

Sıçanlarda Alkolle Geliştirilen Mide Mukoza Lezyonları Üzerine Trimetazidin'in Koruyucu Etkisi

ROLE OF TRIMETAZIDINE ON THE PREVENTION OF ETHANOL-INDUCED GASTRIC MUCOSAL INJURY

Mehmet İŞLER, Ömer ÖZÜTEMİZ, Yücel BATUR, Serhat BOR, Hanefi ÇAVUŞOĞLU

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı, İZMİR

ÖZET

Bu çalışmada, serbest oksijen radikallerinin eliminasyonunda etkinliği bilinen ve anti-anjinal bir ilaç olan trimetazidin'in (TMZ), sıçanlarda etanolle geliştirilen mide mukozal lezyonlarına etkisi araştırılmıştır. Çalışmaya, ağırlıkları 210-240 g arasında 45 Wistar albino erkek sıçan alınarak, dokuzar hayvandan oluşan 5 gruba ayrılmıştır. Ön tedavi olarak, intra-peritoneal (ip) veya oro-gastrik (og) TMZ (5 mg/kg, 1 ml), veya serum fizyolojik (SF, 1 ml) uygulanmış; 1 ml og %98 etanol veya 1 ml og SF verilmesini izleyen birinci saatin sonunda sıçanların yaşamına servikal dislokasyonla son verilmiştir. Laparotomi ile çıkarılan midelerde, gelişen hemorajik lezyonlar değerlendirilmiştir. Hayvan gruplarına uygulanan tedavi şemaları şöyledir: Grup I: og SF+1 saat sonra og SF, Grup II: og SF + 1 saat sonra og etanol, Grup III: 12 saat ara ile iki kez ip SF + 12 saat sonra og etanol, Grup IV: og TMZ + 1 saat sonra og etanol, Grup V: 12 saat ara ile iki kez ip TMZ + 12 saat sonra og etanol. Og etanolle mide lezyonunu uyarılan sıçanlarda ortalama lezyon uzunluğu, og TMZ ön tedavisi alanlarda (9.9±2.3 mm), og SF ön tedavisi yapılanlara (48.8±10.9 mm) göre (p<0.05) anlamlı olarak daha az gözlenmiştir. Sonuç olarak, TMZ sıçanlarda, alkolle oluşturulan akut hemorajik mide lezyonlarını azaltmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Trimetazidin, Mide mukozal lezyonu

T Klin Gastroenterohepatoloji 1995,6:1-4

Non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar, etanol, termal etkenler, kanama gibi değişik faktörler insan ve deney

Geliş Tarihi: 24.01.1995

Yazışma Adresi: Dr. Mehmet İŞLER

161. Sok 4/12 Bornova - İZMİR

* Bu çalışma, XI. Ulusal Türk Gastroenteroloji Kongresi (6-9 Kasım, 1994, Antalya)'da sunulmuştur.

TKlin J Gastroenterohepatol 1995, 6

SUMMARY

In this study, the effect of trimetazidine (TMZ), an anti-anginal drug that acts as a scavenger of oxygen free radicals, on ethanol-induced gastric mucosal injury in rats was investigated. Five groups, 9 in each, of Wistar male rats (210-240 g) were studied. As a pretreatment, TMZ (5 mg/kg) or saline (1 ml) were given either intraperitoneally (ip) or orogastrically (og). One hour later of the administration of 1 ml 98% og ethanol or 1 ml og saline, the animals were sacrificed by cervical dislocation. The length of the hemorrhagic lesions in the gastric mucosa were measured. The groups of animals and treatment protocols are the followings: Group I: og saline followed by og saline 1 hour later; Group II: og saline + og ethanol, 1 hour later; Group III: ip saline in every 12 hour twice followed by og ethanol 12 hours later; Group IV: og TMZ + og ethanol 1 hour later; Group V: ip TMZ twice in a 12 hour interval, 12 hours later og ethanol. The mean total length of the ethanol induced hemorrhagic lesions in the animals pretreated with og saline (48.8±10.9 mm) was higher than that in the animals previously treated with og TMZ (9.9±2.3 mm), (p<0.01). Similarly, the lesion length was also higher in the animals receiving ip saline (40.8±6.8 mm) than that in the rats treated with ip TMZ (21.6±4.7 mm), (p<0.05). In conclusion, TMZ prevents ethanol-induced hemorrhagic lesions in the gastric mucosa in rats.

Key Words: Trimetazidine, Gastric mucosal injury

T Klin J Gastroenterohepatol 1995, 6:1-4

hayvanlarında mide lezyonlarına neden olmaktadır. Sıçanlarda konsantrasyon etanol solüsyonlarının mide mukozasına temasının, bir dakikadan daha kısa sürede bile yüzeysel epitel hücrelerinde çıplak gözle farkedilemeyen, yaygın yıkıma yol açtığı (1); mide mukozasının, etanolün %30'dan daha yoğun konsantrasyonları ile daha uzun süre karşılaşması ile gözle görülebilen, daha derin, nekrotik mukozal lezyonlarının gelişmesine neden olduğu gösterilmiştir (1-3). Mukozanın glandüler bölge-

lerinde yayılım gösteren bu erozyonlar, hemorajiktir ve insandaki alkole bağlı kanamaların analoğu kabul edilebilir. Etanole bağlı mide mukozası hasarlanmasında işleyen mekanizmaların ve bu sürece katılan maddelerin bilinmesi, "gastrik sitoproteksiyon"a yardım edecek bilgileri de sağlamaktadır. Robert ve ark (2) tarafından, asit sekresyonunu azaltmayan dozlarda ekzojen prostaglandinlerin, etanolün oluşturduğu gastrik hemorajik lezyonlarda koruyucu etkisinin gösterilmesinin ardından, prostaglandinlerin olumlu yöndeki etkilerine ilişkin sayısız bulgu elde edilmiştir. Etanolün, mide mukozasında lökotrienlerin salınımını uyardığına ilişkin elde edilen kanıtlar, etanole bağlı mide mukozası hasarında lökotrienlerin de suçlanmasına neden olmuştur (4). Pikomol dozlarında intravenöz platelet-aktivating faktör (PAF) infüzyonunun, sıçanlarda etanol instillasyonu ile oluşan mide lezyonunu şiddetlendirdiği gösterilmiştir (5). Endotelin infüzyonunun sıçanlarda etanole bağlı mide mukozası lezyonunu ağırlaştırıcı etki yaptığı saptanmıştır (6). Histamin gibi mediatörlerin de etanolün oluşturduğu mide lezyonuna katıldığını gösteren bulgular elde edilmiştir (7). Öte yandan, etanolün, kültüre edilmiş sıçan mide epitel hücreleri tarafından üretilen mide mukus glikoproteininin sentez ve sekresyonunu zayıflatmış, yapısını değiştirdiği gözlenmiştir (8).

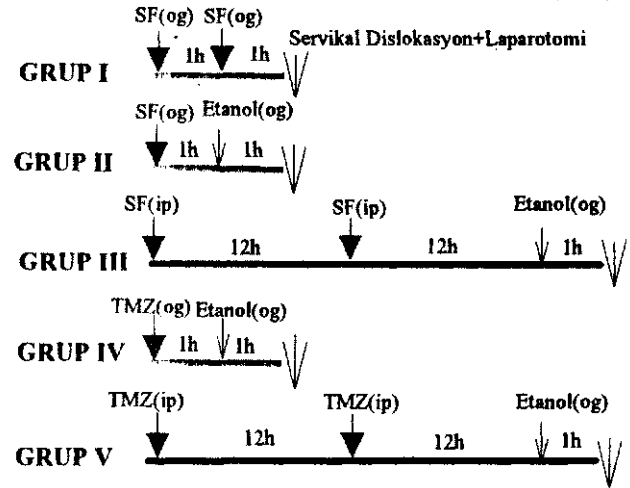
Bu değişik gözlemler yanında, son yıllarda, etanolün geliştirdiği mide mukozası lezyonlarının patogenezinde, serbest oksijen radikallerinin önemli katkısını ortaya koyan yoğun veriler elde edilmiştir (3,10-12). Bu çalışmada, serbest oksijen radikallerinin eliminasyonda yararlı etkileri bilinen bir ilaç olan trimetazidin'in (TMZ) (13-17) sıçanlarda etanolle geliştirilen mide mukozası lezyonlarına etkisini araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

HAYVANLAR: Çalışmada, ağırlıkları 210-240 g arasında 45 adet Wistar albino erkek sıçan kullanılmıştır. Hayvanlar, Ege Tıp Fakültesi Deney Hayvanları merkezinden temin edilmiştir. Her hayvan, su ve standard sıçan diyetine serbestçe ulaşabileceği düzeydeki kendi tel kafesinde tutulmuş ve kafes tabanındaki özel dilikli tel sistemi ile dışkılarını yemeleri engellenmiştir. Hayvanlar, deneyin başlamasından 24 saat önce aç bırakılmış ve 12 saat önce de su içmeleri durdurulmuştur.

İLAÇLAR: Trimetazidin (Trimetazidin dihidroklorür, Servier İlaç ve Araştırma AŞ, İstanbul), Etanol %98 (Tekel, İzmir).

DENEY: Hayvanlara oro-gastrik ilaç uygulaması, 16 no. pediatrik plastik sonda ile yapılmıştır. Bu işlem sırasında hayvanlar hafif eter anestezisi ile uyutulup, dilleri özel delikli tahta ile ekarte edilerek, og entübasyon yapılmış ve tüp su kabına tutularak akciğere yerleştirilmediğine emin olunarak, istenen ilaç verilmiştir. İlaç dozları ve uygulama yerleri şöyledir: intraperitoneal (ip) TMZ 5 mg/kg, 1 ml; oro-gastrik (og)



Şekil 1. Hayvan gruplarına uygulanan tedavi şemaları. SF: Serum fizyolojik, TMZ: Trimetazidin, og: orogastrik, ip: intraperitoneal, h: saat

TMZ 5 mg/kg, 1 ml; serum fizyolojik (SF) 1 ml; etanol %98 etanol, 1 ml.

Hayvanlar, 9'ar adetten oluşan 5 gruba ayrılmıştır. Bu gruplara şu tedavi şemaları uygulanmıştır: Grup I (Kontrol): og SF+ 1 saat sonra og SF, Grup II: og SF + 1 saat sonra og etanol, Grup III: 12 saat ara ile iki kez ip SF + 12 saat sonra og etanol, Grup IV: og TMZ + 1 saat sonra og etanol, Grup V: 12 saat ara ile iki kez ip TMZ + 12 saat sonra og etanol (Şekil 1). Son uygulanan ilaç (SF veya etanol)'den 1 saat sonra, servikal dislokasyonla yaşamlarına son verilen hayvanların mideleri çıkarılmış ve büyük kurvatur boyunca açılarak, meydana gelen hemorajik tipik lezyonlar makroskopik olarak değerlendirilmiştir.

İSTATİSTİK DEĞERLENDİRME: Veriler ortalama \pm SEM olarak sunulmuştur. Multipl parametrik verilerin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve ikili karşılaştırmalarda Student t testi kullanılmıştır. $p < 0.05$ önemlilik sınırı olarak alınmıştır.

BULGULAR

Kontrol grubuna göre, diğer grupların tümünde, anlamlı olarak daha fazla lezyon uzunluğu saptanmıştır. TMZ ötedavisi uygulanarak og etanol verilen sıçanlarda, SF ötedavisi uygulananlara göre önemli derecede daha az lezyon gözlenmiş; og TMZ ötedavisinin, ip uygulamadan daha etkin görüldüğü dikkati çekmiştir. Bulgular Tablo 1 ve Şekil 2'de sunulmuştur.

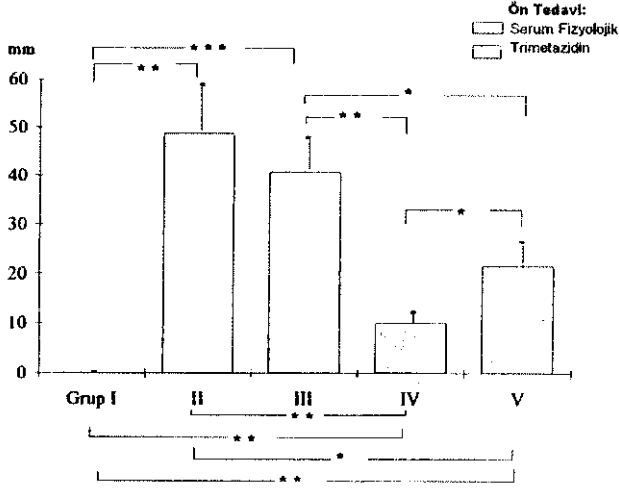
TARTIŞMA

Etanolün yaptığı mide mukozası lezyonlarında, başlangıçta vasküler endotelin ayrılarak, vasküler permeabilitenin arttığı ve sonra vasküler staz ile konjesyon geliştiği belirlenmiştir (18). Gözle değerlendirilen mide lezyonları, hem mukozada gerçek erozyonlar veya çatlaklar, hem de mukozal interstisyumda ekstravaze olmuş kanın göllenmesi ile oluşan renk değişikliği bölge-

Tablo 1. Kontrol ve diğer gruplarda saptanan ortalama mide mukoza lezyon uzunlukları (mm olarak)

Grup I (ogSF+SF)	Grup II (og SF+Etanol)	Grup III (ip SF+Etanol)	Grup IV (og TMZ+Etanol)	Grup V (ip TMZ+Etanol)
0.1 ±0.1	48.8±10.9*	40.8±6.8*	9.9±2.3****	21.6±4.7****

Veriler ortalama ±SEM olarak sunulmuştur. KISALTMALAR: SF: Serum fizyolojik, TMZ: Trimetazidin, og: orogastrik, ip: intraperitoneal. Grup I'e karşı * p<0.01, ° p<0.001; Grup II'ye karşı ° p<0.05, ° p<0.01, Grup III'e karşı, ° p<0.01, ° p<0.01, Grup IV'e karşı, ° p-0.046



Şekil 2. Beş hayvan grubunda mide mukoza lezyon uzunlukları. *p<0.05, **p<0.01, *** p<0.001

leridir (19,20). Mide lezyonları, genellikle lezyonların makroskopik olarak değerlendirilmesi ve/veya histolojik olarak ortaya konabilen hüresel bozukluklar ve nekrozun saptanması yoluyla tanımlanmıştır (20,21). Lezyonların makroskopik olarak değerlendirildiği bu preliminier çalışmada, TMZ ötedavisinin, alkolün oluşturduğu mide mukoza lezyonlarına karşı bir koruma sağladığı saptanmıştır.

TMZ, serbest oksijen radikallerinin eliminasyonunda etkinliği gösterilmiş bir ilaçtır. Serbest radikal gelişiminin etken olduğu düşünülen doksorubisin'in miyokard toksisitesine TMZ'in etkisini araştırdıkları çalışmada Perletti ve ark. (13), TMZ ile tedavi edilen sıçanlarda erken kardiyotoksik bulgularda önemli azalma gözlemişlerdir. Catroux ve ark. (14), sıçanda postiskemik akut renal yetersizlikte TMZ'in antilipoperoksidan etkisini açıkça göstermişlerdir. İskemi-reperfüzyona tabi tutulmuş izole kalp üzerine, elektronik paramanyetik rezonans spektroskopisi ile, lipid peroksitlere karşılık gelen sinyalin TMZ alan grupta 2/3 oranında düşük olduğu (15), bir başka çalışmada %20'lik bir azalmaya neden olduğu (16) bildirilmiştir. Öte yandan, terapötik dozda TMZ alan sağlıklı gönüllülerden toplanan eritrositlerde, süperoksid anyonları ve diğer serbest oksijen radikallerinin hücre membranına etkisinin hafiflediği, lipid peroksidasyon göstergelerinin azaldığı gözlenmiştir (17).

TMZ, mide lezyonlarında daha önce denenmemiş bir ilaçtır. Etanolla oluşturulan mide lezyonlarının patogenezinde serbest oksijen radikallerinin rolünü ortaya koyan çeşitli bulgular vardır ve saptadığımız etkinliğin bu mekanizma ile ilgili olması muhtemel görünmektedir. Mutlak alkolün intragastrik verilmesinden birkaç dakika sonra, mide mukoza lipid peroksid düzeyinin yükseldiği ve nonprotein sülfidril düzeylerinin düştüğü bildirilmiştir (9). Nonprotein sülfidril, çeşitli serbest radikalleri sülfidril grupları vasıtasıyla bağlama özelliğine sahiptir. Mide mukozası, endojen nonprotein sülfidrilin majör komponenti olan indirgenmiş glutatyonun en zengin kaynaklarından biri olduğu için (22), bu nonspesifik antioksidanların gastrik sitoproteksiyona katılabileceği öne sürülmüştür (3,10). Bu hipotezin deneysel gerçekleştirilmesinde çelişkiler olmuştur. Bazı araştırmacılar (3,10), mukoza glutatyon düzeylerini arttıran manevraların, absölu etanol ile geliştirilen mukoza lezyonlarına karşı koruma sağladığını bildirmişlerdir. Oysa tersine, başka araştırmacılar, glutatyon düzeylerindeki azalmanın, etanol ile gelişen mide lezyonlarındaki gastrik sitoproteksiyon ile ilişkili olduğunu iddia etmişlerdir (23).

Etanole bağlı mide lezyonlarında serbest oksijen radikallerinin katkısını gösteren başka çalışmalar da vardır. Sıçanlarda serbest oksijen radikallerini elimine eden enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD) ile ötedavi, intragastrik %96 - %100 etanol ile oluşturulan lezyonların yaygınlığında %70 azalmaya neden olmuştur (11,12). Dietilditiokarbamat ötedavisi ile mide mukozası SOD aktivitesinin azaltılmasıyla ise, lezyonların daha ağır geliştiği saptanmıştır (3).

Katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri, reaktif oksijen metaboliti **H₂O₂**'nin h⁺O⁻'ya dönüşümünü katalize eder. Bu her iki enzimle yapılan ötedavinin, sıçanlarda %96-%100 etanol ile oluşturulan mide lezyonlarına karşı koruma sağlamadığı bildirilmiştir (12,24). Bu bulgular, etanolün yaptığı mide lezyonlarında **H₂O₂**'nin rolünün pek olmadığı şeklinde yorumlanabileceği gibi; egzojen verilen katalaz ve glutatyon peroksidaz'ın, büyük molekül oldukları için intraselüler olarak oluşan **H₂O₂** üzerinde etki gösteremediklerini düşünmek de mümkündür. Bir diğer önemli serbest oksijen radikali OFT'in eliminasyonunu yapan madde olan dimetilsülfoksit (DMSO)'nun ise, absölu alkolün oluşturduğu mide mukoza harabiyetini gözlenmiştir (11).

Serbest oksijen radikallerinin değişik stres üseri modellerinin patogenezine katıldığını gösteren kanıtlar

da saptanmıştır. Siçanların, 3 saat süre ile 4 °C soğukta tutulması ile geliştirilen mide mukoza lezyonlarının, DMSO ötedavisi ile sayıca ve şiddetçe azaltıldığı gözlenmiştir (25). Aspirin ve indometazin ile geliştirilen mide lezyonlarının birer potent anti-oksidan olan vitamin A ve E ile azaltıldığı saptanmıştır (26). Acrylonitrile'in meydana getirdiği mide mukoza nekrozu, mukoza glutatyon düzeylerinde azalmaya neden olmaktadır ve bu haraplanmanın sülfidril içeren bileşiklerle azaltılabilirliği gösterilmiştir (27).

Sonuç olarak bu preliner çalışmada, TMZ'in siçanlarda etanol ile oluşturulan mide mukoza lezyonlarını azalttığı ilk kez ortaya konmuştur ve elde edilen bulgular, söz konusu ilacın klinikte sitoprotektif değerini olabileceğini düşündürmektedir.

TEŞEKKÜR

Değerli yardımlarından ötürü, laboratuvar teknisyeni Sn. İsmail Zonguldaklı'ya teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Lacy ER, Ilo S. Microscopic analysis of ethanol damage to rat gastric mucosa after treatment with a prostaglandin. *Gastroenterology* 1982; 83:619-25.
- Robert A, Nezamis JE, Lancaster C, Hancher AJ. Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and terminal injury. *Gastroenterology* 1979; 77:433-43.
- Szabo S, Trier JS, Frankel PW. Sulfhydryl compounds may mediate gastric cytoprotection. *Science* 1981; 214:200-2.
- Peskar BM, Lange K, Hoppe U, Peskar BA. Ethanol stimulates formation of leukotriene C₄ in rat gastric mucosa. *Prostaglandins* 1986; 31:283-93.
- Wallace JL, Whittle BJR. Picomole doses of platelet-activating factor predispose gastric mucosa to damage by topical irritants. *Prostaglandins* 1986; 31:989.
- Wallace JL, Cirino G, DeNucci G, Mcknight W, McNaughton WK. Endothelin has potent ulcerogenic and vasoconstrictor actions in the stomach. *Am J Physiol* 1989; 256:G661-6.
- Galli SJ, Wershil BK, Bose R, Walker PA, Szabo S. Ethanol-induced acute gastric injury in mast cell-deficient and congenic normal mice. *Am J Pathol* 1987; 128:131-40.
- Slomiany A, Takagi A, Slomiany BL. The synthesis and secretion of gastric mucus glycoprotein by mucosal cells cultured in the presence of ethanol. *Arch Biochem Biophys* 1985; 236:654-61.
- Mizui T, Doteuchi M. Lipid peroxidation: A possible role in gastric damage induced by ethanol in rats. *Life Sci* 1986; 38:2163-67.
- Szabo S, Trier JS. Pathogenesis of acute gastric mucosal injury: Sulfhydryls as a protector, adrenal cortex as a modulator and vascular endothelium as a target. In: *Mechanisms of Mucosal Protection in the Upper Gastrointestinal Tract*. Allen A, Flemstrom G, Garner A, et al (Eds). New York: Raven Press 1984:287.
- Terano A, Hiraishi H, Ota S, Shiga J, Sugimoto T. Role of oxygen-derived free radicals in ethanol-induced damage in the rat stomach. *Gastroenterology* 1986; 90:1661.
- Szetyenyi I, Vergin H, Schickaneder H. Gastric mucosal damage and oxygen-free radicals. *Gastroenterology* 1986; 90:1655.
- Perletti G, Monti E, Paracchini L, Piocinini F. Effect of trimetazidine on early and delayed doxorubicin myocardial toxicity. *Arch Intern Pharmacodyn Ther* 1989; 302:280-9.
- Catroux P, Cambar J, Benckekroun N, Robert J, Clauser P, Harpey C. Antilipoperoxidant effect of trimetazidine in post ischaemic acute renal failure in the rat. *Adv Exp Med Biol* 1990; 264:383-8.
- Charted V, Boucher F, Clauser P, Harpey C, Favier A, Koukay N, Mouhieddme S, de Leiris J. Effect of a 5 day trimetazidine pretreatment in a model of ischemic and reperfused isolated rat heart: spin trapping experiments. *Adv Exp Med Biol* 1990; 264:377-82.
- Mau poil V, Rochette L, Tabard A, Clauser P, Harpey C. Direct measurement of free radical generation in isolated rat heart by electron paramagnetic resonance spectroscopy: effect of trimetazidine. *Adv Exp Med Biol* 1990; 264:273-6.
- Markionneau-Parini I, Harpey C. Trimetazidine protects the human red blood cell against oxygen free radical damage. *Cardiovasc Drugs Ther* 1990; 4:818-9.
- Smith SM, Kvietys PR. Gastric ulcers. Role of oxygen radicals. *Crit Care Med* 1988; 16:892-98.
- Itoh M, Guth PH. Role of oxygen derived free radicals in hemorrhagic shock-induced gastric lesions in the rat. *Gastroenterology* 1985; 88:1162-67.
- Smith SM, Grisham MB, Mancini EA, Granger DN, Kvietys PR, Russel JM. Gastric mucosal injury in the rat. Role of iron and xanthine oxidase. *Gastroenterology* 1987; 92:950-6.
- Itoh M, Paulsen G, Guth PH. Hemorrhagic shock and acid gastric injury in the rat. Comparison of gross and histologic findings. *Gastroenterology* 1986; 90:1103-10.
- Body SC, Sasame HA, Body MR. High concentrations of glutathione in glandular stomach: Possible implications for carcinogenesis. *Science* 1979; 205:1010-12.
- Robert A, Eberle D, Kaplowitz N. Role of glutathione in gastric mucosal cytoprotection. *Am J Physiol* 1984; 247:296-304.
- Evangelista S, Meli A. Influence of antioxidants and radical scavengers on ethanol-induced gastric ulcers in the rat. *Gen Pharmacol* 1985; 16:285-6.
- Cochran T, Stefanko J, Moore C, Saik R. Dimethylsulfoxide protection against gastric stress ulceration. *Curr Surg* 1983; 40:435-7.
- Javor T, Tarnok F, Past T, Nagy S. Cytoprotective effect of free radical scavengers against mucosal damage produced by different antirheumatic drugs. *Int J Tissue React* 1986; 8:35-40.
- Ghanayem BI, Boor PJ, Ahmed AE. Acrylonitrile-induced gastric mucosal necrosis. Role of gastric glutathione. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 232:570-7.