

Sıçanlarda strese bağlı gastrik mukozal hasarda intraperitoneal olarak uygulanan vazopressinin etkisi

The effect of intraperitoneally applied vasopressine on stress-induced gastric mucosal lesions in rats

Dr. Naciye İşbil BÜYÜKCOŞKUN¹, Dr. Kasım ÖZLÜK¹

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Bursa

ÖZET: Sıçanlarda soğuk-kısıtlama stresi nedeniyle gastrik mukozal hasar oluşumunda arginin vazopressin (AVP)'in periferik etkisi araştırıldı. AVP ve vazopressinin V1 reseptör antagonisti, intraperitoneal (i.p.) yolla enjekte edilerek sıçanlara 5 saat soğuk-kısıtlama stresi uygulandı. Stresten çıkarılan sıçanlar dekapite edilerek mideleri incelendi ve oluşan gastrik mukozal hasarlar ülser skorları şeklinde değerlendirildi. Eksojen AVP i.p. olarak uygulandığında gastrik mukozal hasarın azaldığı gözlemlendi. Aynı yolla uygulanan V1 antagonistinin ise gastrik mukozal hasarı önlemediği gözlemlendi. Bir grup sıçanda ise, uyguladığımız stres modelinin plazma AVP konsantrasyonunu ne şekilde değiştirdiği araştırıldı. Stres modelimizin plazma AVP düzeyini arttırdığı gözlemlendi. Bulgularımız eksojen AVP'in gastrik mukozal hasar oluşumunu azalttığını göstermektedir.

Anahtar sözcükler: Vazopressin, soğuk-kısıtlama stresi, gastrik mukozal hasar, vazopressin V1 antagonisti

SUMMARY: This study examined the influence of arginine vasopressin (AVP) on gastric mucosal lesions arising in rats exposed to restraint-cold stress. AVP and vasopressin V1 receptor antagonist were injected intraperitoneally (i.p.) and rats were exposed to restraint-cold stress for five hours. Rats saved from stress were decapitated and their stomachs examined. Gastric mucosal lesions which occurred due to stress were considered as ulcer scores. It was observed that gastric mucosal lesions were reduced when i.p. exogenous AVP was administered but, V1 antagonist administered in the same way did not prevent gastric mucosal damage. In another group of rats, we examined the extent to which our stress model changed plasma AVP concentrations and found that it increased these levels. Our findings indicate that exogen AVP reduces gastric mucosal lesions.

Key words: Vasopressin, restraint-cold stress, gastric mucosal lesion, vasopressin V1 receptor antagonist

Stres hipotalamik-hipofizer-adrenal zinciri aktive eden kompleks bir olaydır. Strese karşı oluşturulan fizyolojik cevap, hipotalamik-hipofizer-adrenal halkanın aktivitesinde artış ve gastrointestinal fonksiyonlarda değişiklikleri içermektedir (1). Strese bağlı gastrik mukozal hasarların patogenezi hakkında çok az bilgi vardır. Fokal iskemi (2), HCI fazlalığı (3), hidrojen iyonlarının gastrik mukozaya bariyerinden geriye difüzyonu (4), gastrik mukus üretimindeki değişiklikler (5) gibi çeşitli faktörlerin patogeneizde rol oynadığı ileri sürülmektedir.

Yapılan çalışmalar arginin vazopressin (AVP)'in elektriksel stimülasyon, kısıtlama, immobilizasyon ve eter solunması gibi çeşitli stres şartları altında stimüle edildiğini göstermektedir (6, 7). AVP'in kortikotropin serbestleştirici faktör (CRF)-41 ile sinerjik olduğu gösterilmiştir. Antiserum ya da AVP antagonistlerinin derialtı enjeksiyonları

bazı stres yaratan stimuluslara ACTH cevabını güçlü bir şekilde zayıflatmaktadır (8). Önemli miktarda AVP mide mukozasında bulunmaktadır (9). Periferik olarak uygulanan AVP'in, gastrik asit sekresyonunu inhibe ettiği (10) ve bu etkisini vazopressin V1 reseptörleri yoluyla oluşturduğu ileri sürülmektedir (11). Bu bulgular AVP'in önemli bir stres hormonu olduğunu ve stresle oluşturulan fizyolojik değişikliklerin bir kısmına neden olabileceğini göstermektedir.

Daha önce yapılan çok sayıda çalışma, birçok stres oluşturan şartlarda endokrin, immün, gastrointestinal, kardiyovasküler ya da sinir sisteminde meydana gelen çeşitli değişikliklerde hipotalamik-hipofizer-adrenal halka ya da otonom sinir sisteminin aktivitesinin artmasının rolünü belirlemiştir. Bu değişikliklerin ortasında AVP ile sağlanan etki yer almaktadır (7, 12, 15).

Çalışmamızda stres nedenli gastrik mukozal hasar oluşumunda AVP'in rolünü açıklayabilmek amacıyla eksojen AVP ve vazopressin V1 reseptör antagonisinin etkisinin araştırılması amaçlandı.

Tablo 1. Stres uygulanmayan ve soğuk-immobilizasyon stresi uygulanan sıçanların plazma AVP düzeyleri

Gruplar	n	AVP (pg/mL)
Stres uygulanmayan grup	5	3.8±1.3
Stres uygulanan grup	5	42.6±1.7*

* : İki grup arasındaki farklılık (P<0.001)

AVP : arginin vazopressin

MATERYAL VE METOD

Çalışmada 300-350 gr ağırlığında 59 adet dişi Sprague Dawley türü sıçan kullanıldı. Hayvanlar U.Ü. Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nden sağlandı. Su ve normal sıçan diyeti ile beslenen sıçanlar, deneylere başlamadan önceki 24 saat süresince aç bırakıldı.

Stres nedenli gastrik mukozal hasarlarda eksojen AVP'nin periferik etkisini araştırmak amacıyla AVP 150, 180 ve 200 ng/kg dozlarda i.p. olarak enjekte edildi (n=21). Endojen AVP'in etkisini araştırmak amacıyla vazopressinin V1 antagonisti (B-mercapto B, B-cyclopentamethylene-propionyl, O-Me-Tyr, Arg)-vasopressin 0.05, 0.1 ve 0.15 mg/kg dozlarda aynı yolla enjekte edildi (n=21). İnjesiyonlar belirtilen dozlarda 1ml/kg serum fizyolojik içinde uygulandı. Kontrol grubuna 1ml/kg serum fizyolojik enjekte edildi (n=7). İnjesiyonlardan 5 dakika sonra sıçanlar soğuk-kısıtlama stresine konuldular.

Soğuk-kısıtlama stresi uygulamak için sıçanlar, hareket etmelerini önleyecek şekilde büyüklüklerine göre hazırlanmış tel kafesler içinde 7-9°C soğuk odada 5 saat bekletildiler. Daha sonra sıçanlar dekapite edilerek mideleri çıkarıldı ve curvatura major boyunca açılarak mide-mukozası pıhtıdan temizlendi, sonra gastrik mukozal hasar derecelerini tespit etmek için ülserler skorlandırıldı.

0: patoloji yok,

1: mukozada ödem ve peteşi,

2: sayısı 1-5 arası küçük ülserler (1-2 mm),

3: sayısı 5'den fazla küçük ülser veya bir orta boy ülser (3-4 mm),

4: iki veya daha fazla sayıda orta boy veya geniş ülser (4 mm'den büyük),

Tablo 2. İntraperitoneal olarak uygulanan AVP'in soğuk-kısıtlama stresi ile oluşturulan gastrik mukozal hasar gelişimine etkisi

Gruplar	n	Ülser skoru
Kontrol (serum fizyolojik)	7	3.43±0.2
150 ng/kg AVP	7	2.29±0.3**
180 ng/kg AVP	7	2.14±0.3*
200 ng/kg AVP	7	1.71±0.3*

* : Kontrol grubu ile arasındaki farklılık (*: P<0.01, **: P<0.05)

AVP : arginin vazopressin

Soğuk-kısıtlama stresinin plazma AVP düzeyleri üzerine etkisini araştırmak amacıyla stres uygulanmayan (n=5) ve stres uygulanan (n=5) sıçanlarda plazma AVP düzeyleri ölçüldü. Plazma AVP ölçümü için 10 mg EDTA bulunan, soğutulmuş, polipropilen tüplere 1 ml kan alındı. Tüpler soğutmalı santrifüjde çevrildiler (+4 °C; 2000g; 10 dakika) ve plazmalar ayrılarak AVP ölçümü yapılarak kadar, -20°C derin dondurucuda saklandılar. Ticari olarak bulunabilen kit (Brullman, İsviçre; MEDTEK, İstanbul, Türkiye) kullanılarak RIA ile ölçüldü.

Elde edilen sonuçlar, bilgisayar istatistik paket programı kullanılarak (Systat 3.0 ve Minitab) değerlendirildi. Başlangıçta gruplar arasındaki farklılık Kruskal-Wallis testiyle araştırıldı, test sonucunda gruplar arasında farklılık (P<0.001) bulunduğu için Dunn's Multiple Comparison Testi ile ikili farklılıklar incelendi. İki grubun plazma AVP düzeyleri arasındaki farklılıklar ise Mann-Whitney U testiyle değerlendirildi. Sonuçlar, ortalama ± ortalamanın standart hatası olarak verildi.

BULGULAR

Sıçanlara 5 saat soğuk-kısıtlama stresi uygulandığında plazma AVP konsantrasyonları ortalama 42.6±1.7 pg/mL iken stres uygulanmayan grupta bu değer 3.8±1.3 pg/mL idi. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardı (P<0.001) (Tablo 1).

Tablo 2'de soğuk-kısıtlama stresi ile oluşturulan gastrik mukozal hasar gelişimi üzerine i.p olarak enjekte edilen üç farklı doz AVP'in etkisi gösterilmektedir. AVP, doza bağlı olarak gastrik mukozal hasar gelişimini önlemiştir. Üç farklı doz AVP enjekte edilen grupların ülser skorları serum fizyolojik enjekte edilen kontrol grubunun ülser

Tablo 3. İntraperitoneal olarak uygulanan vazopressin V1 antagonistinin soğuk-kısıtlama stresi ile oluşturulan gastrik mukozal hasar gelişimine etkisi.

Gruplar	n	Ülser skoru
Kontrol (serum fizyolojik)	7	3.43±0.2
0.05mg/kg V1 antagonist	7	3.43±0.2
0.1mg/kg V1 antagonist	7	3.57±0.2
0.15mg/kg V1 antagonist	7	3.71±0.2

skorundan istatistiksel olarak anlamlı derecede farklıdır ($P<0.01$, $P<0.05$).

Tablo 3'de i.p yolla enjekte edilen vazopressin V1 antagonistinin üç ayrı dozunun gastrik mukozal hasar gelişimi üzerine etkisi gösterilmektedir. Kontrol grubunun ülser skoru ortalama 3.43 ± 0.2 olarak bulundu. V1 antagonist 0.05 mg/kg dozda uygulandığında ülser skoru kontrol grubunkine ile aynı, 0.1 mg/kg dozda uygulandığında ortalama olarak 3.57 ± 0.2 , 0.15 mg/kg dozda ise 3.71 ± 0.2 olarak bulundu. 0.1 ve 0.15 mg/kg dozda V1 antagonist uygulanan grupların ülser skorları kontrol grubunkinden yüksek olmakla birlikte aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.

TARTIŞMA

Şiddetli travma, yanıklar, septik ve kardiyojenik şok ile santral sinir sistemi hasarları gibi akut şartlar nedeniyle tedavi gören hastalarda yaygın bir şekilde görülen gastrik mukozal stres erozyonlarının patogenezinin daha iyi anlaşılmasında yarar sağlamak amacıyla çeşitli stres modelleri geliştirilmiş ve kullanılmıştır (13). Bunlar arasında etanol, reserpin, indometazin, soğuk-immobilizasyon stresi ve kanama, stres nedenli gastrik mukozal hasar oluşması için kullanılan modellerdendir (13, 14).

Çeşitli stres modellerinde AVP sekresyonu ile ilgili çalışmalarda değişik sonuçlar bulunmaktadır (7, 15). Bizim çalışmamızda soğuk-immobilizasyon stresinin plazma AVP düzeyini arttırdığı gözlemlendi.

Stres nedenli gastrik mukozal hasar gelişiminde vazopressinin rolü ile ilgili çalışmalar, AVP'in önemli bir stres hormonu olduğunu ve strese bağlı fizyolojik değişikliklerin bir kısmında rolü olabileceğini belirtmektedir (16). Bazı araştırmacılar

AVP sentez etme kabiliyetinde konjenital bir defekte sahip olan diabetes insipidus (DI)'lu sıçanlarda ülser indeksinin kontrole göre daha yüksek (16), bazı araştırmacılar ise daha düşük olduğunu gözlemişlerdir (13). AVP'in kortikotropin serbestleştirici faktör (CRF) ile sinerjik olduğu gösterilmiştir (8, 16). DI'lu sıçanlara intrase-rebroventriküler (i.c.v.) olarak AVP verilmesi sadece gastrik lezyonlarda azalmaya değil, aynı zamanda plazma ACTH seviyelerinde artmaya da sebep olmaktadır. DI'lu sıçanlarda AVP'in antidiüretik analogu 1-desamino-8-D-AVP (DDAVP)'in derialtı enjeksiyonlarının ülser indeksini önemli derecede değiştirmediği, ancak AVP'in i.c.v. uygulanmasında ülser indeksinin azaldığı gözlenmiştir (16). Bu etkinin bir bölümünün sempatik sistem aktivasyonu ile ilgili olduğunu düşünmekteyiz. Çünkü i.c.v. AVP'in bazı beyin bölgelerinde katekolamin metabolizmasını etkilediğini, plazma katekolamin konsantrasyonu ve kan basıncında artışa neden olduğunu ileri süren yayınlar bulunmaktadır (17, 18). Sempatoadrenerjik sistemin gastrik mukozal bütünlüğün korunmasında rolü olduğu da bilinmektedir (19, 20). Ayrıca, CRF'ün santral uygulanmasının stres nedenli ülserlerde koruyucu bir etkiye sahip olduğunu belirten çeşitli yayınlar bulunmaktadır (21, 22). AVP, CRF ile sinerjik olduğuna göre ACTH artışına neden olacaktır ve böylece gastrik mukozal hasar oluşumunu önlemede koruyucu bir rol oynayabilecektir. Ayrıca i.c.v. CRF'ün gastrik asit sekresyonunu inhibe ettiği belirtilmiştir (23).

Vazopressinin santral etkilerine ilaveten periferik etkileri de bazı araştırmacılar tarafından çalışılmıştır. AVP'in periferik uygulanmasının stres nedenli gastrik hasarda agresif rol oynadığı gösterilmiş olmasına rağmen (13, 24), AVP'in sıçanlarda gastrik asit sekresyonunu inhibe ettiği (11, 25) ve bu etkisini V1 reseptörleri yoluyla yaptığı da belirtilmiştir (25). Biz de AVP'in periferik etkilerini araştırdığımızda i.p. uygulanan AVP'in gastrik mukozal hasarı azalttığını gözledik. V1 reseptör antagonistinin ise gastrik mukozal hasarı az da olsa artırdığını ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını gözledik. Uyguladığımız stres modeline bağlı AVP sekresyonundaki artışın sentezdeki artışla kompanse edilemediğini ve bu nedenle ancak eksojen uygulanan AVP'in stres nedenli gastrik hasarı önlediğini düşünmekteyiz. Bulgularımız periferik uygulanan AVP'in stres nedenli gastrik hasarda agresif etki gösterdiğini açıklayan araştırmacıların (13, 24) bulgularıyla terstir. Sonuçlar arasındaki

bu tutarsızlığın, deneylerde kullanılan hayvan türlerinden ve stres modellerinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Çünkü bu çalışmalardan birinde etanol nedenli gastrik mukozal hasarın gelişmesinde vazopressinin agresif rol oynadığı belirtilmiştir (24). Diğer çalışmada ise soğuk-kısıtlama stresi uygulanmıştır (13) ancak bizim uyguladığımız modelden farklılıklar

bulunmaktadır.

AVP'in periferik etkilerini tam ve kesin olarak ölçmek kolay değildir. Çünkü periferik olarak uygulanan AVP, kan beyin bariyerinin bulunmadığı bölgelerden santral sinir sistemine geçmektedir. Periferik vazopressinin etkisini kesin olarak açıklayabilmek için başka araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Redei E, Pare WP, Aird F, Kluczynski J. Strain differences in hypothalamic-pituitary-adrenal activity and stress ulcer. *Am J Physiol* 1994; 266 (Regulatory Integrative Comp Physiol 35): R353-R360.
- Guth PH. Gastric blood flow in restraint stress. *Am J Dig Dis* 1972; 17: 807-13.
- Goldman H, Rosoff CB. Pathogenesis of acute gastric stress ulcers. *Am J Pathol* 1968; 52: 227-44.
- Gordon MJ, Skillman JJ, Zervas NT, et al. Divergent nature of gastric mucosal permeability and gastric acid secretion in sick patients with general surgical and neuro-surgical disease. *Ann Surg* 1973; 178: 285-94.
- Shorrock CJ, Rees WDW. Overview of gastroduodenal mucosal protection. *Am J Med* 1988; 84 (2A): 25-34.
- Williams TDM, Carter DA, Lightman SL. Sexual dimorphism in the posterior pituitary response to stress in the rat. *Endocrinology* 1985; 116: 738-40.
- Ivanyi T, Wiegant VM, Wied D. Differential effects of emotional and physical stress on the central and peripheral secretion of neurohypophysial hormones in male rats. *Life Sci* 1991; 48: 1309-16.
- Rivier C, Vale W. Neuroendocrine interaction between corticotropin releasing factor and vasopressin on adrenocorticotrophic hormone secretion in the rat. In: RW Schrier Editors. *Vasopressin*, New York. Raven 1985; 181-8.
- Sanchez-Franco F, Cacicedo L, Vasallo JL, et al. Arginin-vasopressin immunoreactive material in the gastrointestinal tract. *Histochemistry* 1986; 85: 419-22.
- Lawson LJ, LR Dragstedt. Vasopressin and gastric secretion. *Surg Forum* 1964; 15: 118-20.
- Caltabiano S, Brennan FT, Kinter LB. In vitro inhibition of gastric acid secretion by vasopressin. *Eur J Pharmacol* 1987; 139: 281-6.
- Jard S, Barberis C, Audigier S, Tribollet E. Neurohypophyseal hormone receptor systems in brain and periphery. *Prog Brain Res* 1987; 72: 173-6.
- Laszlo F, Karacsony G, Pavol, et al. Aggressive role of vasopressin in development of different gastric lesions in rats. *Eur J Pharmacol* 1994; 258: 15-22.
- Drago F, Grassi M, Genazzani AA. Neuromediators in aging and gastric mucosal injury. *J Physiol* 1993; 8: 379-83.
- Husain MK, Manger WM, Rock TW, et al. Vasopressin release due to manual restraint in the rat: role of body compression and comparison with other stressful stimuli. *Endocrinology* 1979; 10 (3): 641-4.
- Honda K, Fukuda S, Ishikawa S, et al. Role of endogenous vasopressin in development of gastric ulcer induced by restraint and water immersion. *Am J Physiol* 1994; 266 (Regulatory Integrative Comp Physiol 35): R1448-R1453.
- Martin SM, Malkinson TJ, Bauce LG, et al. Plasma catecholamines in conscious rat after central administration of vasopressin. *Brain Res* 1988; 457: 192-5.
- Tanaka M, Kloe ER, Wied D, Versteeg DHG. Arginine 8vasopressin affects catecholamine metabolism in specific brain nuclei. *Life Sci* 1977; 20: 1799-808.
- Hernandez DE, Adcock JW, Nemeroff CB, Prange AJ. The role of the adrenal gland in cytoprotection against stress-induced gastric ulcers in rats. *J Neuro Res* 1984; 11: 193-201.
- Orlando RC, Hernandez DE, Nemeroff CB, Prange AJ. Role of the autonomic nervous system in neurotensin's cytoprotective effect for gastric stress ulcers in rats. *Ann NY Acad Sci* 1982; 400: 32.
- Gunion MW, Tache Y. Gastric mucosal damage inhibited by intraventricular hypothalamic corticotropin releasing factor. *Soc Neurosci* 1986; 12: 644.
- Shibasaki T, Yamauchi N, Hotta M, et al. Brain corticotropin-releasing factor acts as inhibitor of stress-induced gastric erosion in rats. *Life Sci* 1990; 47: 925-32.
- Tache Y, Goto Y, Gunion M, et al. Inhibition of gastric acid secretion in rats and in dogs by corticotropin-releasing factor. *Gastroenterology* 1984; 86: 281-6.
- Laszlo FA, Laszlo F, Wied D. Pharmacology and clinical perspectives of vasopressin antagonist. *Pharmacol Rew* 1991; 43 (1): 73-108.
- Puurunen J. Stimulation of central alpha-2 adrenoceptors inhibits gastric secretion in rats by releasing vasopressin. *Arch Pharmacol* 1991; 337: 164-8.