Archive of SID

فیزیولوژی و فارماکولوژی
جلد ۵، شماره ۱، بهار و تابستان ۸۰

مقایسه اثر حفاظت پرتوی داروهای سایمتیدین و فاموتیدین در برابر پرتو گاما بر روی سلول‌های مغز استخوان

بهزاد ابراهیمی ، حسین مزدارانی

دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه رادیولوژی

چکیده

از مشکلات بارز داروهای محافظ پرتوی کنونی، سمیت بالا و گرانی زیاد آنها می‌باشد که استفاده از آنها را بسیار محدود می‌سازد. بنابراین جستجو برای داروهایی که علاوه بر ایجاد حفاظت خوب دارای سمیت پایین و قیمت مناسب باشند، ضروری است. در این تحقیق اثر حفاظت پرتوی داروهای سایمتیدین و فاموتیدین آنتاگونیست‌های گیرنده H_2 هیستامین ـ که علاوه بر دسترس بودن، دارای عوارض جانبی بسیار اندک در انسان‌ها و حیوانات می‌باشند، در برابر پرتو گاما با دوز ۲ گری، با روش آزمون میکرونوکلئی، بر روی سلول‌های مغز استخوان موش‌های نر بالغ Balb/c مورد بررسی قرار گرفت. داروی سایمتیدین در دوزهای ۷/۵، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و داروی فاموتیدین در دوزهای ۰/۷۵، ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موش به روش ip (داخل صفاقی) به تنهایی یا ۲ ساعت قبل از پرتوگیری موش‌ها، به آنها تزریق شدند. موش‌ها ۲٤ ساعت بعد از تیمار کشته شده و از سلول‌های مغز استخوان آنها لام تهیه شد. سپس تعداد سلول های پلی کروماتیک اریتروسیت (PCE) و نوروموکروماتیک اریتروسیت (NCE) دارای میکرونوکلئی (MNPCE , MNNCE) به ازایش شمارش ۱۵۰۰ سلول PCE، همچنین نسبت PCE/PCE + NCE به منظور تعیین اثر سیتوتوکسیک تیمارها برای گروه‌های ۵ تایی موش‌ها، محاسبه شد. پرتوگیری موش‌هایی که دارو دریافت نکرده بودند، باعث افزایش فراوانی MNPCE و کاهش نسبت PCE/PCE + NCE به منظور تعیین اثر سیتوتوکسیک تیمارها برای گروه‌های ۵ تایی موش‌ها، محاسبه شد. پرتوگیری موش‌هایی که دارو دریافت نکرده بودند، باعث افزایش فراوانی MNPCE و کاهش نسبت PCE/PCE + NCE نسبت به گروه شاهد شد که به ترتیب نشان از آثار کلاستوژنیک و سیتوتوکسیک اشعه گاما داشت.

تزریق سایمتیدین در موش‌هایی که تابش دریافت کردند باعث کاهش فراوانی MNPCE (P<۰/۰۰۱) و افزایش نسبت PCE/PCE + NCE نسبت به گروه تابش دیده تنها شد (P<۰/۰۰۱). تزریق فاموتیدین نیز در موش‌هایی که تابش اشعه دریافت کردند،باعث کاهش فراوانی MNPCE نسبت به گروه تابش دیده تنها شد (P<۰/۰۰۱) ولی اثری روی نسبت PCE/PCE + NCE نداشت. نتایج نشان می‌دهد فاموتیدین اثر کلاستوژنیک اشعه گاما را با نسبت حدود ۱/۹ برابر کاهش می‌دهد. در حالی که سایمتیدین این اثر را با نسبت ۱/٦ برابر کاهش می‌دهد که فاموتیدین در این خصوص از سایمتیدین

www.SID.ir

Archive of SID

اثر حفاظت پرتوی قوی‌تری را ایجاد کرد اما فاموتیدین اثری روی اثر سیتوتوکسیک پرتو گاما نداشت. در حالی که سایمتیدین این آسیب را نیز کاهش داد.

واژه‌های کلیدی : عوامل محافظ پرتوی، سایمتیدین، فاموتیدین، پرتو گاما، مغز استخوان موش، آزمون میکرونوکلئی.

مقدمه

کاربرد روزافزون پرتوهای یونیزان در علوم مختلف از جمله در صنعت، پزشکی، کشاورزی، نظامی‌گری و پژوهش‌های مختلف موجب شده است تا استفاده از آنها در زندگی امروزی انسان‌ها اجتناب ناپذیر شود. از طرفی زیان‌ها و آسیب‌های وارده از پرتوهای یونیزان بر موجودات زنده، هر روز بیشتر شناخته می‌شود و احتیاط و حفاظت بیشتر در کار با آنها را ایجاب می‌کند. لذا با توجه به عوارض حاصل از پرتوها، دانشمندان در پی یافتن مواد شیمیایی و داروهای طبیعی و مصنوعی بوده و هستند که این آسیب‌ها را تعدیل کنند.

اولین بار در سال ۱۹۴۹ پت (Patt) و همکاران ماده سیستئین را قبل از تابش‌گیری موش‌ها به آنها تزریق کردند و مشاهده کردند، درصد بقا در آنها نسبت به گروه تابش دیده شاهد افزایش پیدا کرده است. به این ترتیب اولین داروی محافظ پرتوی کشف شد اما به علت سمیت زیاد در انسان‌ها قابل استفاده نبود. از این به بعد در پژوهش‌های دیگر داروهای جدیدتری کشف شدند که حفاظت پرتوی بیشتر و سمیت کمتر داشتند [۲-۱]. این مواد ترکیبات شیمیایی و یا بیولوژیکی هستند که نسبت به آسیب‌های پرتوی در سیستم‌های شیمیایی، سلولی و جانوری نقشی حفاظتی دارند [۲-۱].

در حال حاضر محافظهای پرتوی برای کاربرد در انسان‌ها با سه مشکل بزرگ روبرو هستند :

۱- لزوم تجویز دوز زیاد برای ایجاد حفاظت مناسب. ۲- سمیت زیاد. ۳- دوره زمانی کوتاه فعالیت پس از تجویز.

در ابتدا کاربرد محافظ‌های پرتوی برای پیشامدها و جنگهای هسته‌ای مد نظر بود. بعدها این امیدواری به وجود آمد که محافظ‌های پرتوی در رادیوتراپی‌ها هم مؤثر واقع شوند به این صورت که بافت سالم و نه توموری را در برابر آسیب‌های پرتوی حاصل از رادیوتراپی محافظت کنند [۳].

یک محافظ پرتوی ایده‌آل نه تنها باید قابلیت ایجاد حفاظت مناسب را دارا باشد و در عین حال سمیت بارزی برای فرد ایجاد نکند بلکه باید سهل الوصول، از نظر شیمیایی پایدار و روش تجویز آسانی داشته باشد [۲و ٤]. متأسفانه داروهای موجود هیچکدام از این خصوصیات را به طور کامل ندارند و علیرغم آن که این داروها درجه حفاظت و سمیت را در حد قابل قبول در جوندگان کوچک نگه می‌دارند اما کوشش در جهت کاربرد این داروها در پستانداران بزرگ کمتر موفق بوده است. در حقیقت حفاظت کمتر و سمیت بیشتری در آنها ایجاد می‌کنند [۲].

در این تحقیق از داروهای سایمتیدین (Cimetidine) و فاموتیدین (Famotidine) (آنتاگونیست‌ها گیرنده H_2 هیستامین) که به طور متداول برای درمان زخم معده مورد استفاده قرار می‌گیرند با توجه به مزایای ارزان بودن،در دسترس بودن، غیر سمی بودن و عوارض جانبی اندک در انسان و حیوانات [۵ و ٦]، باعث شد که اثر حفاظت پرتوی آنها را در مقایسه با یکدیگر

www.SID.ir

Archive of SID

بسنجیم. فاموتیدین و سایمتیدین هر دو جاروب کننده قوی رادیکال‌های آزاد می‌باشند ولی فاموتیدین در این خصوص از سایمتیدین قوی‌تر بوده و در غلظت کمتر از آن ثابت واکنش بالاتری دارد [۷ و ۸]. در عوض سایمتیدین یک ایمونومدولاتور (Immunomodulator) [۳] قوی و شناخته شده است. در حالی که فاموتیدین اثر ایمنومدولاتوری بسیار ضعیفی از خود نشان داده است [۹ و ۱۰].

به این منظور از روش و آزمون میکرونوکلئی استفاده شد. آزمون میکرونوکلئی به عنوان روش مطمئن و کارآمد در بررسی آثار موتاژنیک، کلاستوژنیک و سیتوتوکسیک مواد شیمیایی و عوامل فیزیکی مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۱ و ۱۲]. این آزمون که توسط اشمید (Schmid) توسعه و شرح داده شده است [۱۳] در هر دو شرایط in vitro و in vivo قابل انجام است. در این روش می‌توان آسیب‌هایی را که منجر به شکست کروموزومی می‌شوند را به صورت قطعه‌ای از کروماتین جا مانده در سیتوپلاسم سلول تشخیص داد. سادگی نسبی تکنیک و رابطه خوب میان آبیراهیهایی کروموزومی و بروز میکرونوکلئی سبب شده است که این آزمون به عنوان یکی از شاخص‌های اصلی برای تأثیر عوامل مختلف بر روی سلول‌ها و موجودات زنده مورد استفاده قرار گیرد [۱۱، ۱۴ و ۱۵]. با این روش توان ایجاد حفاظت پرتوی داروهای سایمتیدین و فاموتیدین به صورت کاهش اثرات کلاستوژنیک و سیتوتوکسیک پرتو گاما در سلول‌های مغز استخوان مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

موش آزمایشگاهی : در این تحقیق از موش‌های Balb/c نر بالغ (۸ هفته‌ای) استفاده شد که پس از خریداری از مؤسسه رازی به مدت حداقل یک هفته در حیوان خانه دانشگاه تربیت مدرس برای خو گرفتن با شرایط جدید (غذا، نور، دما و محل زندگی) نگهداری شدند تا شرایط برای تمام موش‌ها یکسان باشد و سپس آزمایشات بر روی آنها انجام شد. در این تحقیق برای هر نمونه از ۵ سر موش استفاده شد.

داروها و روش تزریق : پودرهای خالص سایمتیدین و فاموتیدین محصول شرکت Guden Ritchter مجارستان از طریق شرکت داروسازی کیمیدارو تهیه گردید. برای تهیه غلظت‌های مورد نظر از آنها، این مواد در نرمال سالین استریل (حجم ۳۰ cc) حل شدند.

دوزهای تزریقی مورد نظر ۷/۵، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از سایمتیدین ۰/۷۵، ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم از فاموتیدین بودند. تزریق به صورت داخل صفاقی (ip) انجام شد. مبنای استفاده از دوز یک دهم فاموتیدین نسبت به سایمتیدین، معیار استفادهٔ دوز دارویی این دو دارو در شرایط بالینی بوده است.

پرتودهی : به منظور پرتودهی موش‌ها با پرتوهای گاما، از دستگاه کبالت ۶۰ (Co-60 Tritron Canada) مستقر در مرکز پرتو پزشکی نوین تهران استفاده شد. آهنگ دوز دستگاه در طول تابش دهی ۹۹/۷۷۲ سانتی‌گری در دقیقه و فاصله چشمهٔ تابش تا شیء ۸۰ cm بود و محاسبات برای میدان ۳۰×۳۰ cm انجام گرفت. مدت زمان پرتودهی برای ۳ گری (گری واحد دوز جذبی پرتوهای یون ساز معادل جذب انرژی تشعشعی یک ژول در یک کیلوگرم از هر نوع محیط مادی است)، یک دقیقه و ۵۸ ثانیه بود. پرتودهی ۲ ساعت پس از تزریق داروها انجام گرفت. به منظور پرتودهی، موش‌ها در یک جعبه مقوایی با ابعاد ۲۵×۲۷ cm و عمق ۷/۵ cm قرار داده شدند. داخل جعبه به وسیله تیغه‌های مقوایی به خانه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

مساوی تقسیم شده بود، طوری که هر موش در یک خانه قرار می‌گرفت و برای حصول اطمینان از قرار گرفتن موش‌ها در عمق مورد نظر، روی آنها قطعه‌ای اسفنج قرار داده شد.

نمونه‌گیری و تهیه لام : نمونه گیری ٢٤ ساعت پس از تابش‌گیری به تنهایی یا همراه با داروها انجام شد. برای این عمل موش‌ها به طریق جابجا شدن مهرهٔ گردن (Cervical dislocation) کشته شدند. پس از آن با وسایل جراحی، ناحیه پائین شکم و ران‌ها باز شده و دو استخوان ران به طور کامل خارج شدند. اطراف ران‌ها از گوشت و ماهیچه به طور کامل تمیز و زائده لگنی ران‌ها به کمک تیغ بیستوری قطع گردید و سپس به وسیله یک سر سوزن نازک (شماره ٢٠)، یک سوراخ در انتهایی زانویی استخوان ران ایجاد شد. نوک سوزن سرنگ حاوی cc ٢ سرم جنین گوساله (Fes, Fetal Calf Serum) داخل این سوراخ قرار داده شده و با فشار تزریق سرم، مغز استخوان ران همراه سرم به آرامی خارج گشته و در یک لوله آزمایش جمع آوری شد.

لوله حاوی سوسپانسیون حاصل، در سانتریفیوژ قرار داده شده و به مدت ٦ دقیقه و با سرعت ١٠٠٠ rpm سانتریفوژ گردید. بعد با پیپت پاستور مکنده، یک قطره از محلول در روی هر یک از ٣ لامی که از قبل برای این منظور آماده شده بودند، قرار داده شد. سپس به وسیله لام دیگر روی قطره به سرعت به طرف دیگر حرکت کرده تا یک گسترش یکنواخت تهیه گردید. گسترش تهیه شده در دمای آزمایشگاه به مدت ٢٤ ساعت قرار گرفت تا کاملاً ثابت و آماده رنگ آمیزی گردد.

رنگ آمیزی : برای رنگ آمیزی در این روش، از رنگ‌های مای گرانولد (Merck) و گیمسا (Merck) استفاده گردید. رنگ مای گرانولد سبب افتراق رنگ در سلول PCE و NCE می‌شود. با آنکه گیمسا نیز در این افتراق نقش دارد اما نقش اساسی آن در رنگ آمیزی میکرونوکلئی‌هاست.

در یک رنگ آمیزی خوب، هسته سلول‌های هسته دار به رنگ بنفش و سیتوپلاسم آنها به رنگ آبی روشن دیده می‌شود. سیتوپلاسم سلول‌های NCE به رنگ زرد متمایل به نارنجی و سیتوپلاسم سلول‌های PCE به رنگ متمایل به بنفش دیده می‌شود و به این ترتیب تمایز سلول‌ها به راحتی صورت می‌گیرد.

روش آماری : در این پژوهش برای هر نمونه به ازای شمارش ١٥٠٠ PCE دو متغیر مورد بررسی آماری قرار گرفت : الف ـ سلول‌های PCE دارای میکرونوکلئی ب ـ نسبت PCE/PCE + NCE.

نتایج حاصله به وسیله آنالیز واریانس یک طرفه مورد ارزیابی قرار گرفتند تا مشخص شود بین گروه های مختلف در دوزهای دارویی متفاوت تفاوت معنی‌دار وجود دارد یا خیر و برای آنکه مشخص شود کدامیک از گروه ها در سطح ٩٥ درصد اطمینان با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند، از آزمون LSD استفاده شد. به این منظور از برنامه نرم افزاری spss استفاده شد و برای رسم نمودارها از برنامه هاروارد گرافیک (HG) استفاده شد.

نتایج

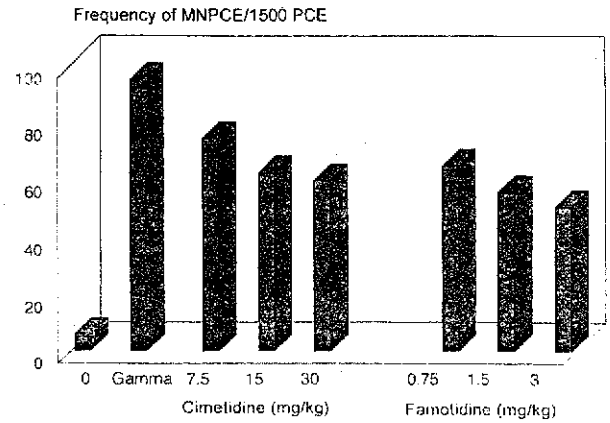
نتایج اشعه گاما بر سلول های مغز استخوان موش : تابش ٢ گری اشعه گاما باعث شد که فراوانی میکرونوکلئی به شدت افزایش یابد و از طرف دیگر اثر سیتوتوکسیک در سیستم مغز استخوان به صورت کاهش فراوانی سلول‌های PCE نسبت به کل اریتروسیت‌ها مشاهده شود (جدول ١). فراوانی میکرونوکلئی در سلول‌های NCE چندان بارز نیست و انتظار هم می‌رفت

www.SID.ir

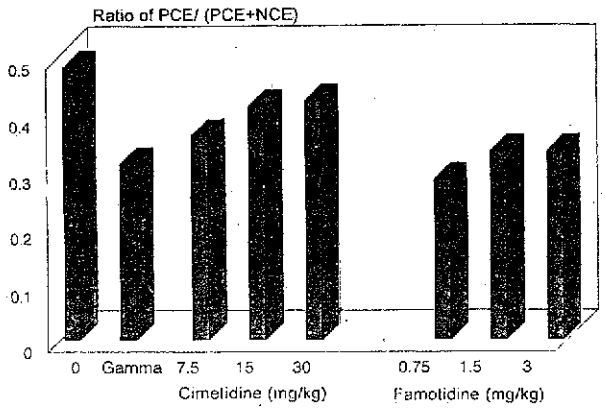
Archive of SID

زیرا زمان بیست و چهار ساعت پس از تابش اشعه زمان کافی برای تبدیل سلول‌های PCE به NCE نیست. آزمون آنالیز واریانس نتایج نشان می‌دهد بین گروه شاهد و تحت تابش ۲ گری در فراوانی MNNCE هیچ تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ولی در فراوانی MNPCE با $P<0/0001$ و در نسبت به PCE/PCE + NCE با $P<0/001$ بین گروه شاهد و تحت تابش ۲ گری تفاوت معنی‌دار وجود دارد (نمودارهای ۱ و ۲).

و نسبت PCE/PCE + NCE در هر موش به دست آمد و میانگین آنها برای هر گروه محاسبه شد. (جدول ۱) نتایج به دست آمده را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که تیمار موش‌ها با دوزهای مختلف سایمتیدین موجب افزایش فراوانی میکرونوکلئی نمی‌شود. آزمون آماری نتایج نشان دهنده آن است که تیمار موش‌ها با دوزهای مختلف سایمتیدین موج افزایش فراوانی میکرونوکلئی نمی‌شود.



نمودار ۱- فراوانی MNPCE نمونه‌های تابش دیده در حضور یا عدم حضور دوزهای مختلف داروهای فاموتیدین و سایمتیدین



نمودار ۲- نسبت PCE/PCE + NCE در گروه‌های تابش دیده در حضور یا عدم حضور داروهای فاموتیدین و سایمتیدین

تأثیر دوزهای دارویی سایمتیدین بر آثار پرتوگاما : در این مرحله تحقیق، حلال (نرمال سالین) و دوزهای دارویی سایمتیدین (۷/۵، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به تنهایی و بدون حضور اشعه گاما به صورت ip به گروه های ۵ تایی موش‌ها تزریق شدند و ۲۴ ساعت بعد، موش‌ها کشته شده و از مغز استخوان آنها، لام تهیه شد. سپس فراوانی سلول‌های MNNCE و MNPCE

ازمون آماری نتایج نشان دهنده آن است که فراوانی MNPCE و MNNCE نسبت به PCE/PCE + NCE در بین گروه‌های شاهد و حلال هیچ تفاوت معنی‌داری ندارد. همچنین نتایج نشان می‌دهد که متغیرهای MNPCE و MNNCE و PCE/PCE + NCE در هیچکدام از گروه‌های دارویی سایمتیدین با گروه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

www.SID.ir

Archive of SID

برای بررسی تأثیر حلال و سایمتیدین بر آثار اشعه گاما، حلال و دوزهای سایمتیدین (۷/۵، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ۲ ساعت قبل از پرتودهی موش‌ها، به صورت ip به آنها تزریق شدند و ۲٤ ساعت بعد از پرتودهی، موش‌ها کشته شدند و از مغز استخوان آنها، لام تهیه شد و متغیرهای MNPCE و MNNCE و PCE/PCE + NCE در آنها شمارش و محاسبه گردید و برای هر گروه میانگین‌گیری شد که نتایج حاصله در (جدول ۱) آمده است. هر گروه از نمونه‌ها شامل ۵ سر موش بوده است.

آنالیز واریانس نتایج بین گروه‌هایی که فقط تابش دریافت کرده‌بودند و گروه هایی که هم تابشی و هم حلال دریافت کرده بودند، نشان دهنده آن است که فراوانی MNNCE بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشته است. همچنین فراوانی MNPCE و نسبت PCE/PCE + NCE در بین گروه های حلال + ۲ گری با ۲ گری اشعه تنها تفاوت معنی داری ندارد.

همچنین فراوانی MNNCe در بین تمام گروه‌هایی که تابش و یا تابش و دارو با هم دریافت کرده بودند، تفاوت معنی‌داری در هیچکدام از دوزهای تابش و دارویی نداشتند ولی فراوانی MNPCE در تمام گروه‌هایی که ۲ گری تابش به همراه دارو دریافت کرده بودند با گروه ۲ گری تنها، تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (P<۰/۰۰۱). همچنین نسبت PCE/PCE + NCE در شرایط تابشی ۲ گری به همراه دارو با گروه ۲ گری تنها،تفاوت معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۱) (نمودارهای ۱ و ۲). همچنین مقایسه بین خود گروه‌هایی که هم تابش و هم داروی سایمتیدین دریافت کرده بودند، نشان داد که فراوانی MNPCE با P<۰/۰۵ بین دوزهای ۳۰ و ۱۵ تفاوتی نداشت ولی هر دو با دوز ۷/۵ mg/kg با P<۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار داشتند (در هر دو دوز تابش). همچنین نسبت PCE/PCE + NCE بین دوزهای ۳۰ و ۱۵ تفاوت معنی‌دار نبود ولی هر دوی این دوزها با دوز ۷/۵ با P<۰/۰۵ تفاوت معنی‌دار در دوز تابش ۲ گری داشتند (نمودار ۱ و ۲).

تأثیر دوزهای داروی فاموتیدین بر آثار پرتو گاما :

دوزهای مختلف داروهای فاموتیدین (۰/۷۵، ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به تنهایی و بدون حضور اشعه گاما به صورت ip به گروه‌های جداگانه ۵ تایی موش‌ها تزریق شدند و ۲٤ ساعت بعد، موش‌ها کشته شده و از مغز استخوان آنها لام تهیه شد. سپس فراوانی سلول‌های MNPCE و MNNCE و نسبت PCE/PCE + NCE در هر موش به دست آمد و میانگین آنها برای هر گروه محاسبه شد. (جدول ۲) نتایج به دست آمده را نشان می‌دهد. آزمون آماری نتایج نشان‌دهنده آن است که متغیرهای MNPCE، MNNCE و PCE/PCE + NCE در هیچکدام از گروه های دارویی فاموتیدین با گروه شاهد (بدین تزریق) اختلاف معنی‌دار، ندارد.

برای بررسی تأثیر فاموتیدین بر آثار اشعه گاما، دوزهای مختلف فاموتیدین (۰/۷۵، ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ۲ ساعت قبل از پرتودهی موش‌ها، به صورت ip به گروه‌های ۵ تایی آنها تزریق شد و ۲٤ ساعت بعد از پرتودهی، موش‌ها کشته شدند و از مغز استخوان آنها، لام تهیه شد و متغیرهای MNPCE، MNNCE و PCE/PCE + NCE در آنها شمارش و محاسبه گردید و برای هر گروه میانگین‌گیری شد ک نتایج حاصله در جدول ۲ آمده است.

آزمون آماری بر روی نتایج نشان داد که فراوانی MNPCE در میان تمام گروه‌هایی که تابش و یا تابش و

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- میانگین فراوانی میکرونوکلئی در سلول‌های PCE، NCE و نسبت PCE/PCE + NCE در گروه‌های تابش دیده با اشعه گاما به تنهایی یا همراه با دوزهای مختلف سایمتیدین

تیمار *	MNPCE/۱۵۰۰ PCE	MNNCE/۱۵۰۰ PCE	PCE/PCE + NCE
شاهد	۶ ± ۱/۲۲	۵/۲ ± ۱/۹۲	۰/۴۸ ± ۰/۰۲
حلال	۶/۲۱ ± ۲/۱۲	۴/۸ ± ۱/۳	۰/۴۶ ± ۰/۰۱
CIM ۷/۵ **	۵/۶ ± ۲/۸۸	۶/۷ ± ۲/۰۷	۰/۴۷ ± ۰/۰۳
CIM ۱۵	۵/۳۸ ± ۲/۶۴	۴/۹ ± ۳/۱۳	۰/۴۷ ± ۰/۰۲
CIM ۳۰	۵/۸ ± ۲/۳۴	۵/۸ ± ۱/۲۴	۰/۴۵ ± ۰/۰۲
اشعه گاما ۲ گری	۹۵ ± ۶/۹۶	۶/۱ ± ۱/۵۱	۰/۳۱ ± ۰/۰۳
اشعه گاما + حلال	۹۱/۳ ± ۷/۲۳	۶/۱ ± ۱/۵۱	۰/۳۱ ± ۰/۰۳
اشعه گاما + CIM ۷/۵	۷۴/۰۴ ± ۵/۵۶	۵/۹ ± ۲/۵۳	۰/۳۰ ± ۰/۰۴
اشعه گاما + CIM ۱۵	۶۲ ± ۴۰/۶	۵/۲ ± ۳/۸۶	۰/۴۱ ± ۰/۰۳
اشعه گاما + CIM ۳۰	۵۹/۲۷ ± ۵/۷۱	۵/۶ ± ۲/۳	۰/۴۲ ± ۰/۰۱

* ارقام مبین میانگین نتایج از نمونه‌های ۵ تایی موش‌ها برای هر گروه و انحراف معیار می‌باشد.

** CIM سایمتیدین و اعداد دوز سایمتیدین بر حسب mg/kg می باشد.

جدول ۲- میانگین فراوانی میکرونوکلئی در سلول‌های PCE، NCE و نسبت PCE/PCE + NCE در سلول‌های مغز استخوان موش تابش‌دیده با اشعه گاما به تنهایی یا همراه با دوزهای مختلف فاموتیدین

تیمار *	MNPCE/۱۵۰۰ PCE	MNNCE/۱۵۰۰ PCE	PCE/PCE + NCE
شاهد	۶ ± ۱/۲۲	۵/۲ ± ۱/۹۲	۰/۴۸ ± ۰/۰۲
FAM ۰/۷۵ **	۵/۸۳ ± ۲/۶	۶/۲ ± ۲/۳۸	۰/۴۵ ± ۰/۰۱
FAM ۱/۵	۶/۶ ± ۱/۶۷	۵/۴ ± ۳/۵۷	۰/۴۸ ± ۰/۰۲
FAM ۲	۶/۲ ± ۱/۴۸	۵/۲ ± ۲/۴۸	۰/۴۶ ± ۰/۰۳
اشعه گاما ۲ گری	۹۵ ± ۶/۹۶	۶/۱ ± ۱/۵۱	۰/۳۱ ± ۰/۰۳
اشعه گاما + FAM ۰/۷۵	۶۴/۳ ± ۴/۱۲	۵ ± ۰/۱۴	۰/۲۸ ± ۰/۰۴
اشعه گاما + FAM ۱/۵	۵۵/۱ ± ۷/۱	۵/۴ ± ۲/۹۵	۰/۳۳ ± ۰/۰۲
اشعه گاما + FAM ۳	۵۰ ± ۶/۸۹	۵/۶ ± ۲/۱۹	۰/۳۳ ± ۰/۰۴

* ارقام نشان دهنده میانگین نتایج حاصل از نمونه ۵ تایی موش‌ها و انحراف معیار می‌باشد. برای هر موش در هر نمونه ۱۵۰۰ سلول PCE و در میدان دید PCE، سلول‌های NCE شمارش شده است.

** FAM ، فاموتیدین و عدد مقدار دوز مورد استفاده فاموتیدین بر حسب mg/kg نشان می‌دهد.

www.SID.ir

Archive of SID

دارو دریافت کرده بودند، در هیچکدام از دوزهای تابش و دارویی تفاوت معنی‌دار نداشت ولی فراوانی MNPCE در گروه هایی که هم دارو و هم تابش دریافت کرده بودند(۲ گری) با گروه تابش ۲ گری تنها، تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۰۱). همچنین نسبت PCE/PCE + NCE در شرایط تابش ۲ گری به همراه دارو و با گروه ۲ گری تنهاا، تفاوت معنی‌دار نداشت (نمودارهای ۱ و ۲). همچنین مقایسه بین گروه‌هایی که هم تابش و هم فاموتیدین دریافت کرده بودند، در دوزهای متفاوت دارویی، نشان داد که دوز تابشی ۲ گری فراوانی MNPCE بین دوزهای ۳ و ۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌دار نداشت ولی دوز ۰/۷۵ mg/kg فاموتیدین با بقیه دوزها تفاوت معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵).

بحث

از آنجا که پرتوهای یونیزان باعث آسیب‌های کلاستوژن و سیتوتوکسیسیته در سلول ها می‌گردند و یکی از علل مهم استفاده از داروهای محافظ پرتوی کاهش این آثار می‌باشد [۲] و از طرفی آزمون میکرونوکلئی یک شاخص مهم برای بررسی اثرات کلاستوژنیک و سیتوکسیسیته می‌باشد [۱٤]، استفاده از این آزمون یک روش متداول برای بررسی اثر حفاظتی داروهای محافظ پرتوی می‌باشد. در سال ۱۹۸۳ گاریوت (Garriot) و گراو (Growe) ، آمینواتیل ایزوتیوورونیوم Amino ethyliso thiouronium (AET) را ۱۵ دقیقه قبل از تابش‌گیری موش‌ها به آنها به صورت ip تزریق کردند و آنها را در معرض اشعه گامای صادره از کبالت ٦۰ در دوزهای متفاوت قرار دادند و بعد از ۲٤ ساعت، فراوانی MNPCE را در لام‌ها شمارش کردند. مشخص شد در تمامی دوزها، فراوانی میکرونوکلئی با استفاده از محافظ پرتویی AET در مقایسه با گروه‌ها که تنها، تابش دریافت کرده بودند، کاهش نشان داد [۱٦].

در سال ۱۹۹۳ لاتا (Lota) و همکاران، آزمون میکرونوکلئی را برای سنجش اثر حفاظتی چندین ماده محافظ پرتوی از گروه‌های گوناگون به کار برد و اثرات حفاظتی بعضی از آنها چون AET و سلنیوم را در برابر آثار پرتوگاما بر مغز استخوان موش‌ها مورد تأیید قرار داد [۱۷].

همچنین گوپتا (Gupta) و همکاران در سال ۱۹۹۳، اثر حفاظتی مواد محافظ پرتوی AET، 5-HT را در حالت توأم با هم با آزمون میکرونوکلئی مورد سنجش قرار داد. آزمایش روی موش‌ها در برابر اشعه گاما انجام شد [۱۸].

لیدیا (Lidia) در سال ۱۹۹۵ در تحقیقی بر روی ۳ آمینوتیول مرکاپتواتیل آمین (MEA), AET و WR-2721 مقایسه اثر حفاظتی و سمیت آنها از آزمون میکرونوکلئی استفاده نمود. مشاهده شد در عدم حضور پرتو، داروی WR-2721 سمیت کمتری از دیگر داروها از خود نشان داده است و اثرات کلاستوژنیک و سیتوتوکسیک WR-2721 از بقیه داروها کمتر است. همچنین در حضور اشعه گاما، داروی WR-2721 اثرات کلاستوژنیک و سیتوتوکسیسیته اشعه گاما را در دوز تابشی ٦ گری کاهش داده است و فراوانی MNPCE را نسبت به گروه تابش تنها را از ۷٤/۲۰ به ٦۲ رسانده است و نسبت PCE/PCE + NCE را از ۱۳/۸۱ به ۲۳/٤۷ رسانده است. در حالی که داروهای دیگر در دوز برابر تزریقی با WR-2721 (۲۰۰ mg/kg) اثرات حفاظتی کمتری از خود نشان داده‌اند [۱۹]. اثرات حفاظتی، مواد محافظ پرتوی دیگر، همچون نمک‌های فلزات سنگین

www.SID.ir

Archive of SID

مانند : CH_3 $(COO)_2Ph$, $K_2Cr_2O_7$ نیز با آزمون میکرونوکلئی در برابر اشعه گاما مورد بررسی قرار گرفته است [۲۰].

برای بررسی اثر حفاظت پرتوی داروهای آنتاگونیست گیرنده H_2 هیستامین نیز از آزمون میکرونوکلئی استفاده شده است. مزدارانی و غربالی اثرات حفاظت پرتوی سایمتیدین در دوزهای تابشی ۰/۲۵ تا یک گری را در مغز استخوان موش‌ها با روش آزمون میکرونوکلئی مورد تأیید قرار دادند [۲۱] و همچنین اثر حفاظتی داروی سایمتیدین در برابر دوز تابشی نوترون سریع با روش آزمون میکرونوکلئی با دوز تزریقی ۱۵ mg/kg از سایمتیدین و در دوزهای تابشی ۱/۵ تا ۵ سانتی‌گری مورد سنجش قرار گرفت [۱۲]. در این تحقیق مشاهده شد تزریق تنها دوزهای سایمتیدین به موش‌ها (۷/۵، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم کیلوگرم) بدون حضور اشعه متغیرهای MNPCE و PCE/PCE + NCE را نسبت گروه شاهد تغییر نداده است (جدول ۱) که مبین آن است که سایمتیدین اثرات کلاستوژنیکی و سیتوتوکسیسیته ندارد که با مشاهدات قبلی همخوانی دارد [۵ و ۶]. همچنین فاموتیدین نیز به تنهایی در عدم حضور پرتو گاما در دوزهای ۰/۷۵، ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر موش‌ها تزریق و دیده شد که متغیرهای MNPCE و PCE/PCE + NCE را نسبت به گروه شاهد تغییر نداده است (جدول ۲) که نشان می‌دهد دوزهای مورد استفاده این دارو اثرات کلاستوژنیک و سیتوتوکسیک ندارد که با نتایج و مطالعات پیشین مطابقت دارد [۵ و ۶]. مقایسه نتایج در جدول ۱ و ۲ نشان می‌دهد که پرتو گاما در دوز تابش ۲ گری متغیرهای MNPCE و PCE/PCE + NCE را با $P<0/0001$ نسبت به گروه شاهد تغییر داده است که نشان از اثرات کلاستوژنیک و سیتوتوکسیسیته اشعه گاما دارد که قابل پیش بینی بود [۱۴ و ۲۳].

در این تحقیق برای کاهش اثرات پرتو گاما از داروی سایمتیدین و فاموتیدین استفاده شد. این داروها در حلال نرمال سالین حل شدند و مورد استفاده قرار گرفتند. برای آنکه مشخص شود خود حلال اثر حفاظت پرتوی دارد یا خیر، نرمال سالین به تنهایی در حجم ۰/۳ cc به تنهایی ۲ ساعت قبل از پرتوگیری به موش‌ها تزریق شد. بعد از ۲۴ ساعت موش‌ها کشته شدند و از مغز استخوان آنها مطابق با موارد دیگر لام تهیه شد. مشاهده شد متغیرهای MNPCE و PCE/PCE + NCE در مقایسه با گروه تابشی ۲ گری تغییر نیافته است. (جدول ۱ که نشان می‌دهد این حلال خود تأثیری بر فراوانی میکرونوکلئی ناشی از اشعه گاما ندارد).

نتایج تزریق سایمتیدین به تنهایی همراه با ۲ گری اشعه نشان داد که متغیر MNPCE را در دوزهای ۷/۵، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب ۷۴/۰۴، ۶۳ و ۵۹/۲۷ رسانده است و نسبت به ۲ گری تنها که ۹۵ است، تفاوت معنی‌دار یافته است ($P<0/01$). (جدول ۱) که نشان می‌دهد این دارو قادر است اثرات کلاستوژنیک پرتو گاما را کاهش دهد. همچنین سایمتیدین نسبت PCE/PCE + NCE را از ۰/۳۱ در گروه ۲ گری تنها به ۰/۳۶، ۰/۴۱ و ۰/۴۲ به ترتیب در دوزهای ۷/۵، ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم رساند که تفاوت معنی‌دار داشت ($P<0/01$). جدول ۲ نشان می‌دهد این دارو قادر است اثرات سیتوتوکسیسیته اشعه گاما را کاهش دهد که با نتایج قبلی مطابقت دارد [۲۱ و ۲۲]. قبلاً نیز نشان داده شده بود که این دارو در حضور اشعه گاما قادر به تحریک سیستم خونساز است [۲۴]. نتایج نشان می‌دهد که با توجه به اینکه در کاهش MNPCE دوزهای ۳۰ و ۱۵ میلی‌گرم

www.SID.ir

Archive of SID

بر کیلوگرم با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارد، دوز ۱۵ mg/kg از سایمتیدین دوز مطلوب می‌باشد. همین امر در مورد نسبت PCE/PCE + NCE بین دوزهای ۳۰ و ۱۵ میلی‌گرم صادق است.

فاموتیدین در غلظت‌های ۰/۷۵، ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم فراوانی MNPCE را در دوز ۲ گری از ۹۵ در گروه ۲ گری تنها به ترتیب ٦٤/۳، ۵۵/۱ و ۵۰ رسانده است (جدول ۲) که با ($P<0/001$) معنی‌دار است و نشان می‌دهد این دارو دوزهای فوق قادر به کاهش اثرات کلاستوژنیک اشعه گاما است که با مطالعات قبلی همخوانی دارد [۲۵]. دوز مطلوب از این مورد دوز ۱/۵ mg/kg بود که با دوز ۳ mg/kg تفاوت معنی‌داری نداشت. داروی فاموتیدین در دوزهای دارویی فوق نتوانست نسبت PCE/PCE + NCE را نسبت به گروه ۲ گری تنها تغییر دهد (جدول ۲، نمودار ۲). این دارو قادر به کاهش اثرات کلاستوژنیک پرتو گاما نیست.

مکانیزم‌های احتمالی حفاظت پرتوی داروهای سایمتیدین و فاموتیدین : داروهای سایمتیدین و فاموتیدین از آنتاگونیست‌های گیرنده H_2 هیستامین می‌باشند که در درمان زخم معده، زخم دوازده و بیماری پرترشحی معده کاربرد دارند [۵ و ٦]. این داروها علاوه بر مهار اثر هیستامین و ترشح اسید معده، به عنوان جمع کننده رادیکال $OH^{\cdot}$ در شرایط in vivo بخصوص در لومن معده بسیار مؤثر می‌باشند. این داروها در غلظت‌های پایین نیز خاصیت جاروب کنندگی قوی در مقابل اسید هایپوکلرو (HOCL) و مونوکلروآمین (NH_2Cl) دارند. این مواد، اکسید کننده‌های سمی هستند. اسیدهایپوکلرو از طریق اکسیداسیون کلر با آنزیم میلوپراکسیداز، در نوتروفیل‌ها تولید و آزاد می‌شود. این ماده می‌تواند محدوده وسیعی از ملکول‌های بیولوژیک را اکسید کند که در نتیجه آن تغییر در فعالیت سلول و در نهایت صدمه سلولی ایجاد کند. این ماده می‌تواند باعث القای تغییرات DNA شود. HOCl به جز اثر مستقیم می‌تواند با آمونیا واکنش دهد و تولید ترکیب بسیار فعال مونوکلروآمین را بدهد که این عامل به دلیل فعالیت بیوشیمیایی زیاد و چربی دوستی بالا، اثر روی غشائ سلولی می‌تواند ایجاد سمیت و صدمه کند [۲٦].

همچنین مشخص شد که وجود اتم سولفور در ساختمان آنتاگونیست‌های گیرنده H_2، در قابلیت جاروب رادیکال‌های آزاد این داروها نقش مهمی دارد. فاموتیدین به علت وجود ۳ اتم سولفور در ساختمانش قوی‌ترین جاروب کننده بیورادیکال‌ها در میان این داروها می‌باشند. با توجه به این واکنش این سه دارو رادیکال $OH^{\cdot}$ که سمی‌ترین رادیکال حاصل از اکسیژن است، ثابت واکنش این ۲ دارو با $OH^{\cdot}$ برای فاموتیدین، سایمتیدین به ترتیب $1/7\times10^{10}$ و $1/6\times10^{10}$ ($mol^{-1}S^{-1}$) می‌باشد که نشان می‌دهد فاموتیدین از سایمتیدین قوی‌تر است [۷]. همچنین این داروها از پراکسیداسیون غشاء سلول در اثر رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کنند که نشان از آنتی اکسیدان بودن این داروها دارد [۸].

تحقیقات نشان داده است که رادیکال‌های آزاد و در نتیجه بیورادیکال‌ها، با مهار سیستم لنفوسیتی و متوقف کردن آنزیم کاتالاز و ردکتازگلوتاتیون موجب فرآیند تشکیل هیدروژن و سایر پراکسیدها می‌شوند و در نتیجه باعث بروز آسیب‌های کروموزومی می‌شوند. گلوتاتیون با پراکسید هیدروژن وارد واکنش شده و آن را به آب تبدیل نموده و بدین ترتیب اثرات سمی آب اکسیژنه را از بین می برد. در سلول‌های مغز استخوان، کبد و کلیه پستانداران تعدادی آنزیم نظیر گلوتاتیون ردوکتاز و کاتالاز به طور طبیعی ساخته می‌شوند که در کاتالیز پراکسید

www.SID.ir

Archive of SID

هیدروژن نقش دارند [٤]. نشان داده اند که مهار فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و کاتالاز منجر به افزایش میکرونوکلئی می‌شود و به نظر می‌رسد که لنفوسیت‌های +CD4 در القای گلوتاتیون ردوکتاز و کاتالاز مؤثرند. بعضی شواهد دال بر مهار سلول‌های T_s و افزایش $CD4^+$ توسط سایمتیدین دارد. افزایش +CD4 به علاوه باعث تولید کوآنزیم NADPH و دیگر آنزیم‌های ترمیم DNA می‌شود [۲۷]. همچنین در آزمایش با سایمتیدین روی موش‌هایی که به آنها بنزن تجویز شده بود، دیده شده که تعداد میکرونوکلئی به میزان ۲ تا ۳ برابر گروهی که فقط بنزن دریافت کرده بود،در سلول‌های اریتروسیت مغز استخوان کاهش یافت که با توجه به اینکه بنزن یک تولید کننده قوی رادیکال‌های آزاد می‌باشد، نشان داد که سایمتیدین با جاروب رادیکال‌های آزاد از اثر بنزن کاسته است [۲۸].

داروهای آنتاگونیست گیرنده H_2 دارای اثر تعدیل کنندگی سیستم ایمنی می‌باشند. به این طریق که با مهار فعالیت لنفوسیت‌های T متوقف کننده و افزایش تولید IL-2 و تشدید فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی (Natural Killer) (NK)، باعث اثر تعدیل سیستم ایمنی می‌شوند. بین داروها سایمتیدین اثر ایمنی بیشتر و قوی‌تری از خود نشان داده است که این می‌تواند به علت اختلاف ساختمانی آنها باشد [۹]. سایمتیدین توانسته است، تکثیر سلول‌های کارسینومای کولون و معده را مهار کند. در حالی که رانیتیدین و فاموتیدین در دوزهای ۲۲۸-۵۰ mg/ml چنین تأثیری نداشته‌اند [۱۰].

سایمتیدین همچنین باعث افزایش تولید IL-12 و تعدیل تولید IL-10 می‌شود. IL-12 تحریک کننده پاسخ اولیه و IL-10 تحریک کننده پاسخ ثانویه ایمنی هستند. هیستامین باعث جایگزینی پاسخ ثانویه به جای پاسخ اولیه می‌شود که سایمتیدین این تغییر را برطرف می‌کند [۲۹]. همچنین گزارش شده که سایمتیدین باعث تعدیل اثر هیستامین روی سلول CD^{8++} می‌شود. این سلول‌ها مهارکنندهٔ سلول‌های T هستند و نقش مهمی در عملکرد سیستم ایمنی دارند [۳۰].

در مورد فعالیت ایمنی داروی فاموتیدین گزارشات کمی وجود دارد. از جمله اینکه فاموتیدین در جلوگیری از افزایش سلول‌های سرطانی کانسر معده تا حد کمی موفق بوده است [۱۰].

به طور کلی از این تحقیق نتایج ذیل استنتاج می‌شود :

۱- داروهای سایمتیدین و فاموتیدین در عدم حضور اشعه گاما، در دوزهای تزریقی، هیچ نوع آثار کلاستوژنیک و سیتوتوکسیک در مغز استخوان موش ایجاد نمی‌کنند.

۲- داروهای سایمتیدین و فاموتیدین، اثر حفاظت پرتوی روی مغز استخوان موش، در برابر پرتو گاما دارند.

۳- فاموتیدین اثرات کلاستوژنیک پرتو گاما را بهتر از سایمتیدین کاهش می‌دهد.

٤- سایمتیدین نیز اثرات سایتوتوکسیک پرتو گاما را بهتر از فاموتیدین کاهش می‌دهد.

منابع

[۱] کانکلین جمیز. جسی، والکر ریچارد، آی. ***عواقب انفجارهای اتمی از دیدگاه پزشکی***، مزدارانی، حسین. دانشگاه امام حسین، چاپ اول، (۱۳۷٤)، ۱۹۷-۱٦۷ و ٤۲۹-۳۸۳

www.SID.ir