

## Effect of Pantothenic Acid on Antioxidant Parameters against Experimental Models of Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Male NMRI Mice

Mahshid Nosrat<sup>1</sup>, Akram Eidi<sup>1\*</sup>, Pejman Mortazavi<sup>2</sup>, Shahrebano Oryan<sup>3</sup>

1. Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Department of Pathology, Faculty of Specialized Veterinary Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. Department of Physiology, Biological Science Faculty, Kharazmi University, Tehran, Iran.

Received: July 27, 2021; Accepted: March 06, 2022

### Abstract

**Background and Aim:** Gastric ulcer is a chronic gastrointestinal disease caused by the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) that increase the risk of gastrointestinal complications, such as ulcers or bleeding. The use of antioxidants as adjunctive therapy for this disease is very important. Pantothenic acid is a B vitamin and a powerful antioxidant that plays an important role in the metabolism of carbohydrates, fats, and proteins in the body. The aim of the present study was to evaluate the effect of pantothenic acid on antioxidant factors in improving experimental models of indomethacin-induced gastric ulcer in NMRI mice.

**Methods:** In the current experimental study, 60 adult male NMRI mice (body weight: 25-30 g) were randomly divided into 10 groups. Mice in the control group were intact. The sham group received pantothenic acid solvent (normal saline). The experimental groups received pantothenic acid at doses of 100, 200, and 400 mg/kg, omeprazole (40 mg/kg) as standard drug and indomethacin (18 mg/kg) to induce ulcers by gavage for two weeks. Six hours after receiving indomethacin and wounding, the mice's stomachs were examined for macroscopic evaluation of the ulcer at the epithelial level, visible lesions, inflammation with bleeding, and edema as well as biochemical evaluation of antioxidant enzymes by light absorption using an ELISA device. Statistical data were analyzed running one-way ANOVA.

**Results:** Administration of indomethacin significantly reduces gastric antioxidants, such as superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), and catalase (CAT) activity ( $p < 0.001$ ), and increases malondialdehyde (MDA) levels as compared with the normal control group ( $p < 0.001$ ). Treatment with pantothenic acid significantly increased the amount of SOD and CAT with doses of 200 ( $p < 0.01$ ), 400 mg/kg ( $p < 0.001$ ), and GPx in both doses ( $p < 0.001$ ) and the level of MDA with doses of 200 ( $p < 0.05$ ) and 400 mg/kg ( $p < 0.001$ ) significantly decreased. The result of pantothenic acid was 400 mg/kg equivalent to omeprazole and no significant difference was observed between the two substances.

**Conclusion:** The results of our study suggest that pantothenic acid can protect the stomach against indomethacin-induced ulceration in mice.

**Keywords:** Pantothenic acid; Indomethacin; Omeprazole; antioxidants enzymes; Peptic ulcer

**Please cite this article as:** Nosrat M, Eidi A, Mortazavi P, Oryan S. Effect of Pantothenic Acid on Antioxidant Parameters against Experimental Models of Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Male NMRI Mice. *Pejouhesh dar Pezeshki*. 2022;46(3):60-72.

\*Corresponding Author: Akram Eidi; Email: eidi@srbiu.ac.ir

## بررسی اثر اسید پانتوتنیک بر فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی در بهبود مدل‌های تجربی زخم معده

## القا شده با ایندومتاسین در موش‌های نر کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI

مهشید نصرت<sup>۱</sup>، اکرم عیدی<sup>۱\*</sup>، سید پژمان مرتضوی<sup>۲</sup>، شهربانو عریان<sup>۳</sup>

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- گروه پاتولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳- گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۰۵

## خلاصه

**سابقه و هدف:** زخم معده یک بیماری مزمن دستگاه گوارش است که یکی از عوامل ایجاد آن استفاده از داروی ضدالتهاب غیراستروئیدی (NSAID) است که خطر عوارض گوارشی مانند زخم یا خونریزی را افزایش می‌دهد. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان کمک درمانی برای این بیماری بسیار مورد توجه است. اسیدپانتوتنیک نوعی ویتامین B و یک آنتی‌اکسیدان قوی است که در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها در بدن نقش مهمی دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثر اسیدپانتوتنیک بر فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی در بهبود مدل‌های تجربی زخم معده القا شده با ایندومتاسین در موش‌های نر کوچک آزمایشگاهی نژاد NMRI بود.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی، ۶۰ موش نر بالغ NMRI (با وزن ۲۵-۳۰ گرم) به طور تصادفی به ۱۰ گروه تقسیم شدند. موش‌های گروه کنترل دست نخورده بودند. گروه شاهد، حلال اسیدپانتوتنیک (نرمال سالین) را دریافت کرد. گروه‌های تجربی، اسیدپانتوتنیک را در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، امپرازول (۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به عنوان داروی استاندارد و ایندومتاسین (۱۸ میلی‌گرم/کیلوگرم) را برای ایجاد زخم به صورت گاوژ به مدت دو هفته دریافت کردند. ۶ ساعت بعد از دریافت ایندومتاسین و ایجاد زخم، معده موش‌ها برای ارزیابی ماکروسکوپی زخم در سطح اپیتلیال، ضایعات قابل مشاهده، التهاب به همراه خونریزی و ادم، همچنین ارزیابی بیوشیمیایی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به وسیله جذب نوری با دستگاه الیزاریدر، خارج و بررسی شدند. داده‌های آماری بوسیله آنالیز واریانس یکطرفه تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** تجویز ایندومتاسین، میزان آنتی‌اکسیدان‌های معده نظیر سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوکاتاتیون پراکسیداز (GPx) و فعالیت کاتالاز (CAT) را به صورت معناداری کاهش می‌دهد ( $P < 0/001$ ) و سطح مالون دی‌آلدئید (MDA) را در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش می‌دهد ( $P < 0/001$ ). درمان با اسیدپانتوتنیک، میزان SOD و CAT را با دوزهای ۲۰۰ ( $P < 0/01$ ) و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ( $P < 0/001$ ) و GPx در هر دو دوز ( $P < 0/001$ ) به طور معناداری افزایش و سطح MDA با دوزهای ۲۰۰ ( $P < 0/05$ ) و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم ( $P < 0/001$ ) به طور معناداری کاهش داد. نتیجه حاصل از اسید پانتوتنیک ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم هم‌ارز با امپرازول بود و این دو نسبت به هم اختلاف معناداری ندارند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که اسیدپانتوتنیک بتواند از معده در برابر زخم ناشی از ایندومتاسین محافظت کند.

**واژگان کلیدی:** اسید پانتوتنیک؛ ایندومتاسین؛ امپرازول؛ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی؛ زخم معده

به این مقاله، به صورت زیر استناد کنید:

Nosrat M, Eidi A, Mortazavi P, Oryan S. Effect of Pantothenic Acid on Antioxidant Parameters against Experimental Models of Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Male NMRI Mice. *Pejouhesh dar Pezeshki*. 2022;46(3):60-72.

\*نویسنده مسئول مکاتبات: اکرم عیدی؛ آدرس پست الکترونیکی: eidi@srbiau.ac.ir

## مقدمه

زخم در اثر به هم خوردن یکپارچگی مخاطی معده ایجاد می‌شود که منجر به پیدایش نقص موضعی یا فرورفتگی ناشی از التهاب فعال می‌شود (۲). به غیر از نقش آسیب رسان اسید معده، امروزه مشخص شده که رادیکال‌های اکسیژن فعال (Reactive oxygen species, ROS) نقش مهمی در پاتوژنز آسیب بافتی حتی مخاط سیستم گوارشی ایفا می‌کنند به طوری که برای کنترل زخم‌های دستگاه گوارش علاوه بر مهار ترشح اسید، امروزه افزایش محافظت مخاط و جمع کردن ROS ها نیز بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۳). رادیکال‌های آزاد مثل ROS، هیدروژن پراکسید ( $H_2O_2$ ) و رادیکال‌های هیدروکسیل ( $OH^-$ ) جزو اصلی‌ترین فاکتورهای ایجاد کننده آسیب اکسیداتیو بوده و منجر به بروز زخم‌های مخاطی می‌شوند. همچنین مرگ برنامه ریزی شده سلولی، آپوپتوز نقش معینی در زخم‌ها و آسیب‌های گوارشی القاء شده توسط استرس، ایندومتاسین، اتانول و هلیکوباکتریلوری دارد. از سوی دیگر نیز مشخص شده است که زخم ناشی از استرس همراه با افزایش تولید رادیکال‌های آزاد بوده و پراکسیداسیون لیپید همراه با بالا رفتن سطح لیپید پراکسیداز است که این امر ناشی از افزایش تولید ROS در طی استرس است (۳). شکستن لیپید پراکسیداز یا پروکسی رادیکال‌ها ( $ROO^*$ ) در سیستم‌های بیولوژیکی، ایجاد تعدادی از آلدئیدها از جمله ۴-هیدروکسیل نونال (4HNE) و مالون دی آلدئید (Malondialdehyde, MDA) می‌کند. از آنجا که اندازه گیری مستقیم رادیکال‌های آزاد بسیار مشکل است، معمولاً محصولات ناشی از عملکرد رادیکال‌های آزاد مثل MDA اندازه گیری می‌شود. MDA فراوان‌ترین آلدئید حاصل از لیپید پراکسیداسیون است (۴، ۵). بدن، روش‌های شیمیایی و سیستم‌های مختلفی برای خنثی کردن رادیکال‌های آزاد دارد. عواملی وجود دارند که با رادیکال‌های آزاد مقابله می‌کنند و نقش آن‌ها، دادن الکترون‌های جفت نشده به رادیکال‌های آزاد است که رادیکال‌های آزاد به آنها متصل شده و از لحاظ آسیب رسانی به سلول‌های بدن غیرفعال می‌شوند، به این عوامل آنتی‌اکسیدان

می‌گویند. از جمله این آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توان به آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase, SOD)، کاتالاز (Catalase, CAT)، گلوکاتاتیون پراکسیداز (Glutathione peroxidase, GPx) و همچنین آنتی‌اکسیدان‌های فیزیولوژیک مانند آسکوربیک، گلوکاتاتیون،  $\alpha$ -توکوفرول (ویتامین E)، ملاتونین و اوریک اسید اشاره کرد (۶). در شرایط فیزیولوژیک، SOD به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مهم داخل سلولی، تبدیل آنیون سوپراکسید به اکسیژن مولکولی و هیدروژن پروکساید را کاتالیز کرده و سلول را از آسیب ناشی از آنیون سوپراکسید محافظت می‌کند (۷).

امروزه با وجود پیشرفت‌های چشمگیر داروهای سنتتیک، ویتامین‌ها به عنوان مکمل‌ها و مواد درمانی بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. اسید پانتوتنیک (یا ویتامین B5)، عضوی از خانواده ویتامین B و یک ماده مغذی ضروری در زندگی است (۸). این ویتامین در تعدادی از واکنش‌های بیولوژیکی از جمله تولید انرژی، کاتابولیسم اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه، سنتز اسیدهای چرب، فسفولیپیدها، اسفنگولیپیدها، کلسترول، سنتز اسیدهای آمینه مانند لوسین، آرژنین و متیونین، سنتز هورمون‌های استروئیدی و سنتز هم (heme) و انتقال‌دهنده عصبی استیل کولین نقش دارد (۸). همچنین در سنتز هورمون‌های قشر آدرنال (۹) و رشد پوست، مو و اعصاب (۱۰) دخیل است. اسید پانتوتنیک یک ماده مغذی ضروری برای سنتز کوآنزیم A است. قبلاً نشان داده شده بود که اسید پانتوتنیک در هر دو بیماری آلزایمر و هانتینگتون به طور قابل توجهی در مناطق مختلف مغز کاهش می‌یابد. به علاوه در بیماری پارکینسون اسید پانتوتنیک به طور قابل توجهی در مخچه، جسم سیاه و مدولا کاهش یافته است. روی هم رفته، این مشاهدات نشان دهنده یک اختلال رایج اما انتخابی منطقه‌ای در سطوح اسید پانتوتنیک در هر سه بیماری است (۱۱). گزارش شده است که اسید پانتوتنیک با افزایش مقدار گلوکاتاتیون سلول، از سلول‌ها و اندام‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظت می‌کند (۱۲). در حال حاضر انواع داروهای ضد زخم سنتتیک

دوره‌های آزمایشی آزادانه در دسترس بود (۱۳). در تمام طول مطالعه موش‌ها در شرایط استاندارد ذکر شده نگهداری شدند.

### مواد و داروها

از داروهایی شامل ایندومتاسین، امپرازول و اسید پانتوتنیک استفاده شد که از شرکت دارو پخش ایران خریداری شده و کلروفرم مصرفی از شرکت مرک آلمان خریداری شد. کیت‌های فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی از شرکت ZellBio آلمان تهیه شده است.

### طراحی تجربی و پروتکل درمان حیوانات

حیوانات به طور تصادفی به ۱۰ گروه ۶ تایی تقسیم شدند: گروه ۱ (کنترل سالم): موش‌هایی که دست نخورده باقی ماندند. گروه ۲ (شاهد): موش‌هایی که حلال اسیدپانتوتنیک (نرمال سالین) دریافت کردند. گروه ۳ (کنترل زخم): موش‌هایی که ایندومتاسین دریافت کردند (۱۸ میلی‌گرم/کیلوگرم، با استفاده از گاوآژ) (۱۲). گروه‌های ۴، ۵، ۶ (گروه‌های تجربی زخم): حیوانات اسید پانتوتنیک را در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به ترتیب با گاوآژ به مدت دو هفته دریافت کردند. در پایان دو هفته، آن‌ها به مدت ۲۴ ساعت غذا نخوردند (اما دسترسی آزاد به آب داشتند)، همه موش‌ها روزانه دوزهای منظم ویتامین و یک ساعت بعد از دریافت ویتامین، ایندومتاسین دریافت کردند و ۶ ساعت بعد از دریافت ایندومتاسین زخم معده ایجاد شد. گروه‌های ۷، ۸ و ۹ (گروه‌های تجربی سالم): حیوانات اسید پانتوتنیک را به ترتیب در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم بدون ایجاد زخم با ایندومتاسین دریافت کردند. گروه ۱۰ (استاندارد): حیوانات امپرازول (۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، همراه با گاوآژ) (۱۴) را به عنوان داروی مرجع برای درمان زخم معده دریافت کردند. ۶ ساعت پس از تجویز ایندومتاسین، همه حیوانات با اوردوز فنوباربتال کشته شدند، شکم آنها باز شد و معده به سرعت برداشته شد تا بر روی آنها ارزیابی مورد نیاز انجام گیرد.

ارزیابی ماکروسکوپی زخم

موجود هستند و بعضی از آن‌ها مانند راینیتیدین، امپرازول و ایزومپرازول و ... مسئول کنترل و درمان زخم‌های معدی ناشی از داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی (NSAIDs) مثل ایندومتاسین و یا مصرف الکل و ... هستند. از آن جا که اغلب این داروها دارای عوارض جانبی هستند، بنابراین یافتن ماده‌ای که بتواند تا حد ممکن اثرات زیان‌آور کمتری داشته باشد، کمک زیادی به درمان این بیماری خواهد کرد. ویتامین‌ها اگر در دوز مناسب مصرف شوند عوارض جانبی بسیار کمی دارند که در میان ویتامین‌ها، اسید پانتوتنیک (ویتامین B5) دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی زیادی است و در مورد عوارض هایپرپرویتامینوزی آن مطلبی گزارش نشده است. همچنین هیچ‌گونه گزارشی در رابطه با اثرات محافظتی ویتامین B5 و مکانیسم‌هایی که نشانگر چگونگی تاثیر این ماده بر روند ترمیم زخم معده باشد، در دسترس نیست و بیشتر مطالعات به جنبه زیبایی و ترمیم پوست و مو و ... پرداخته‌اند. بنابراین تصمیم بر آن شد از اسیدپانتوتنیک که اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی آن به اثبات رسیده است برای پیشگیری و ترمیم زخم معده ناشی از ایندومتاسین، افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش رادیکال‌های آزاد، افزایش تکثیر سلول‌های اپیتلیالی و موکوس معده در موش‌ها استفاده شود. امید است که یکی از راهکارهای مناسب برای پیشگیری زخم معده و بهبودی آن باشد.

## روش کار

### حیوانات

این مطالعه تجربی بر روی ۶۰ موش نر بالغ NMRI (وزن بدن ۳۰-۲۵ گرم) که بطور تصادفی به ۱۰ گروه ۶ تایی تقسیم شدند، انجام شد (۱). موش‌ها از انستیتوی پاستور ایران خریداری شدند و در یک حیوان خانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات با تهویه مطبوع با درجه حرارت کنترل شده ( $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) و رطوبت ( $60\% \pm 5\%$ ) نگهداری شدند. آنها در قفس‌هایی با چرخه تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. آب و غذا در طول

تجزیه و تحلیل شدند. ملاک استنتاج آماری  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

### ارزیابی ماکروسکوپی نمونه‌ها

نتایج ناحیه زخم و درصد مهار زخم در جدول ۱ مشاهده می‌شود. بر اساس نتایج حاصل، تجویز ایندومتاسین و القاء زخم سبب ایجاد ناحیه زخم معادل  $0.88 \pm 6$  میلی‌متر شده است که تجویز پانتوتنیک اسید در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم و امپرازول (۴۰ میلی‌گرم/گیلوگرم) به صورت معناداری ناحیه زخم را کاهش داده است. در مقایسه دوزهای پانتوتنیک اسید، اثر دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم دارای اختلاف معناداری با امپرازول نیست که نشانگر هم ارز بودن اثرات آنها با یکدیگر است. همچنین درصد مهار زخم در گروه‌های دریافت کننده اسید پانتوتنیک و امپرازول نشان داد که درصد مهار زخم توسط امپرازول و دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم اسید پانتوتنیک هم ارز بوده اما با گروه دریافت کننده دوز ۱۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم اسید پانتوتنیک دارای اختلاف معناداری است. در تصاویر فتواستریومیکروسکوپ مخاط معده نشان می‌دهد که آسیب معناداری ناشی از ایندومتاسین در سطح اپیتلیال، ضایعات قابل مشاهده، التهاب به همراه خونریزی و ادم در گروه کنترل زخم ایجاد شده در حالی که در گروه‌های تجربی سالم و کنترل سالم [شکل ۱- B, F, G, H] هیچ ضایعه ای مشاهده نمی‌شود. همچنین امپرازول [شکل ۱- I] و گروه‌های تجربی زخم با دریافت بالاترین دوز اسید پانتوتنیک [شکل ۱- D, E] در مقایسه با گروه کنترل زخم به طور قابل توجهی سبب کاهش ضایعات زخم معده شده‌اند (۴۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم).

معده از محل اتصال به مری و دوازدهه جدا شده و از سمت انحنای بزرگ باز و با نرمال سالین شستشو شد. نواحی مخاطی معده زخم شده مشاهده و سپس با فتواستریومیکروسکوپ عکسبرداری شد. آنالیز هر معده با نرم‌افزار Image J انجام گرفت و ناحیه زخم (UA=Ulcer Area) اندازه‌گیری شد. برای به دست آوردن میانگین UA برای هر گروه، تعداد کل UA ( $\text{mm}^2$ ) به تعداد حیوانات تقسیم شد. درصد محافظت معده (مهار) با توجه به معادله زیر (۱۵، ۱۶) محاسبه شد:

$$\text{درصد مهار زخم معده} (\%) = \frac{U_{\text{control}} - U_{\text{treatment}}}{U_{\text{control}}} \times 100$$

### ملاحظات اخلاقی

در این مطالعه نهایت تلاش در جهت حداقل آزار حیوانات انجام گرفت. حیوانات با اوردوز فنوباریتال کشته شدند. این پژوهش دارای شناسه اخلاق (IR.IAU.SRB.REC.1397.177) مصوبه ۱۳۹۷/۱۲/۲۱ از کمیته ملی اخلاق است.

### ارزیابی بیوشیمیایی

هموژناسیون بافت معده هر موش برای تعیین فعالیت بیولوژیکی آنزیم‌ها تهیه شد. هموژناسیون در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد پس از برش بافت معده به قطعات کوچک و استفاده از نمک بافر فسفات (PBS) (۱ گرم بافت / ۸ میلی‌لیتر PBS) در هموژنایزر انجام شد. سپس بافت در  $4500 \text{ rpm}$  و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد (۱۷). از مواد رویی به وسیله میزان جذب نوری با دستگاه الیزاری در (مدل BioTec ELX 800، ساخت آمریکا) برای تعیین فعالیت CAT با طول موج ۴۰۵ نانومتر و تعیین سطح GPx با طول موج ۴۱۲ نانومتر، SOD با طول موج ۴۲۰ نانومتر و MDA با طول موج ۵۴۰ نانومتر طبق دستورالعمل‌های شرکت سازنده استفاده شد (شرکت Zell Bio، آلمان).

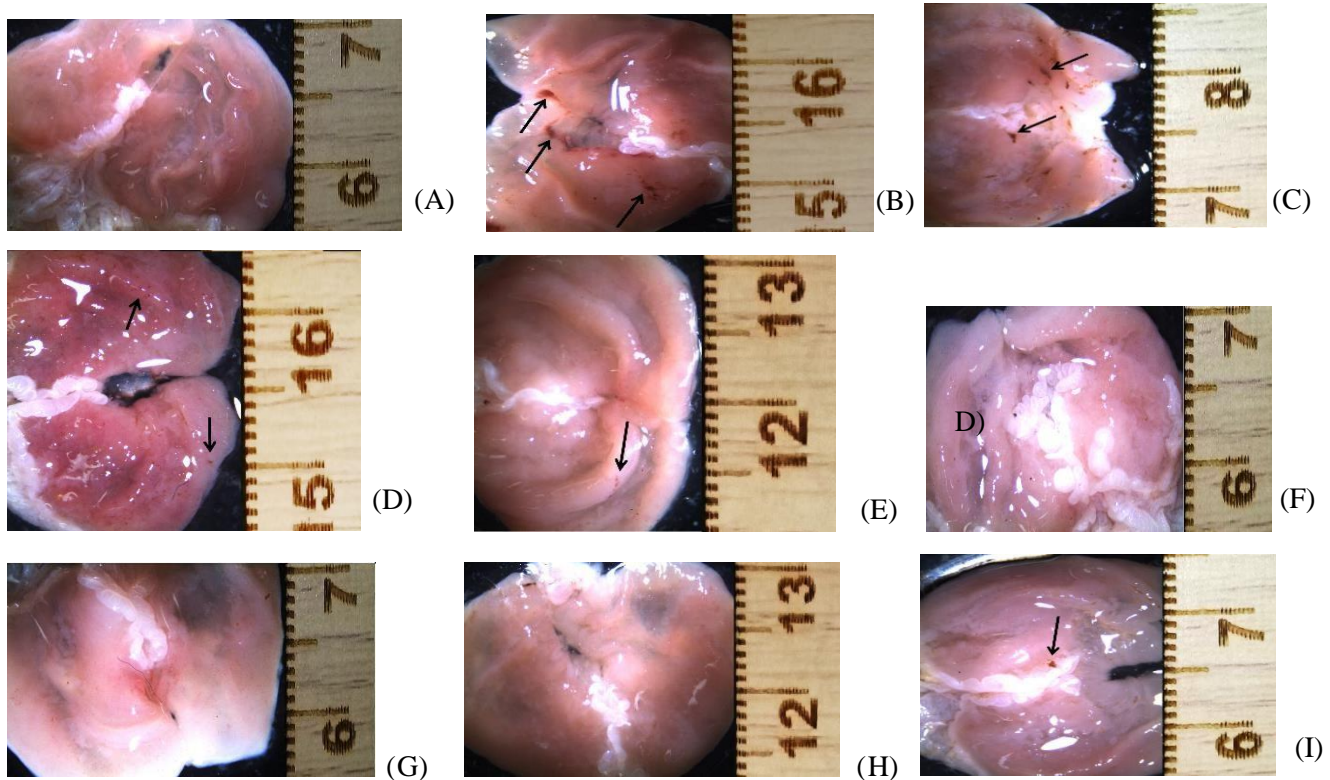
### ارزیابی آماری

داده‌های جمع آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS-۲۱ و آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی توکی

جدول ۱- ارزیابی میزان زخم ( $\text{mm}^2$ ) و درصد مهار زخم معده (%I) در گروه‌های سالم و تجربی

گروه	ناحیه زخم ( $\text{mm}^2$ )	درصد مهار زخم معده (%I)
کنترل سالم	-	-
شاهد	-	-
اسید پانتوتنیک با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم	-	-
اسید پانتوتنیک با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم	-	-
اسید پانتوتنیک با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم	-	-
کنترل زخم ایندومتاسین با دوز ۱۸ میلی‌گرم/گیلوگرم	$6 \pm 0.88^{**}$	-
زخم با ایندومتاسین + اسیدپانتوتنیک با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم	$5 \pm 0.58^*$	۲۱
زخم با ایندومتاسین + اسیدپانتوتنیک با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم	$2 \pm 0.52^{+++}$	۳۹
زخم با ایندومتاسین + اسیدپانتوتنیک با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم	$2 \pm 0.65^{+++}$	۵۷
زخم با ایندومتاسین + امپرازول با دوز ۴۰ میلی‌گرم/کیلوگرم	$1 \pm 0.23^{+++}$	۷۲

داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  SD بیان شدند.  $p < 0.01^{**}$  و  $p < 0.05^*$  در مقایسه با گروه کنترل سالم و  $p < 0.001^{+++}$  در مقایسه با گروه کنترل زخم است (n=6).



شکل ۱- ظاهر ماکروسکوپی ضایعات مخاطی معده موش‌ها در گروه‌های مختلف.

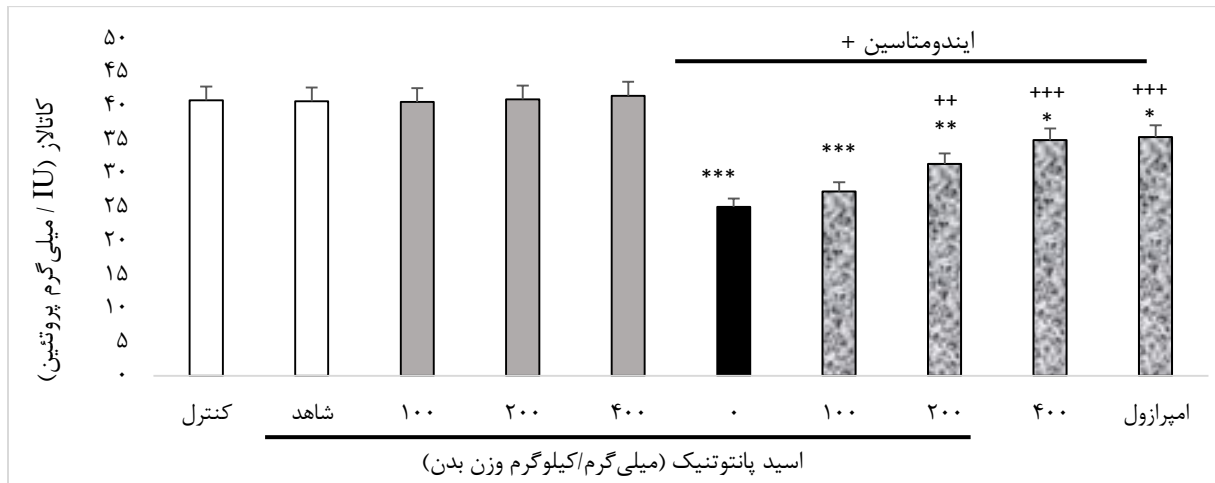
(A) گروه کنترل سالم که مخاط معده سالم را نشان می‌دهد. (B) گروه کنترل زخم دریافت‌کننده ایندومتاسین (۱۸ میلی‌گرم/گیلوگرم)، آسیب‌های شدیدی به مخاط معده (فلش سیاه) را نشان می‌دهد. (C, D, E) گروه‌های تجربی زخم دریافت‌کننده اسید پانتوتنیک (به ترتیب ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم) هستند که آسیب‌های نسبتاً زیادی را در مخاط معده در گروه دریافت‌کننده دوز ۱۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم نشان می‌دهد، اما در گروه‌های تجربی زخم دریافت‌کننده اسید پانتوتنیک در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم صدمات جزئی مخاط معده (پیکان سیاه) مشاهده می‌شود. (F, G, H) گروه‌های تجربی سالم دریافت‌کننده اسید پانتوتنیک (به ترتیب ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم)، مخاط معده سالم را نشان می‌دهند. (I) گروه تجربی زخم دریافت‌کننده امپرازول (۴۰ میلی‌گرم/گیلوگرم) به عنوان گروه استاندارد که در مقایسه با گروه کنترل زخم آسیب خفیف به مخاط معده (پیکان سیاه) را نشان می‌دهد.

### ارزیابی بیوشیمیایی

#### فعالیت کاتالاز (CAT)

میلی‌گرم/گیلوگرم به صورت معناداری نسبت به گروه کنترل زخم افزایش یافته است. (نمودار ۱). تمام مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  SD بیان شدند.  $p < 0.05$  \*،  $p < 0.01$  \*\* و  $p < 0.001$  \*\*\* در مقایسه با گروه کنترل سالم،  $p < 0.01$  ++ و  $p < 0.001$  +++ در مقایسه با گروه کنترل زخم ( $n=6$ ).

در گروه کنترل زخم میزان فعالیت کاتالاز به طور معناداری نسبت به گروه کنترل سالم کاهش یافت. اما فعالیت آن در گروه های تجربی زخم دریافت‌کننده اسید پانتوتنیک در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم و امپرازول در دوز ۴۰

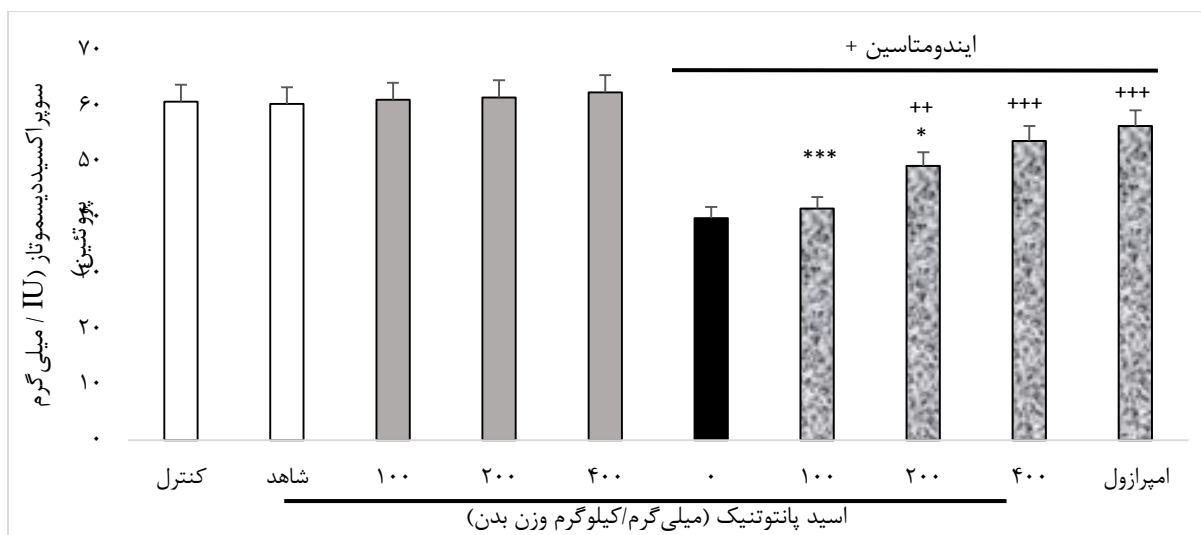


نمودار ۱- اثر اسید پانتوتنیک بر فعالیت کاتالاز (CAT)

امپرازول در دوز ۴۰ میلی‌گرم/گیلوگرم به صورت معناداری نسبت به گروه کنترل زخم افزایش یافت (نمودار ۲). تمام مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  SD بیان می‌شوند.  $p < 0.05$  \* و  $p < 0.001$  \*\*\* در مقایسه با گروه کنترل سالم،  $p < 0.01$  ++ و  $p < 0.001$  +++ در مقایسه با گروه کنترل زخم است ( $n=6$ ).

#### فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

در گروه کنترل زخم، میزان فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به طور معناداری نسبت به گروه کنترل سالم کاهش یافت. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در گروه‌های تجربی زخم دریافت‌کننده اسید پانتوتنیک در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم و

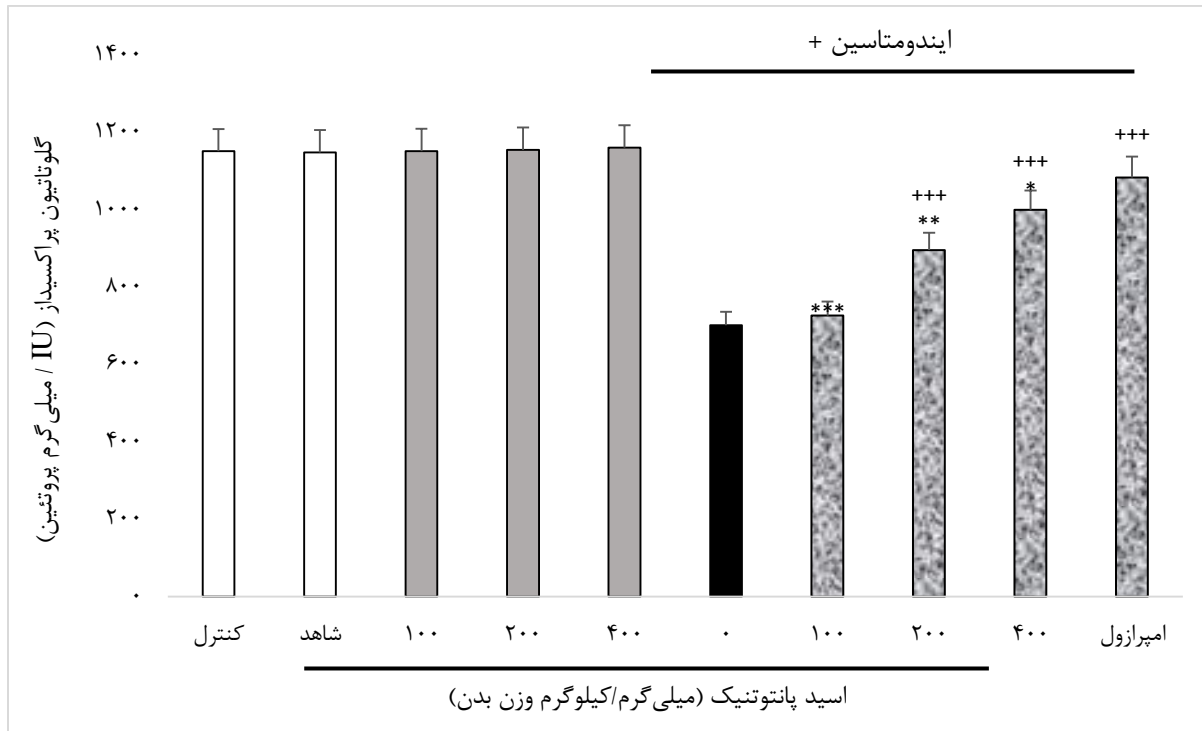


نمودار ۲- اثرات اسید پانتوتنیک بر سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

### فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)

صورت معناداری نسبت به گروه کنترل زخم افزایش یافت (نمودار ۳). تمام مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  SD بیان می‌شوند.  $p < 0.05$ ،  $p < 0.01$ ،  $p < 0.001$  در مقایسه با گروه کنترل سالم و  $p < 0.001$  در مقایسه با گروه کنترل زخم است (n=6).

سطح فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در گروه کنترل زخم در مقایسه با گروه کنترل سالم به طور معناداری کاهش یافته است. علاوه بر این، فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز در گروه‌های تجربی زخم دریافت‌کننده اسید پانتوتنیک در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم و امپرازول در دوز ۴۰ میلی‌گرم/گیلوگرم به

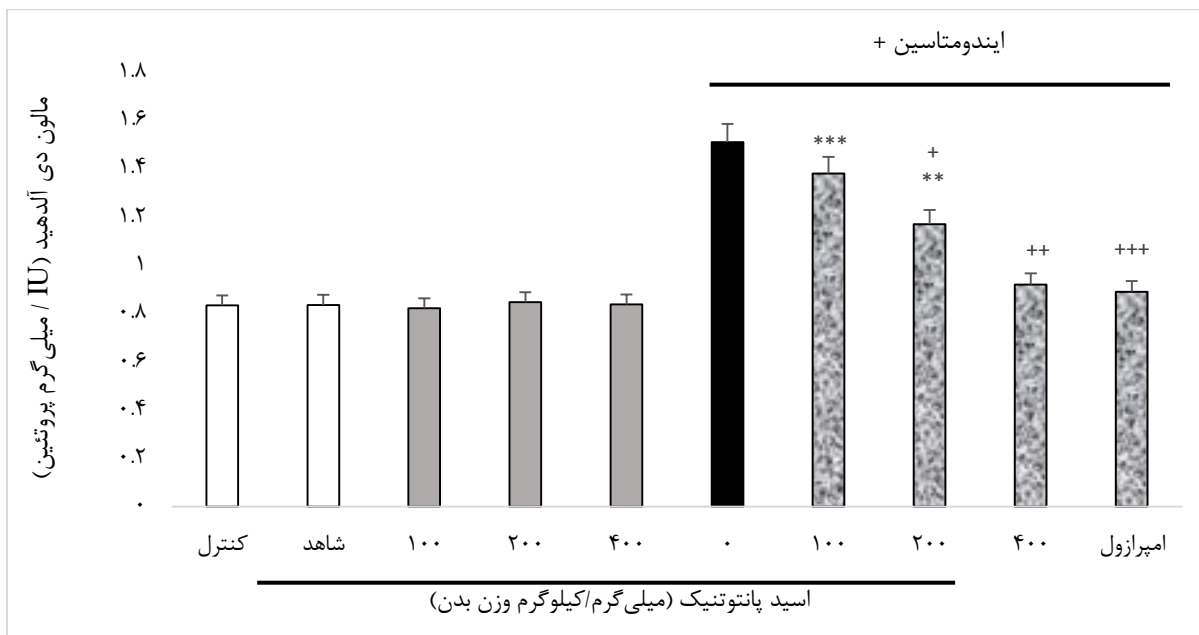


نمودار ۳- اثر اسید پانتوتنیک بر گلوتاتیون پراکسیداز (GPx).

### میزان مالون دی آلدئید (MDA)

تمام مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  SD بیان می‌شوند.  $p < 0.01$ ،  $p < 0.001$  در مقایسه با گروه کنترل سالم،  $p < 0.05$  و  $p < 0.001$  در مقایسه با گروه کنترل زخم است (n=6).

سطح مالون دی آلدئید در گروه کنترل زخم در مقایسه با گروه کنترل سالم به طور معناداری افزایش یافته است. سطح مالون دی آلدئید در گروه‌های تجربی زخم دریافت‌کننده اسید پانتوتنیک در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم و امپرازول در دوز ۴۰ میلی‌گرم/گیلوگرم به صورت معناداری نسبت به گروه کنترل زخم کاهش یافته است (نمودار ۴).



نمودار ۴- اثر اسید پانتوتنیک بر میزان مالون دی آلدئید (MDA)

## بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار ایندومتاسین سبب القا زخم در بافت معده موش‌ها می‌شود به صورتی که سبب کاهش معنادر در میزان آنزیم‌های SOD، GPx و CAT و افزایش معناداری در میزان MDA در بافت معده شده است. بررسی‌های ماکروسکوپی بافت معده موش‌ها نیز نشانگر بروز ایجاد زخم در بافت معده موش‌ها است. همچنین نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پیش تیمار اسید پانتوتنیک در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم سبب افزایش معنادر در میزان آنزیم‌های SOD، GPx و CAT و کاهش معناداری در میزان MDA در بافت معده موش‌های دریافت‌کننده ایندومتاسین شده است. بررسی‌های ماکروسکوپی بافت معده موش‌ها نیز موید کاهش معناداری در سطح ناحیه زخم در معده موش‌ها است. نتایج تحقیق نشان داد که تیمار اسید پانتوتنیک در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم به حیوانات سالم تغییر معناداری در میزان پارامترهای فوق نشده است. اسید پانتوتنیک اساساً به عنوان یک ماده غیرسمی شناخته شده و تا به حال هیچ موردی از هیپرویتامینوز در مورد این ویتامین گزارش نشده است و به دلیل همین فقدان گزارش آثار مضر آن،

تا به حال هیچ دستورالعمل خاصی در مورد سطح حداکثری قابل تحمل برای مصرف آن پیش بینی نشده است (۱۸). نتایج مطالعه‌ای که توسط Thornton در مورد اثر کمبود اسید پانتوتنیک بر ترشح و تحرک معده انجام گرفته نشان داده است که مصرف کافی اسید پانتوتنیک برای عملکرد طبیعی ترشح معده ضروری است، اما برای تحرک طبیعی ضروری نیست و اعتقاد بر این است که کمبود اسید پانتوتنیک با کاهش کوآنزیم A که در فرآیندهای متابولیکی که در آن سلول‌های جداری اسید هیدروکلریک ترشح می‌کنند، ممکن است سبب کاهش ترشح شیره معده شود (۱۹). گزارش شده است که اسید پانتوتنیک احتمالاً به حذف ROS کمک کرده و از آپوپتوز محافظت می‌کند. بنابراین، اسید پانتوتنیک و برخی از مشتقات آن ممکن است ابزاری ارزشمند در درمان اختلالات مربوط به استرس اکسیداتیو باشد (۲۰). اسید پانتوتنیک احتمالاً با کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از شرایط ایجاد شده توسط نقش آنتی‌اکسیدانی خود و با کاهش رادیکال‌های آزاد تولید شده، کمک می‌کند (۲۱). اگرچه بیشتر اوقات آثار مثبت آنتی‌اکسیدان‌ها مطرح است، اما تعدادی از بررسی‌های کلینیکی هم وجود دارند که آثار زیان‌بار این ترکیبات را نشان می‌دهند.

پروستاگلان‌دین سبب افزایش ترشح اسید معده، کاهش جریان خون مخاطی و ترشح بی‌کربنات می‌شود (۳۰، ۳۱). تجزیه و تحلیل ماکروسکوپی نشان داد که ایندومتاسین سبب ایجاد زخم معده می‌شود (شکل ۱). در تحقیق حاضر، تجویز ایندومتاسین به طور معناداری آنتی‌اکسیدان‌های معده شامل SOD، CAT و GPx را در مقایسه با گروه کنترل سالم کاهش داد ( $p < 0.001$ ) و سطح MDA را در مقایسه با گروه کنترل سالم افزایش داده ( $p < 0.001$ ) که این مطابق با مطالعات قبلی است که نشان دادند تجویز ایندومتاسین سبب کاهش قابل توجه محتوای آنتی‌اکسیدان در معده می‌شود (۳۳، ۳۴). همچنین مطالعات نشان می‌دهند که تجویز NSAIDs سبب آسیب به معده از طریق مهار سیکلواکسیژناز و آنزیم محدود کننده در سنتز PGs می‌شود (۱۵، ۳۲)، NSAIDs دارای فعالیت پرواکسیدانی هستند و با تولید گونه‌های اکسیژن فعال، پروکسیداسیون لیپید را آغاز می‌کنند (۱۵، ۳۴). ROSها مانند سوپراکسیدها و رادیکال‌ها واسطه‌های مهم استرس اکسیداتیو هستند که در اختلالات معده نقش دارند (۳۵، ۳۶). از طرف دیگر، SOD و CAT دو آنتی‌اکسیدان مهم هستند که در سیستم‌های بیولوژیکی در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن سمی مانند یون‌های سوپراکسید ( $O_2^-$ ) و هیدروکسیل ( $OH^-$ ) فعالیت می‌کنند (۳۶). گزارش شده است که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند SOD، CAT و گلوکوتایون نقش مهمی در کاهش آسیب اکسیداتیو دارند زیرا در از بین بردن مستقیم گونه‌های واکنش اکسیژن فعال نقش دارند (۳۶، ۳۷). CAT با کاتالیز ساختارهای  $H_2O$  و  $O_2$  از  $H_2O_2$  از خطرات اکسیداتیو جلوگیری می‌کند (۳۸). در این مطالعه، از امپرازول به عنوان داروی استاندارد استفاده شد زیرا به طور گسترده‌ای برای محافظت از مخاط معده استفاده می‌شود. امپرازول یک مهارکننده پمپ پروتون است (۳۹) که به عنوان یک عامل بازدارنده اسید در درمان بیماری‌های مرتبط با ترشح اسید معده عمل می‌کند (۲۵، ۴۰). بعلاوه، امپرازول در مدل‌های زخم وابسته به اسید نیز بسیار موثر است (۲۳، ۲۶). در مدل زخم ناشی از ایندومتاسین،

بیشترین شاهد در این زمینه در افرادی است که به طور افراطی مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌کنند. اگرچه مکانیسم این آزمایش‌ها تا به حال روشن نشده است اما یافته‌های موجود پیشنهاد می‌کنند که یک تعادل ظریفی میان آنتی‌اکسیدان‌ها و ROS، استرس ناشی از آنتی‌اکسیدان‌ها را به وجود می‌آورد. یک فرضیه در این زمینه مطرح شده که زمانی که آنتی‌اکسیدان‌ها بر رادیکال‌های آزاد بدن غلبه پیدا می‌کنند، استرس ناشی از آنتی‌اکسیدان‌ها به وجود می‌آید (۲۲).

زخم‌های معده در اثر برهم زدن تعادل طبیعی بین عوامل تهاجمی درون‌زا یا برون‌زا (مانند اسید، پپسین، اتانول و NSAIDها) و مکانیسم‌های دفاعی (مانند تولید مخاط و بی‌کربنات) رخ می‌دهد (۲۳، ۲۴). اعتقاد بر این است که NSAIDs شایع‌ترین عامل ایجاد کننده آسیب مخاط معده است (۲۵). از طرف دیگر، مکانیسم‌های دفاعی مخاط معده شامل چندین عامل محافظتی است که به مخاط اجازه می‌دهد در برابر تماس مکرر با عوامل آسیب رسان مقاومت کند (۲۶، ۲۷). یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های دفاعی مخاط معده پروستاگلان‌دین‌ها هستند. مخاط معده منبع تولید مداوم پروستاگلان‌دین است که به عنوان عامل حیاتی برای حفظ یکپارچگی مخاط و محافظت در برابر عوامل مضر در نظر گرفته می‌شود (۲۸). استرس اکسیداتیو یکی از مکانیسم‌های اصلی در بسیاری از بیماری‌ها و در نتیجه تولید بالای ROS مانند رادیکال‌های آزاد اکسیژن، پراکسید هیدروژن، هیدروکسیل و سایر موارد است. ROS به مولکول‌های اصلی سلول بدن مانند آنزیم‌ها، لیپیدهای غشا و DNA حمله می‌کند. در بدن، مکانیسم‌های دفاعی در برابر ROS وجود دارد، از جمله SOD، CAT، GPx و مواد آنتی‌اکسیدانی مانند ویتامین C، E، گروه B، ملاتونین و سایر موارد. هنگامی که تولید آن بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی غلبه کند، پراکسیداسیون لیپید در غشای سلول رخ می‌دهد و سبب آسیب سلول می‌شود (۲۹). در بسیاری از مطالعات گزارش شده است که ایندومتاسین از طریق فعالیت مهارتی بر روی سنتز پروستاگلان‌دین سبب ایجاد زخم معده می‌شود. مهار

## تشکر و قدردانی

این مطالعه بخشی از رساله دکتری تخصصی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات بوده که با حمایت مالی آن دانشگاه انجام شد. ما صمیمانه از همه اعضای تیم که روی این پژوهش کار کرده‌اند، تشکر می‌کنیم.

## ملاحظات اخلاقی

این پژوهش دارای شناسه اخلاق (IR.IAU.SRB.REC.1397.177) مصوبه ۱۳۹۷/۱۲/۲۱ از کمیته ملی اخلاق می‌باشد.

## تعارض منافع

نویسندگان، تعارض منافی را گزارش نکرده‌اند.

امپرازول در دوزهایی که ترشح مخاط را مهار نمی‌کند، در برابر آسیب مخاطی محافظت می‌کند (۲۵).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پیش تیمار اسید پانتوتنیک در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم سبب افزایش معنادار در میزان آنزیم‌های SOD، GPx و CAT و کاهش معناداری در میزان MDA در بافت معده موش‌های دریافت‌کننده ایندومتاسین شده است که نتیجه حاصل از اسید پانتوتنیک با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم حدوداً هم‌ارز با امپرازول به عنوان داروی استاندارد بود که احتمالاً با مهار ترشح اسید و استرس اکسیداتیو از آسیب مخاطی معده در برابر زخم القا شده توسط ایندومتاسین محافظت می‌کند. تولید آنتی‌اکسیدان‌ها یکی از ساز و کارهای اصلی دفاع از مخاط معده است (۴۱). به علاوه بررسی‌های ماکروسکوپی بافت معده موش‌ها نیز موید کاهش معناداری در سطح ناحیه زخم در معده موش‌ها است. نتایج تحقیق نشان داد که تیمار اسید پانتوتنیک در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/گیلوگرم به حیوانات سالم تغییر معناداری در میزان پارامترهای فوق نشده است. در طی بررسی مطالعات گذشته هیچ نتیجه‌ای در مورد تاثیر اسید پانتوتنیک بر زخم معده یافت نشده است. پژوهش حاضر به صورت مقطعی و بر روی حیوانات آزمایشگاهی انجام گرفته است اما این نتایج قابل تعمیم بر روی بیماران مبتلا به زخم معده ناشی از داروهای NSAIDs است که در صورت نیاز به تعمیم باید با احتیاط کامل و دانش کافی این کار انجام گیرد.

## نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد که اسید پانتوتنیک و امپرازول می‌توانند سبب مهار زخم معده ناشی از ایندومتاسین شوند زیرا شاخص زخم را کاهش داده و به دنبال آن درصد مهار زخم را افزایش داده‌اند. همچنین با جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد و افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از شدت استرس اکسیداتیو کاسته‌اند. به نظر می‌رسد که از آنجا که این ویتامین اثرات جانبی بسیار کمی دارد شاید بتواند جایگزین خوبی برای داروهای شیمیایی باشد.

## References

- Jalilzadeh-Amin G, Yousefi AR, Abdollahi-Pirbazari M. Anti ulcerogenic activity of Bunium pericum Boiss. essential oil in induced ulcer models in Wistar rats. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*. 2014;16(2):37-44.
- Casper, F., Houser, H., Longo, J., Jameson, H., Lvskaal.Harrison Principles of Internal Medicine: diseases of the digestive system. *Mighty*. 19<sup>th</sup> edition. 2015; 264.
- Biswas, K., Banyopadhyay, U., Chattopadyay, I., Varadaraj, A., Ali, E. and Banerjee, R.K. A novel antioxidant and antiapoptotic role of omeprazole to block gastric ulcer through scavenging of hydroxyl radical. *Biological Chemistry*. 2003; 278(13): 10993-11001.
- Karatas, F., Karatepe, M. and Baysar, A. Determination of free malondialdehyde in human serum by high-performance liquid chromatography. *Analytical Biochemistry*. 2002; 311(1): 76-79.
- Rang, H., P.Ritter, J.M., Flower, R.J. and Henderson, G. Rang and Dale s Pharmacology. *Churchill-Livingstone*. 5<sup>th</sup> edition. 2003; PP: 485-6, 493-4 and 726-8.
- Abul, H., Mathew, T. C., Dashti, H. M. and Al-Bader, A. 2002. Level of superoxide dismutase, glutathione peroxidation and uric acid in thioacetamide-induced cirrhotic rats. *Anatomia Histoogial Embryologia*. 2002; 31(2): 66-71.
- Shirpoor, A., Ansari, M. H., Salami, S., Pakdel, F. G. and Rasmi, Y. Effect of vitamin E on oxidative stress status in small intestine of diabetic rat. *World Journal of Gastroenterology*. 2007; 13(32): 4340-44.
- Stepanichev, M.Yu., Markov, D.A., Freiman, S.V., Frolova, O.A., Omelyanchik, S.N., Borodina, T.A., Novikova, M.R., Kanunnikova, N.P., Onufriev, M.V., Moiseenok, A.G., Gulyaeva, N.V. Combined Treatment with Pantothenic Acid Derivatives and Memantine Alleviates Scopolamine-Induced Amnesia in Rats:The Involvement of the Thiol Redox State and Coenzyme A. *Neurochemical journal*. 2016; 33(2): 128-139.
- Jaroenporn S., Yamamoto T., Itabashi A., Nakamura K., Watanabe G., Taya K. Effects of pantothenic acid supplementation on adrenal steroid secretion from male rats. *BiolPharmBull*. 2008; 31: 1205-8.
- Kuo YM., Hayflick SJ., Gitschier J. Deprivation of pantothenic acid elicits a movement disorder and azoospermia in a mouse model of pantothenate kinase-associated neurodegeneration. *J Inherit Metab Dis*. 2007; 30: 310-7.
- Scholefield, M.; Church, S.J.; Xu, J.; Patassini, S.; Hooper, N.M.; Unwin, R.D.; Cooper, G.J.S. Substantively Lowered Levels of Pantothenic Acid (Vitamin B5) in Several Regions of the Human Brain in Parkinson's Disease Dementia. *Metabolites*. 2021; 11: 569-581
- Slyshenkov VS., Dymkowska D., Wojtczak L. Pantothenic acid and pantothenol increase biosynthesis of glutathione by boosting cell energetics. *FEBSLett*. 2004; 569: 169-72.
- Rehm S., Sommer R., Deerberg F. Spontaneous nonneoplastic gastric lesions in female Han: *NMRI mice*, and influence of food restriction throughout life. *Veterinary pathology*. 1987; 24(3): 216-225.
- Wang T., Zhao S., Wang Y., Yang Y., Yao L., Chu L., Du H., Fu F. Protective effects of escin against indomethacin-induced gastric ulcer in mice. *Toxicol Mech Methods*. 2014; 24(8): 560-6.
- Zaghlool S., Shehata B., Abo-Seif A., Abd El-Latif HA. Protective effects of ginger and marshmallow extracts on indomethacin-induced peptic ulcer in rats. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*. 2015; 6: Issue 2.
- Bhattacharya S., Chaudhuri SR., Chattopadhyay S., Bandyopadhyay SK. Healing Properties of Some Indian Medicinal Plants against Indomethacin-Induced Gastric Ulceration of Rats. *J. Clin. Biochem*. 2007; 41: 106-114.
- Up Song D., Jang MS., Kim HW., Joong Yoon H., Oh Chay K., Eun Joo Y., Do Jung Y., Yeul Yang S., Whan Ahn B. Gastroprotective Effects of Glutinous Rice Extract against Ethanol-, Indomethacin-, and Stress-induced Ulcers in Rats. *Chonnam Med J*. 2014; 50: 6-14.
- Spitzer V. Vitamin basics. The facts about vitamins in nutrition. *DSM Nutritional Products*. 3<sup>rd</sup> edition. 2007; 74-78.
- H.M.Thornton G., B.Bean W. AND E.Hodges R. The Effect of Pantothenic Acid deficiency on gastric secretion and motility. *J Clin Invest*. 1955; 34:1-7
- Slyshenkov VS., Piwocka K., Sikora E., Wojtczak L. Pantothenic acid protects Jurkat cells against ultraviolet light-induced apoptosis. *Free Radic Biol Med*. 2001;30: 1303-10.
- Sabiua S., Garubab T., Sunmonuc T., Ajanian E., Sulymana A., Nuraina I., Balogunca A. Indomethacin-

- induced gastric ulceration in rats: Protective roles of *Spondias mombin* and *Ficus exasperate*. *Toxicology Reports*. 2015; 2: 261–267.
22. Villanueva C., Kross RD. Antioxidant-induced stress. *Int J Mol Sci*. 2012; 13: 2091-109.
23. Al-Batran R., Al-Bayaty F., Ameen Abdulla M., M Jamil Al-Obaidi M., Hajrezaei M., Hassandarvish P., Fouad M., Golbabapour Sh., and Talaee S. Gastroprotective effects of *Corchorus olitorius* leaf extract against ethanol-induced gastric mucosal hemorrhagic lesions in rats. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2013; 28: 1321–1329.
24. JM Groenen M., J Kuipers E., E Hansen B., J Th Ouwendijk R. Incidence of duodenal ulcers and gastric ulcers in a Western population: Back to where it started. *Can J Gastroenterol*. 2009; 23(9): 604-608.
25. Wallace J. Recent advances in gastric ulcer therapeutics. *Curr Opin Pharmacol*. 2005; 5(6): 573–7.
26. Laine L., Takeuchi K., Tarnawski A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. *Gastroenterology*. 2008;135(1):41–60.
27. Kay B. and Paola P. New Insights into the use of currently available non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Pain Res*. 2015; 8: 105–18.
28. Halter F., Tarnawski AS., Schmassmann A., Peskar BM. Cyclooxygenase-2 implications on maintenance of gastric mucosal integrity and ulcer healing: controversial issues and perspectives. *Gut*. 2001; 49(3): 443–53.
29. Slyshenkov VS., Piwocka K., Sikora E., Wojtczak L. Pantothenic acid protects Jurkat cells against ultraviolet light-induced apoptosis. *Free Radic Biol Med*. 2001;30: 1303-10.
30. Wallace, J.L. Prostaglandins, NSAIDs, and Gastric Mucosal Protection: Why Doesn't the Stomach Digest Itself? *Physiol. Rev*. 2008; 88: 1547-1565
31. Raji Y., Oyeyemi W., A.Shittu S.T and Bolarinwa A. F. Gastro-protective effect of methanol extract of *Ficus asperifolia* bark on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Nig. J. Physiol. Sci*. 2011; 26: 043 – 048.
32. Kaur A., Rana AC., Sharma N. and Kumar S. Herbal Drugs With Anti Ulcer Activity. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2012; 2(3): 160-165.
33. ÖZBAKİfi DENGZ G. and GÜRSAN N. Effects of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae) on indomethacin-induced ulcer model in rats. *Turk J Gastroenterol*. 2005; 16 (2): 85-88.
34. Sabiua S., Garubab T., Sunmonuc T., Ajanía E., Sulymana A., Nuraina I., Balogunca A. Indomethacin-induced gastric ulceration in rats: Protective roles of *Spondias mombin* and *Ficus exasperate*. *Toxicology Reports*. 2015; 2: 261–267.
35. Yamamoto A., Itoh T., Nasu R., Nishida R. Sodium alginate ameliorates indomethacin-induced gastrointestinal mucosal injury via inhibiting translocation in rats. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(10): 2641-2652.
36. Eidi A., Mortazavi P., Ebrahim Tehrani M., Haeri Rohani A.,Safi Sh. Hepatoprotective effects of pantothenic acid on carbon tetrachloride-induced toxicity in rats.*EXCLI Journal*. 2012; 11: 748-759.
37. Fang YZ., Yang S., Wu G. Free radicals, antioxidant, and nutrition. *Nutrition* 2002;18: 872-9.
38. Kumar NVR., Kuttan R. Modulation of carcinogenic response and antioxidant enzymes of rats administered with 1,2-dimethylhydrazine by picroliv. *Cancer Lett*. 2003; 191: 137-43.
39. Odabasoglu F., Cakir A., Suleyman H., Aslan A., Bayir Y., Halici M., Kazaz C. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006; 103: 59-65.
40. Abdel Aziz Ibrahim I., Ameen Abdulla M., Hajrezaie M., Bader A., Shahzad N., SAl-Ghamdi S., SGushash A., Hasanpourghadi M. The gastroprotective effects of hydroalcoholic extract of *Monolluma quadrangula* against ethanol-induced gastric mucosal injuries in Sprague Dawley rats. *Drug Des Devel Ther*.2016; 10: 93–105.
41. Bhattacharya S., R. Chaudhuri S., Chattopadhyay S., K. Bandyopadhyay S. Healing Properties of Some Indian Medicinal Plants against Indomethacin-Induced Gastric Ulceration of Rats. *J. Clin. Biochem. Nut*. 2007; 41: 106–114.