

Sıçanlarda Stres Ülserinde Antioksidan E Vitaminin Etkisi

EFFECT OF VITAMIN E ON STRESS INDUCED GASTRIC MUCOSAL INJURY IN RATS

Abdulhalim BAKİ*, Mehmet ARSLAN**, Abdulkadir REİS***, Yusuf UZUN**, Mehmet SARI****, Sait KAPICIOĞLU*****

* Yrd.Doç.Dr., Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD,
** Doç.Dr., Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD,
*** Doç.Dr., Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD,
**** Dr., Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD,
***** Prof.Dr., Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD, TRABZON

Özet

Oksijen radikalleri inflamasyon ve doku hasarının patogeneğinde rol aldıkları bilinen bileşiklerdir. Bu çalışmanın amacı, sıçanlarda stresin oluşturduğu gastrik hasarı engellemede güçlü antioksidan olduğu bilinen E vitamini'nin etkinliğini araştırmaktır. Çalışma için 20 erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar 2 gruba ayrılarak 24 saat aç bırakıldılar. Grup 1'e (n:10) intraperitoneal (ip) 100 mg/kg E vitamini, Grup 2'ye (n:10) ip 1 ml serum fizyolojik verildi. Tüm hayvanlar işlemden 1 saat sonra 4 saatlik hareketsizlik stresine maruz bırakıldılar. Süre sonunda, mideleri çıkarılarak makroskopik ve mikroskopik lezyon skorlaması yapıldı. Makroskopik lezyon skoru Grup 1'de 2.5 ± 0.80 , grup 2'de 4.9 ± 1.05 bulundu ($p < 0.05$). Mikroskopik lezyon skoru: Grup 1'de 2.1 ± 1.3 , Grup 2'de 3.90 ± 0.1 bulundu. ($p < 0.02$). E vitamininin hareketsizlik stresine karşı mide mukozasını %48,9 oranında koruduğu gözlemlendi. Bu sonuçlar antioksidan E vitaminin stres ülserinde koruyucu olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Stres ülseri, Antioksidan tedavi, E vitamini

T Klin Gastroenterohepatol 2000, 11:1-4

Summary

Oxygen radicals have been known to be involved in the pathogenesis of inflammation and tissue injury. The aim of the present study was to assess the effect of vitamin E as a strong antioxidant drug on stress induced gastric injury in rats. The animals were divided into two groups: group 1 (n:10) received 100 mg/kg intraperitoneal vitamin E and group 2 (n:10) received 1 ml intraperitoneal saline. Animals were immobilized for four hours to induced stress. The lesion in the stomach of rats were scored after sacrifice of animals at the end of immobilization stress. Macroscopic lesion scores were 2.5 ± 0.8 in group 1 and 4.9 ± 1.05 in group 2 ($p < 0.05$). Microscopic lesion score were 2.1 ± 1.3 in group 1 and 3.9 ± 0.1 in group 2 ($p < 0.02$). This shows that vitamin E may have a protective role on stress induced gastric lesions.

Key Words: Stress ulcer, Antioxydant treatment, Vitamin E

T Klin J Gastroenterohepatol 2000, 11:1-4

Oksijen radikalleri inflamasyon ve doku hasarının patogeneğinde rol aldıkları bilinen bileşiklerdir.(1-5) Bu moleküllerin ülseratif kolit ve

Geliş Tarihi: 19.04.1999

Yazışma Adresi: Dr.Abdulhalim BAKİ
Karadeniz Teknik Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dahiliye AD
Gastroenteroloji BD, TRABZON

duodenal ülser gibi hastalıkların patogeneğinde rol aldıkları bilinmektedir.(6-10) Son zamanlarda yapılan çalışmalar fosfolipazlar, katyonik proteinler, sitokinler ve proteinazlar gibi oksidan bileşiklerin inflamasyon alanında bulunduğunu ve invitro hücre hasarından sorumlu olduklarını düşündürmektedir (11). Bu etki oksijen radikal gidericiler ve proteinaz inhibitörleri ile azaltılabilmektedir. Manganez (Mn^{2+}) ve karotenin invitro ve invivo oksidanların oluşturduğu hücre hasarının

potent inhibitörü oldukları daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (12-20).

Bu çalışmadaki amaç güçlü antioksidan olduğu bilinen E vitamini'nin stresin sıçanlarda oluşturduğu gastrik hasarı engellemede ne ölçüde etkili olduğunu ortaya koymaktır.

Materyel ve Metod

Çalışma için 20 erkek sıçan seçildi. Sıçanlar sadece su içmelerine izin verilerek 24 saat aç bırakıldılar. İki gruba ayrıldılar. Grup 1'e (n:10) intraperitoneal (ip) 100 mg/kg E vitamini (Ephynal ampul), grup 2'ye (n:10) ip 1 ml serum fizyolojik verilerek uygulamadan 1 saat sonra 4 saatlik hareketsizlik stresine maruz bırakıldılar. 4. saatin sonunda kalplerine 1 cc hava verilerek öldürüldü. Mideleri oesofagus alt uç ve pilordan kesilerek çıkartıldı. Büyük kurvatur boyunca kesildi ve daha önce tanımlandığı gibi makroskopik ve mikroskopik lezyon skorlaması yapıldı (21).

Makroskopik skorlama: Lezyon skoru hasarın milimetre olarak uzunluğu ile değerlendirildi. Nokta lezyon = 1, lezyon <1 mm = 2, 1-2 mm = 3, 2-4 mm = 4, lezyon > 4 mm = 5, lezyon 5mm üzerinde ve genişliği \geq 5 mm ise = 6 olarak değerlendirildi.

Mikroskopik skorlama: İki yöntem kullanıldı; a) Midedeki lezyon sayısı b) Mikrometrik skala ile ölçülen lezyonların derinliği. Mukozal lezyon boyutu mukozanın derinliğinin % \geq 50, şiddetli lezyon olarak yorumlanıp, yüzde olarak ifade edildi.

İstatistik; Lezyon skoru tüm gruplarda Ortalama \pm (Standart error mean) SEM olarak ifade edildi. İstatistik testi olarak student t kullanıldı, $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Makroskopik lezyon skoru: Grup 1'de 2.5 ± 0.80 , grup 2'de 4.9 ± 1.05 olarak saptandı (Tablo 1, Şekil 1). İp E vitamini verilen sıçanlarda lezyon skoru, ip serum fizyolojik verilen sıçanlardaki lezyon skoruna göre düşüktü. ($p < 0.05$) Mikroskopik lezyon skoru: Grup 1'de 2.1 ± 1.3 (%30), Grup 2'de 3.90 ± 0.1 (%50) bulundu. Birinci gruptaki lezyon skoru ikinci gruptan düşüktü. ($p < 0.02$) (Tablo 2, Şekil 2) E vitamininin hareketsizlik stresine karşı mide mukozasını %48.9 oranında koruduğu gözlemlendi.

Tablo 1. Sıçanlarda oluşturulan stres ülserinde E vitamini etkisi. Makroskopik skorlama (Ortalama \pm SEM)

Gruplar	Lezyon skoru
E vitamini (n:10)	$2.5 \pm 0.80^*$
Kontrol (n:10)	4.9 ± 1.05

* $p < 0.05$ kontrolden fark

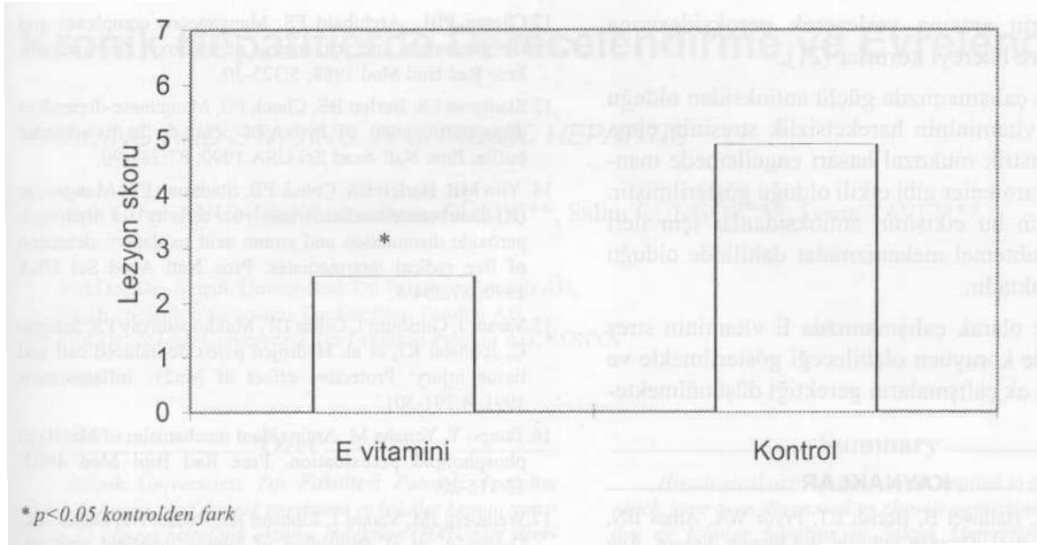
Tablo 2. Sıçanlarda oluşturulan stres ülserinde E vitamini etkisi. Mikroskopik skorlama (Ortalama \pm SEM)

Gruplar	No	Lezyon	Şiddet
E Vitamini	10	2.1 ± 1.3	3/10 (%30)*
Kontrol	10	3.9 ± 0.1	5/10(%50)

* $p < 0.02$ kontrolden fark

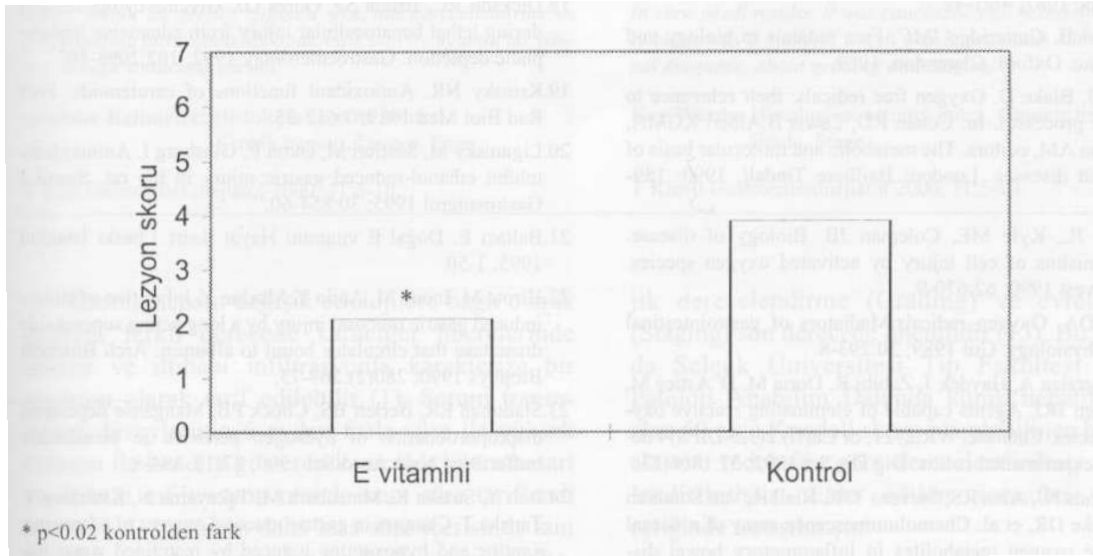
Tartışma

Serbest oksijen radikalleri stresin oluşturduğu doku hasarının patogeneğinde önemli rol oynarlar. Hirota ve arkadaşları süperoksit radikalleri ve onun derivelerinin sıçanları suya daldırılarak oluşturulan stres ülserlerinde dolaşımdaki düzeylerinin arttığı bunun efektif volümü azaltıp, vasküler geçirgenliği artırarak mide mukozasında lezyona neden olduğunu göstermişlerdir.(22) Aynı çalışmada süperoksit dismutaz derivelerinin radikallerin neden olduğu vasküler geçirgenlik artışını ve efektif volümdeki azalmayı düzelterek stresin yarattığı gastrik hasarı engellediği gösterilmiştir. Güçlü bir antioksidan olan manganez H_2O_2 oluşumunu engellerken aynı reaksiyonda HCO_3 oluşumunda katkıda bulunur ve midede pH yükselmesine neden olarak hasara karşı mukozayı korur.(23) Dört saatlik stresten sonra sıçan mide mukozalarındaki adenilat havuzunun (ATP+ADPA+AMP) azaldığı, tiobarbitürik asit gibi reaktif maddelerin, adenozin ve ürik asit konsantrasyonlarının arttığı hipoksantin konsantrasyonlarının azalmış olduğu gösterilmiştir (24). Adenozinli bileşiklerin serbest oksijen radikalleri için kaynak oldukları bilinmektedir (24). Stres ülserinde mukozal DNA sentezi prosta-



* $p < 0.05$ kontrolden fark

Şekil 1. Sıçanlarda oluşturulan stres ülserinde E vitaminin etkisi. Makroskopik lezyon skoru (Ortalama ± SEM)



* $p < 0.02$ kontrolden fark

Şekil 2. Sıçanlarda oluşturulan stres ülserinde E vitaminin etkisi. Mikroskopik lezyon skoru (Ortalama ± SEM)

glandin ve glutasyon düzeylerinde de belirgin azalmalar meydana gelmektedir (25).

Karotenlerin antioksidan etkileri enzimatik ve nonenzimatik olarak iki yolla olmaktadır (26). E vitamininin tek başına veya selenyumla birlikte bazal asit sekresyonunu ve soğuk stresinin yarattığı mukozal mukus kaybını azaltarak hasara karşı mide

mukozasını koruduğu gösterilmiştir (27). Serbest oksijen radikalleri tarafından oluşturulan oksidatif stres hücrenin zarla çevrili tüm organellerini etkileyerek hücreye zarar verir. Zarar mekanizması tüm zarlardaki lipidlerin peroksidasyona uğraması ve bütünlüğün bozulması şeklindedir. E vitamini ve benzer yağda eriyen bileşikler hücre zarında lipid

moleküllerin arasına yerleşerek peroksidasyona karşı zarı ve hücreyi korurlar (21).

Bizim çalışmamızda güçlü antioksidan olduğu bilinen E vitamininin hareketsizlik stresinin oluşturduğu gastrik mukozal hasarı engellemede manganez ve karotenler gibi etkili olduğu gösterilmiştir. E vitamininin bu etkisinin antioksidanlar için ileri sürülen muhtemel mekanizmalar dahilinde olduğu varsayılmaktadır.

Sonuç olarak çalışmamızda E vitamininin stres ülserlerinde koruyucu olabileceği gösterilmekte ve bu konuda ek çalışmaların gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107:526-45.
2. Slatter TF, Cheeseman KH, Davis MJ, Proudfoot K, Xin W. Free radical mechanisms in relation to tissue injury. *Proc Nutr Soc* 1987; 46:1-42.
3. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford: Clarendon, 1989.
4. Lunec J, Blake D. Oxygen free radicals: their relevance to disease processes. In: Cohen RD, Lewis B, Albert KG, Denman AM, editors. *The metabolic and molecular basis of acquired diseases*. London: Bailliere Tindall, 1990: 189-212.
5. Farber JL, Kyle ME, Coleman JB. *Biology of disease. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species*. Lab Invest 1990; 62:670-9.
6. Parks DA. Oxygen radicals: Mediators of gastrointestinal pathophysiology. *Gut* 1989; 30:293-8.
7. Keshaverzian A, Haydek J, Zabihi R, Doria M, D' Astice M, Sorensen JRJ. Agents capable of eliminating reactive oxygen species. Catalase, WR,2721, or Cu(II) 2(3,5-DIPS)4 decrease experimental colitis. *Dig Dis Sci* 1992; 37:1866-73.
8. Simmonds NJ, Alen RS, Stevens TJR, Niall R, Van Someren M, Blake DR, et al. Chemoluminescence assay of mucosal reactive oxygen metabolites in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1992; 103:186-96.
9. Babbs CF. Oxygen radicals in ulcerative colitis. *Free Rad Biol Med* 1992; 13:169-81.
10. Jankowski J, Bridge AB, Scott N, Wormsley KG, Belch JFF. Circulating free radical markers and peptic ulcer disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1991; 3:823-8.
11. Ginsburg I, Misgav R, Pinson J, Varani PA, Ward PA, Kohen R. Synergism among proteinases, phospholipases, microbial hemolysins, cationic proteins and cytokines. A possible major cause of cell and tissue destruction in inflammation. *Inflammation* 1992; 16:519-37.
12. Cheton PBL, Archibald FS. Manganese complexes and the generation and scavenging of hydroxyl free radicals. *Free Rad Biol Med* 1988; 5:325-30.
13. Stadtman ES, Berlett BS, Chock PB. Manganese-dependent disproportionation of hydrogen peroxide in bicarbonate buffer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:384-90.
14. Yim MB, Barlett BS, Chock PB, Stadtman ER. Manganese (II)-bicarbonate-mediated catalytic activity for hydrogen peroxide dismutation and amino acid oxidation: detection of free radical intermediates. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:394-8.
15. Varani J, Ginsburg I, Gibbs DF, Mukhopadhyay PS, Sulavic C, Johnson KJ, et al. Hydrogen peroxide-induced cell and tissue injury: Protective effect of Mn²⁺. *Inflammation* 1991; 4:291-301.
16. Tampo Y, Yonaha M. Antioxidant mechanism of Mn(II) in phospholipid peroxidation. *Free Rad Biol Med* 1992; 13:115-20.
17. Weinberg JM, Varani J, Johnson KJ, Roeser NF, Dame NK, Davis JA, et al. Protection of human umbilical vein endothelial cells by glycine and structurally similar amino acids against calcium and hydrogen peroxide-induced lethal cell injury. *Am J Pathol* 1992; 140:457-71.
18. Dickson RC, Bronk SF, Gores GJ. Glycine cytoprotection during lethal hepatocellular injury from adenosine triphosphate depletion. *Gastroenterology* 1992; 102:2098-107.
19. Krinsky NR. Antioxidant functions of carotenoids. *Free Rad Biol Med* 1989; 7:617-35.
20. Ligumsky M, Sestieri M, Okon E, Ginsburg I. Antioxidants inhibit ethanol-induced gastric injury in the rat. *Scand J Gastroenterol* 1995; 30:854-60.
21. Baltacı E. Doğal E vitamini Hayat iksiri 1.baskı İstanbul 1995: 1-50.
22. Hirota M, Inoue M, Ando Y, Morino Y. Inhibition of stress-induced gastric mucosal injury by a long acting superoxide dismutase that circulates bound to albumin. *Arch Biochem Biophys* 1990; 280(2):269-73.
23. Stadtman ER, Berlett BS, Chock PB. Manganese dependent disproportionation of hydrogen peroxide in bicarbonate buffer *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87(1): 384-8.
24. Itoh Y, Suzika K, Matsubara M, Takeyama N, Kitazawa Y, Tanaka T. Changes in gastric mucosal content of adenosine, xantine and hypoxantine induced by restrained water immersion stress: antiulcer effects of tetraprenylacetone. *Digestion* 1991; 48(1): 25-33.
25. Konturak PK, Brzozowski T, Konturak SJ, Dembinski A. Role of epidermal growth factor, prostaglandin, and sulfhydryls in stress induced gastric lesions. *Gastroenterology* 1990; 99(6): 1607-15.
26. Al Moutairy AR, Tariq M. Effect of Vitamin E and selenium on hypothermic restraint stress and chemically induced ulcers *Dig Dis Sci* 1996; 41(6): 1165-71.
27. Karinsky NI. Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radic Biol Med* 1989; 7(6): 617-35.

