

Stres uygulanan ratlarda eksojen glutatyon uygulamasının mide mukozal bariyeri üzerindeki etkileri

The effect of exogen glutathione administration on the gastric mucosal barrier in rats under stress

Dr. Zeki KANAY¹, Dr. Cemil SERT², Dr. Birgül IŞIK³, Dr. Doğan KURT¹, Dr. Cihat GÜZEL⁴, Dr. Nuriye METE³

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı¹, Biyofizik Ana Bilim Dalı², Biyokimya Ana Bilim Dalı³, Fizyoloji Ana Bilim Dalı⁴, Diyarbakır

ÖZET: Glutatyonun (GSH), soğuk +immobilizasyon uygulanmış sıçanlarda mide mukozal bariyeri üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada 21 adet 150-200 g ağırlığında Swiss Albino sıçan kullanıldı. Deney grubuna 300 mg/kg GSH, kontrol grubuna ise serum fizyolojik oral yolla verildi. Daha sonra mide mukozal bariyeri komponentlerinden olan müküs ve fosfolipid miktarları Corne ve Baur metodu ile saptandı. Stres uygulanan ratlarda mide mukozal bariyerinin önemli komponentlerinden olan müküs ve fosfolipid düzeyleri önemli bir şekilde azaldı ($p<0.05$). Glutatyon uygulanan sıçanlarda müküs ve fosfolipid miktarlarının kontrol grubuna göre artmış olduğu tespit edildi ($p<0.01$, $p<0.05$).

Bulgularımıza göre stresin mide mukozal bariyeri üzerinde meydana getirdiği hasarı önlemede redükte GSH etkin olduğunu göstermektedir.

Anahtar sözcükler: Stres, mide mukozal bariyeri, glutatyon

SUMMARY: We investigated the effect of glutathione (GSH) on the gastric mucosal barrier of rats under stress. Twenty two swiss Albino rats weighing between 150-200 g were used and stress was induced by cold and immobilisation. GSH was administered in 300 mg/kg doses to the study group and oral saline was given to a control group. Mucus and phospholipid levels of the gastric mucosal barrier were then measured using corne and Baur's methods. These important components of the gastric mucosal barrier were found to be decreased ($p<0.05$), but levels were higher in rats given GSH than in the control group ($p<0.01$, $p<0.05$ respectively). To conclude, GSH was found to be effective in preventing gastric mucosal barrier damage caused by stress.

Key words: Stress, gastric mucosal barrier, glutathione

Soğuk + immobilizasyon stresinin rat mide mukozasında neden olduğu ülserasyonda birçok patolojik faktör rol oynamaktadır. Bu faktörler arasında gastrik asit sekresyonunda artma, gastrik mukozal prostaglandin sentezinin inhibisyonu, gastrik mukozal kan akımının azalması ve gastrik mukozal bariyerin bozulması sayılmaktadır. (1,2). Serbest oksijen radikallerinin stresin neden olduğu gastrik mukozal hasarın patogene-sisinde rol oynadıkları bilinmektedir (2). Prostaglandinler mide mukozasında kan akımını, müküs ve fosfolipid yapımını, bikarbonat sekresyonunu artırarak mide mukozal bariyerin korunmasını sağlamaktadır (3). Bir nonprotein sulfhidril bileşik olan glutatyon (özelikle redükte glutatyon) yüksek konsatrasyonda ratların, köpeklerin ve insanların gastrik mukozasında

mevcuttur (4). Mide mukozasında bulunan endo-gen glutatyonun mukoza hasarı sonucunda oluşan serbest oksijen radikallerini temizleyerek hücre membranlarının bütünlüğünün devam ettirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (5). Szabo ve arkadaşları yaptıkları çalışmada redükte glutatyonun (GSH) mide mukozal bariyerin korunmasında önemli rol oynayan prostoglandinlerin yapımında bir mediatör olarak görev yaptığını saptamışlardır (6). Redükte glutatyon gibi sulfhidril bileşikler, mide mukoza kapillerlerinde vazoprotektif etki göstererek kan akımının azalmasını engellerler (7).

Bu araştırmanın amacı, bir antioksidan olan redükte glutatyonun (GSH) strese karşı mide mukozal bariyerinin önemli komponentlerinden olan müküs ve fosfolipid düzeyleri üzerindeki etkisini araştırmaktır.

Tablo 1. Soğuk + hareketsizlik stresi uygulanan ratlarda eksojen glutatyonun mide mukozal bariyer komponentlerine etkisi (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.05) kontrol grubu ile farklılık göstermektedir.

Gruplar	n	Fosfolipid (mg / g yaş doku)	Mukus (µg / g yaş doku)
Sham Grubu (stres uygulanmayan)	7	6.46 ± 2.50	162.42 ± 23.77
Kontrol Grubu (stres uygulanan)	7	2.18 ± 0.49*	71.14 (13.06*
Deney Grubu (stres +GSH)	7	3.92 ± 0.95**	105 ±19.61***

MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada 150-200 gram ağırlığında 21 adet erkek Swiss Albino rat kullanıldı. Birinci grup olan SHAM operasyon grubuna (n: 7) herhangi bir işlem uygulanmadı. İkinci grup (n: 7) olan deney grubuna 7 gün boyunca 300 mg/kg dozda GSH [Glutathione (-Glu-Cys-Gly; GSH) Reduced Form. Sigma Cor. Ltd.] oral yolla verildi. Üçüncü grup (n: 7) olan kontrol grubuna ise 7 gün süre ile eşdeğer hacimde serum fizyolojik verildi. Yedi günün sonunda her üç gruptaki ratlar, 24 saat aç bırakıldılar. 2. ve 3. gruptaki ratlara 4 °C'de 3 saat süresince soğuk + hareketsizlik stresi uygulandı. Daha sonra bütün hayvanlar hafif eter anestezisi ile uyutuldu. Abdomen median hat boyunca açılıp mideleri alındı. Alınan mideler, iki parçaya ayrılıp midelerin bir yarısında Corne ve arkadaşlarının (8) metoduna göre müküs miktarı saptandı. Midelerin diğer yarılarında ise Baur ve arkadaşlarının (9) metoduna göre fosfolipid miktarları ölçüldü.

Bulguların değerlendirilmesinde Mann Whitney U testi kullanıldı.

BULGULAR

SHAM operasyon grubunda müküs miktarı 162.42 ± 23.77, fosfolipid miktarı ise 6.46 ± 2.50 olarak saptandı. Stres uygulanan grupta ise müküs miktarı 71.14 ± 13.06, fosfolipid miktarı ise 2.18 ± 0.49 olarak ölçüldü soğuk + hareketsizlik stresinin mide mukozal bariyerinin önemli komponentlerinden olan müküs ve fosfolipid düzeylerini azalttığı gözlemlendi (p<0.05) (Tablo 1). GSH uygulanan grupta fosfolipid miktarını 3.92 ± 0.95 müküs miktarını ise 105 ± 19.61 olarak ölçtük (sırasıyla; p<0.05, p<0.01) (Tablo 1).

Sonuç olarak uygulanan GSH'ın soğuk + hareketsizlik stresinin sebep olduğu müküs ve fosfolipid

düzeylerindeki azalmayı engellediğini söyleyebiliriz.

TARTIŞMA

Çalışmamızın sonuçlarına göre mide mukozal bariyerinin önemli komponentlerinden olan müküs ve fosfolipid düzeylerinde soğuk + hareketsizlik stresinin neden olduğu azalmayı GSH (redükte glutatyon) önemli oranda engelledi. Yapılan çalışmalarda glutatyonun redükte formunun GSH midede yüksek konsantrasyonda bulunduğu gösterilmiştir (4). Zararlı ajanların neden olduğu gastrik mukozal hasarda ortaya çıkan serbest oksijen radikallerini temizleyerek gastrik mukozal bütünlüğün devam ettirilmesinde önemli rol oynar (5, 10). Szelenyi ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, GSH'ın etanolun sebep olduğu hasarda mide mukozal kapillerlerinde vasoprotektif etki gösterek kan akımının azalmasını engellediğini gözlemişlerdir (7). Masahiko ve arkadaşlarının yaptıkları araştırmada glutatyonun stresin neden olduğu gastrik mukozal lezyonları önlediğini saptamışlardır (11). Yapılan çalışmalarda glutatyonun, prostoglandinlerin yapımını stimüle ederek onların mide mukozal bariyeri üzerindeki koruyucu etkilerine aracılık ettiğini tespit etmişlerdir (6,12,13). Redükte glutatyon gibi sülfhidril bileşiklerin müküs sub-üniteleri arasındaki bağların güçlenmesini sağlayarak müküsü endojen ve eksojen zararlı ajanlara karşı koruduğu bildirilmiştir (14).

Prostaglandinler, mide mukozal bariyerin önemli komponentlerinden olan müküs ve fosfolipid yapımını artırır (3). Glutatyonun, prostoglandinlerin yapımı ve gastrik mukozal bariyer üzerindeki sitoprotektif etkileri dikkate alındığında glutatyonun prostoglandinler yoluyla müküs ve fosfolipid yapımını artırdığı kanısındayız. Ayrıca glu-

tasyon direkt olarakta müküsün zararlı ajanlara karşı güçlenmesini sağlamaktadır.

Sonuç olarak eksojen olarak uygulanan redükte

glutatyonun strese karşı mide mukozal bariyerin önemli komponentleri olan müküs ve fosfolipid düzeylerini koruduğunu söyleyebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Aase S. Disturbances in the balance between aggressive and protective factors in the gastric and duodenal mucosa. *Scand J Gastroenterol* 1985; 24: 17-23.
2. Schoen RT, Vender RJ. Mechanisms of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric damage. *Am J Med* 1989; 86: 449-58.
3. Kaufman LG, Seibach HJ. Gastric bicarbonate secretion: Effects of pH and topical 16-16 Dimethyl prostaglandin E2. *Surgery* 1984; 89: 324-8.
4. Treir JS, Szabo S, Allan CH. Ethanol induced damage to mucosal capillaries of rat stomach: Ultrastructural features and effects of PGF₂ and cysteamine. *Gastroenterology* 1987; 92: 13-22.
5. Ross D. Glutathione, free radicals and chemotherapeutic agents; Pendent protection. *Pharmacol Ther* 1988; 37: 231-49.
6. Szabo S, Trier JS, Frankel PW. Sulfhydryl compounds may mediate gastric cytoprotection. *Science* 1981; 214: 200-2.
7. Szelenyi I, Bruno K. Possible role of sulfhydryls in mucosal protection induced by aluminum hydroxide. *Dig Dis Sci* 1986; 31: 1207-10.
8. Corne SJ, Morrissey SM, Woods RJ. A method for quantitative estimation of gastric barrier mucus. *J Physiol* 1974; 242: 1169-79.
9. Baur JD, Ackerman PG. Phospholipids clinical laboratory methods. C.O. Mosby St Louis 1974; 450-1.
10. Robert A, Eberle D Carp. Role of glutathione in gastric mucosal cytoprotection. *Am J Physiol* 1984; 247: G296-304.
11. Masahiko H, Masayasu I, Yukio A, et al. Inhibition of stress-induced gastric injury in the rat by glutathione. *Gastroenterology* 1989; 97: 853-9.
12. Smith WL, WEM.-Lands. Oxygenation of polyunsaturated fatty acids during prostaglandin biosynthesis by sheep vesicular gland. *Biochemistry* 1972; 11: 3276-85.
13. Victor BE, Schmidt KL, Smith GS, et al. Prostaglandin induced gastric mucosal protection against stress injury. Absence at a relationship to tissue glutathione levels. *Ann Surg* 1989; 209: 289-96.
14. Allen A. Structure of gastrointestinal mucus glycoproteins and the viscous and gel-forming properties of mucus. *Br Med Bull* 1978; 34: 28-33.