. Gastroenterology. 1980 Feb;78(2):286-293.

17. Bhatia M, Wong FL, Fu D, Lau HY, Moochhala SM, Moore PK. Role of hydrogen sulfide in acute pancreatitis and associated lung injury. FASEB J. 2005 Apr;19(6):623-625.