

Sıçanlarda etanol ve stresle oluşturulan gastrik mukozal tahribatın E-vitamini ile değişimi

Change of ethanol and stress induced gastric mucosal damage with vitamin-E in rats

Dr. Abdurrahman KAPLAN, Dr. Sabri BATUN, Dr. Orhan YAZANEL, Dr. Levent ERDİNÇ, Dr. Fikri CANORUÇ

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya, İç Hastalıkları ve Gastroenteroloji Anabilim Dalı, Diyarbakır

ÖZET: Çeşitli doku hasarından sorumlu olan serbest oksijen radikalleri ve bu radikallerin elimine edilmesinde kullanılan antioksidan maddelerden E vitamininin etkileri bu deneysel çalışmada incelenmiştir. Toplam 34 sıçan 4 gruba ayrılarak (kontrol grubu, stres grubu, stres+Etanol grubu ve stres+Etanol+E vitamini grubu) mide dokularında serbest oksijen radikallerinin bir metaboliti olan Malondialdehit (MDA) düzeyleri "thiobarbitürik asit metodu" ile ölçüldü. MDA düzeyleri stres ve stres+etanol gruplarında kontrol grubuna göre yüksek bulundu ($p<0.01$). E vitamini verilen stres+Etanol grubunda ise, MDA düzeyleri kontrol düzeylerine yakın bulundu ($p>0.05$). Sonuç olarak E vitamini lipid peroksidasyonunu azalttığı, dolayısı ile mukozal tahribata engel olduğu görüldü.

Anahtar kelimeler: Mide mukozası, malondialdehit, E vitamini, stres

SUMMARY: In this experimental study, free oxygen radicals responsible for various tissue damages and the effects of vitamin E, used to eliminate these radicals, were investigated. A total of 34 rats was divided into four groups (control group, stress-induced group, stress+ethanol-induced group and stress+ethanol+vitamin E induced group), and levels of malondialdehyde (MDA), which is a metabolite of free oxygen radicals in stomach tissues, were measured. MDA levels were found to be higher in stress and stress+ethanol groups in respect with control group ($p<0.01$). MDA levels in vitamin E induced stress+ethanol group were found close to those in control group ($p>0.05$). As a result, it was seen that vitamin E reduced lipid peroxidation, and thus preventing mucosal damage.

Key words: Stomach mucosa, malondialdehyde, vitamin E, stress

ORGANİZMADA oluşan serbest oksijen radikallerinin ince barsak, mide, kalp, böbrek, karaciğer ve beyinde doku hasarı oluşturdukları son yıllarda bu konu üzerinde yapılan yoğun çalışmalarda görülmüştür (1-3). Serbest radikallerinin büyük çoğunluğu oksijen ile ilgili süperoksit radikali (O_2^-), hidroksil radikali (OH^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi radikallerdir (4,5). Söz konusu radikaller hücre membranında protein ve fosfolipid yapılarını bozarak permeabilityyi büyük ölçüde değiştirirler. Bu zararlı radikaller süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimler ile, vitamin C, vitamin E, beta-karoten, ürik asit, ubiquinon gibi antioksidan bileşikler tarafından oluşumları engellenmekte ve etkisiz hale getirilmektedir (6). Çeşitli yollarla oluşturulan stresin ve alkolün insanlarda ve deney hayvanlarında akut eroziv gastritlerin oluşumunda rol aldığı ve irritatif etki yaptığı, gastrik mukozada erozyona kadar varan lezyonlar oluşturduğu yapılan çeşitli araştırmalardan anlaşılmıştır (7,8).

Bu çalışmamızda stres ve etanol ile oluşturulan

gastrik mukozal tahribatın bir göstergesi olan doku malondialdehid (MDA) düzeyinin antioksidan özelliğe sahip E vitamini ile değişimini incelemeyi amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Dicle Üniversitesi Sağlık Araştırma Merkezi (DÜSAM) Biyokimya laboratuvarında yapılan bu deneysel çalışmamızda ortalama ağırlıkları 275 ± 50 gram olan 34 erkek Sprague-Dawley erişkin beyaz sıçan kullanıldı. Sıçanlar 4 gruba ayrılarak şu işlemler yapıldı.

I) Kontrol grubu: 8 sıçandan oluşan bu gruba hiçbir girişim yapılmaksızın normal diyetlerine devam edildi ve eter anestezisi altında laparotomi yapıldı.

II) Stres grubu: 8 sıçandan oluşan bu grup ise, Brodie'nin (9) önerdiği biçimde T şeklindeki çubuklara ön ve arka ayakları flaster ile tesbit edilerek 24 saat süre ile aç bırakıldılar. Eter altında laparotomi yapıldı.

III) Stres+Etanol grubu: 8 sıçandan oluşan bu gruba stres grubuna ilave olarak 24 saatlik açlıktan sonra 1,5 ml. %96'lık etanol ağızdan verilerek

Tablo 1. Deney gruplarının MDA düzeyleri

	Malondialdehid (nmol/g)
Kontrol (n= 8)	33,8 ± 2,7
Stres grubu (n= 8)	58,4 ± 6,1*
Stres + Etanol grubu (n= 8)	64,8 ± 4,3*
Stres + Etanol + E-Vit, Grubu (n= 10)	40,5 ± 3,2**

*p<0.01 (Kontrol grubu ile karşılaştırıldı) Student's t testi.

**p>0.05 (Kontrol grubu ile karşılaştırıldı) Student's t testi.

1 saat sonra eter anestezisi altında laparotomi yapıldı.

IV) Stres+Etanol+E Vitamini grubu: Bu grupta yer alan 10 sıçana 3 gün süre ile 25 ünite E vitamini verildikten sonra 24 saat aç bırakılıp %96'lık etanolden 1,5 ml. verildikten 1 saat sonra eter anestezisi altında laparotomi yapıldı. Laparotomi ile çıkarılan midelerden 0,5 gramlık kısım cam şişelere konularak derin dondurucuda -40°C'de saklandı.

Malondialdehid (MDA) tayini (Tiyobarbitürik asit metodu): MDA tayini için 0,5 gramlık mide örnekleri plastik tüplere konularak buz içine konuldu ve üzerine 0,5 ml. %10'luk trikloroasetik asit+4 ml. %5'lik trikloroasetik asit ilave edildikten sonra homojenizatörde 20.000 devirde homojenize edildi. Daha sonra 4.000 devirde 15 dakika süre ile santrifüj edilerek süpernatant'dan 1 ml. alınarak üzerine %0,67'lik tiyobarbitürik asit (Sigma T.5500) eklenerek 100°C'de 10 dakika süreyle ısıtıldı. Karışım soğutulurak 532 nm'de spektrofotometrede (Shimadzu UV-1201) absorbans değeri okundu. Aşağıdaki formüle uygulanarak mol/L cinsinden bulunan konsantrasyon değeri 1 gramlık mide dokusuna düşen nmol olarak hesaplandı(10,11).

C= Konsantrasyon (mol/L)

C= A/E A= Absorbans (nanometre)

E= 1,56.10⁵

BULGULAR

Malondialdehid (MDA) düzeyi kontrol grubunda 33,8±2,7nmol/g, stresle gastrik mukozal harabiyet oluşturulan 2. grupta 58,4±6,1 nmol/g (p<0.01), stres+etanol grubunda (3. grup) 64,8±4,3 nmol/g (p<0.01) ve E vitamini verilen stres+etanol gru-

bunda (4. grup) ise 40,5±3,2 nmol/g (p>0.05) olarak bulundu (Tablo 1).

TARTIŞMA

Serbest radikaller canlı organizmada birçok biyokimyasal yapıya zarar verebilir. Özellikle lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi hücrenin önemli yapılarının hasarında rol oynarlar (12-15).

Serbest oksijen radikallerinin bir göstergesi olan malondialdehid'in (MDA) kalp, akciğer, beyin, karaciğer, böbrek, ince barsak ve mide gibi doku hasarlarında doku ve plazma düzeylerinin arttığı ve iskemik doku hasarının derecesini göstermesi açısından çok önemli bir parametre olduğu görülmüştür (16,17). Serbest oksijen radikallerinin epitel bazal membranın önemli bir bileşeni olan hiyalüronik asidin yıkımına yol açarak mukozal zedelenmeye neden olduğu bildirilmiştir (18). İnsan mide mukozasında bulunan alkol dehidrojenaz enzimi ile alkol asetaldehide okside olur ve bu sırada oksiradikaller ortaya çıkar. Bu oksijen radikali daha sonra süperoksit dismutaz aracılığı ile hidrojen perokside, o da katalaz enzimi sayesinde su ve moleküler oksijene dönüşür (19). Guth ve arkadaşlarının (19) yaptıkları çalışmada etanol ile mide mukozal kan akımının azaldığı ve bu durumun tahribata yol açtığı bildirilmiştir.

Serbest oksijen radikal gidericilerinin ve vitamin-C, vitamin-E, beta-karoten, ürik asit gibi antioksidan maddelerin radikal oluşumunu azalttığı bilinmektedir. Fukuzawa ve arkadaşlarının (20) yaptıkları çalışmada membran yapısında yer alan E vitamini, doymamış yağ asitlerini lipid peroksidasyonundan korumakta ve zincir kırıcı bir antioksidan olarak tanımlanmaktadır.

Biz çalışmamızda stres ve stres+etanol ile oluşturulan mide mukoza erozyonlarının bir göstergesi kabul edilen MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli derecede arttığı (p<0.01) E vitamini verilen grupta ise bir düşme kaydedildiğini ve hatta kontrol grubu değerlerine yaklaştığını gördük(kontrol: 33,8±2,7 nmol/g stres+etanol+ vitamin-E: 40,5±3,2 nmol/g). Değerlerimiz bu konuda yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir (10,12,16,17,19).

Sonuç olarak E vitamininin lipid peroksidasyon oluşumunu antioksidan etkisi sayesinde azalttığı ve mukozal erozyonlardan koruyucu bir faktör olduğunu söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Comparti M. Biology of disease: Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Lab Invest*, 1985; 53: 599-623.
2. Bulkley GB. The role of oxygen free radical in human disease processes. *Surgery*, 1983; 94: 470-471.
3. Dormandy TL. An approach to free radicalc. *Lanset* 1983; 29: 1010-1014.
4. Silen W, Merhav A, Simson JNL. The pathophysiology of stress ulcer disease. *World Journal of Surgery* 1981; 5: 165.
5. McCord JM. The superoxide free radical: Its biochemistry and pathophysiology. *Surgery* 1983; 94: 412-414.
6. Robert EP, Kelvin JA. Protein, lipid and DNA repair systems in oxidative stress: The Free-radical Theory of Aging Revisited. *Gerontology*, 1991; 37: 166-180.
7. Salim AS. Removing oxygen derived free radicals stimulates healing of ethanol induced erosive gastritis in the rat. *Digestion* 1990; 47: 24-28.
8. Knight JA, Voorhees RP. Lipid peroxidation in stored red cells. *Tranfusion* 1992; 32: 354-357.
9. Brodie OA, Hanson HM. A study of the factor involved in the production of gastric ulcers by restraint technique. *Gastroenterology* 1960; 38: 353.
10. Gürsoy MA, Kayabalı M, Hazar H, Kotiloğlu E. Sıçanlarda oluşturulan stres ülserlerinde serbest radikallerin ve radikal temizleyicilerin rolü. *Ulusal Cerrahi Dergisi* 1992; 8 (1): 22-28.
11. Steven HY, Joseph A. Lipoperoxides in plasma as measured by liquid-chromatographic separation of Malondialdehyde-Thiobarbituric Acid Adduct. *Clin Chem* 1987; 33(2): 214-220.
12. Mutoh H, Hiraishi H, Ota S, et al. Protective rol of intracellular glutathione aganist ethanol-induced damage in cultured rat gastric mucosal cells. *Gastroenterology* 1990; 98: 1452-1459.
13. Videla LA, Valenzuela A. Alcohol ingestion, liver glutathione and lipid peroxidation: Metabolic interrelations and pathological implications. *Life Sci* 1982; 31: 2395-2398.
14. Fridouich I. The Biology of Oxygen Radicals. *Science* 1978; 875-877.
15. Sies H. Oxidative Stress: From basic research to clinical application. *Am J Med* 1991; 91: 315-385.
16. Parks DA, Bulkley GB, Granger DN. Role of Oxygen free radicals in shock, ischemia and organ preservation. *Surgery* 1983; 94: 428-32.
17. Granger DN, Rutili G, McCord JM. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology* 1981; 81: 22-29.
18. McCord JM. Free radicals and inflammation: Protective of synovial fluid by superoxide dismutase. *Science* 1974; 185: 529-531.
19. Guth PH, Paulsen G, Nagata H. Histologic and microcirculatory changes in alcohol-induced gastric lesions in the rat: Effect of prostaglandin cytoprotection. *Gastroenterology* 1984; 87: 1083-89.
20. Fukuzawa K, Chida H, Takumara A, Tsukatani H. Antioxidative effect tocopherol incorporation into lesithin liposomes on ascorbic acid -Fe⁺² induced lipid peroxidation. *Arch Biochem* 1981; 206(1): 173.