

Sıçanlarda Stres Ülserinde EGF'nin Koruyucu Etkisi

Dr. Leyla IRAK, Dr. Selahattin ÜNAL, Dr. Uğur KANDİLCİ, Dr. Hamza OKUR

Özet: Epidermal Growth Faktör (EGF)'ün stres ülserinde profilaktik etkisini araştırmak amacıyla, 1 hafta süre ile EGF uygulanan sıçanlarda ve kontrol grubundaki sıçanlarda 48 saatlik açlığı takiben soğuk + immobilizasyon stresi uygulandıktan sonra mide dokusunda ülser indeksleri, mide ağırlığının vücut ağırlığına oranları, mide dokusunda prostaglandin E_2 (PGE_2) ve lökotrien C_4 (LTC_4) benzeri aktivite çalışıldı. EGF grubunda ülser indeksi 7.7 ± 5.6 mm iken kontrol grubunda 17.8 ± 12.5 mm idi ($P < 0.05$). Mide ağırlığının vücut ağırlığına oranı EGF grubunda 0.006 ± 0.001 , kontrol grubunda 0.005 ± 0.001 idi ($P < 0.001$). PG ve LT benzeri aktiviteler yönünden çalışma ve kontrol grupları arasında anlamlı fark bulunamadı. Bu çalışma EGF'nin deneysel stres ülserin profilaksisinde mukozal hücre proliferasyonunu artırarak etkili olduğunu desteklemektedir.

Summary: EPIDERMAL GROWTH FACTOR IN PROTECTION AGAINST EXPERIMENTAL STRESS ULCERATION

The aim of this study was to test the protective effect of Epidermal Growth Factor (EGF) on stress-induced ulceration. The rats which were treated with EGF for a week were stressed by cold and immobilisation following a 48-hour fasting. Later, the proportion of gastric weight to the body weight, the ulcer indices, levels of both Prostaglandin E_2 (PGE_2) and leukotriene C_4 (LTC_4) like activity in gastric tissue were compared with the control group. Ulcer indices were 7.7 ± 5.6 mm in EGF treated group and 17.8 ± 12.5 mm in control group ($P < 0.05$). The proportion of gastric weight to the body weight is 0.006 ± 0.001 in EGF treated group and 0.005 ± 0.001 in control group ($P < 0.001$). There is no significant difference between EGF treated and control groups regarding level of prostaglandin-like activity and leukotriene-like activity. The result of this experiment indicates that EGF has protective effect against ulcer formation by accelerating mucosal proliferation and this effect is independent from levels of PG and LT.

Anahtar kelimeler: Stres ülseri, EGF.

Key words: Stress ulcer, EGF.

Mide mukozasının asit-pepsin sekresyonu, hipoksi, iskemik gibi zararlı faktörlere karşı bütünlüğünü devam ettirebilmesi koruyucu mekanizmalar ile sağlanır. Mukus-bikarbonat sekresyonu, epitelyal hücre yenilenme hızı, kan akımı ve PG gibi humoral faktörler mide mukozasının korunmasında rol oynar. EGF'nin de mukozal korunmada önemli olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar vardır (1,2,3,4).

Bu çalışma deneysel stres ülserinde EGF'nin koruyucu etkisini ve bunun endojen PG ve LT düzeyleri ile ilişkisini araştırmak amacıyla planlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada 180-250 gr ağırlığında 30 adet Wistar-albino erkek sıçan kullanıldı. Laboratuvara alındıktan sonra, adaptasyon için bir hafta bekletilen sıçanlar üç eşit gruba ayrıldı. Birinci (açlık grubu) ve ikinci (açlık+stres grubu) gruplardaki sıçanlara günde 2 kez 1 ml serum fizyolojik, üçüncü (EGF grubu) gruptaki sıçanlara ise günde 2 kez 15 µg/kg human EGF (Serotec) 7 gün süreyle uygulandı. Uygulamanın son iki gününde 48 saat süreyle her üç gruptaki sıçanlar sadece su içmelerine izin verilerek aç bırakıldılar. Açlık+Stres ve EGF grubundaki sıçanlar Zengil ve arkadaşlarınca (5) tamamlanan yön-

Tablo I: EGF profilaksisi yapılan (EGF grubu) ve yapılmayan (stres grubu) sıçanlarda ülser indeksleri ve mide/vücut ağırlık oranları.

Değişken	(Ortalama±Standart sapma)		
	STRES a=10	EGF a=10	P
Ülser indeksi (mm)	17.8±12.5	7.7±5.6	< 0.05
Mide/vücut ağırlığı	0.005±0.001	0.006±0.001	< 0.001

temle 8. gün 4 saat süreyle soğuk + immobilizasyon stresi uygulandıktan sonra eter anesteziyi takiben servikal dislokasyonla öldürülüp, bu sıçanların vücut ağırlıkları ve çıkarılan midelerinin ağırlıkları tartıldı. Mide dokusundaki ülserler uzun eksen boyunca ölçülerek mm olarak belirtildi, ayrıca peteşiler sayıldı ve 5 peteşi 1 mm'lik ülser alanı kabul edilerek Cho ve Ogle'nin (6) tanımladığı kriterlerle ülser indeksi hesaplandı. PGE2 ve LTC4 benzeri aktivite tayini için mide fundusları ayrıldı, çalışılana kadar dokular -30°C'de korundu.

PG ve LT benzeri aktivite tayini için Samhoun ve Piper'in tanımladığı bioassay yöntem uygulandı (7).

İstatistiksel analizlerde student's testi, Mann-Whitney-U testi ve Krus-kall-Wallis varyans analiz testi uygulandı. P<0.05 olan değerler önemli kabul edildi.

SONUÇLAR

Sadece açlık uygulanan grupta ülser gözlenmedi. Açlık+stres grubunda ortalama ülser indeksi 17.8±12.5 mm iken EGF grubunda 7.7±5.6 mm idi (P<0.05) (Tablo I). EGF'nin profilaktik olarak uygulanması ülser indeksinde önemli azalma sağlamıştı. Mide ağırlığının vücut ağırlığına oranı EGF grubunda 0.006±0.001 iken açlık ve açlık+ stres kontrol gruplarında 0.005±0.001 idi (GP<0.01) (Tablo I). EGF uygulaması mide ağırlığının vücut ağırlığına oranını önemli ölçüde artırmıştı. Açlık grubunda PG benzeri aktivite 90.20±118.42ng/gr iken, açlık+stres uygulanan grupta 131.95±111.91 ng/gr idi. EGF grubunda ise 73.22±75.62 ng/gr idi. İstatistiksel olarak üç grup arasındaki fark anlamlı değildi (Tablo II). Mide dokusunda LTC4 benzeri aktivite açlık

Tablo II: Açlık+stres ve EGF gruplarında PGE 2 ve LTC 4 düzeyleri.

Değişken	(Ortalama±Standart sapma)		
	AÇLIK n=10	AÇLIK+STRES n=10	EGF n=10
PGE2 (ng/g)	90.20±118.42	131.95±111.91	73.22±75.62
LTC4 (ng/g)	197.38±187.82	234.40±190.04	448.81±617.50

grubunda 197.38±187.82 ng/gr, açlık+stres grubunda 234.40±190.04 ng/gr, EGF grubunda 448.81±617.50 ng/gr idi (Tablo II). Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

TARTIŞMA

Çalışmamızda açlık+stres öncesinde uygulanan EGF'ni ülser indeksinde önemli azalma sağlaması, bu faktörün stres ülseri profilaksisinde etkili olduğunu destekler. Literatürdeki çalışmalarda sıçanlarda deneysel stres ülserinde EGF profilaksisi ile ülser indeksinde azalma Konturek (2) ve Sakamoto (3) tarafından gösterilmiştir. Çalışmamızda EGF uygulanan grupta ülser indeksinde azalmayla birlikte, mide ağırlığının vücut ağırlığına olan oranı artmıştı. Mide mukozasında DNA içeriği ve timidin inkorporasyonu gibi yöntemlerle mukozal proliferasyon artışı direkt olarak gösterememekle birlikte, EGF profilaksisi uygulanan grupta mide ağırlığının vücut ağırlığına olan oranının artması, mukozal proliferasyon artışı dektelemektedir. Bu bulgumuz literatürdeki çalışmalarla uyumludur (2,4). EGF'nin ülser profilaksisindeki etkisinin mide mukozasının korunmasında (PG) ve hasarında (LT) önemli mediatörler olan eikosenoidlerle ilişkisini araştırmak için deney ve kontrol gruplarında PGE2 ve LTC4 benzeri aktivite ölçümü yapıldı. Her iki mediatör yönünden anlamlı istatistiksel fark bulamadık. Bioassay yöntemi kullanmamızın ve standart sapmanın geniş olmasının anlamlı fark bulmamamızdaki rolü ekarte edilemez. Fakat literatürdeki çalışmalar (8,9) EGF'nin stres ülserine karşı koruyucu etkisinin PG'lerden bağımsız olduğunu göstermektedir. Brzozowski (8) etanol, Itoh (9) 0.1N HCl ile oluşturulan EGF'nin ülserine karşı koruyucu etkisinin prostaglandinlerden bağımsız olduğunu

bildirmişlerdir. Konturek (2.4) sıçanlarda suya batırma yöntemiyle oluşturulan stres ülserinde EGF'nin profilaktik etkisi ile PG düzeyleri arasında bir ilişki olmadığını göstermiştir. Stres ülseri profilaksisinde EGF uygulaması ile PG düzeyleri arasında bir ilişki saptayamamız literatürle uyumludur.

Çalışmamızda EGF uygulanan grupla, kontrol grupları arasında LTC4 benzeri aktivite açısından anlamlı fark yoktu. EGF grubunda LTC4 düzeylerinin istatistiksel yönden önemsiz olsa da daha yüksek olmasının nedenini açıklayamadık. Literatürde lökotrienlerin mukozaya zararlı

etkisini (10) ve deneysel stres ülserinde önemli ölçüde arttığını (11,12) gösteren çeşitli çalışmalar varsa da EGF profilaksisi ile doku LT düzeyleri ilişkisinin araştıran bir çalışma bulamadık. Bundan sonraki çalışmalarda EGF profilaksisi ve doku LT düzeyinin bioassay yönteme göre daha duyarlı olan radioimmünassay yöntemle araştırılması bu konuda daha sağlıklı sonuçlar verecektir.

Çalışmamız EGF'nin deneysel stres ülseri profilaksisinde mukozal hücre proliferasyonunu artırarak etkili olduğunu, ve profilaktik etkisinin PG ve LT'lerden bağımsız olduğunu desteklemektedir.

KAYNAKLAR

1. Konturek SJ, Dembinski A, Warzecha Z: Role of epidermal growth factor in healing of chronic gastroduodenal ulcers in rast. *Gastroenterology*, 1988, 94: 1300-7
2. Konturek SJ, Brzozowski T, Maska J, Dembinski A, Slamiy A: Transforming growth factor alpha and epidermal growth factor in protection and healing of gastric mucosal injury. *Scand J Gastroenterol* 1992, 27:6490-6552
3. Sakamoto T, Swierczek, Ogden D, Thompson J: Cytoprotective effect of Pentagastrin and epidermal growth factor on stress ulcer formation. *Ann Surg*, 1985, Vol 201 no:3, 290-294
4. Konturek K, Brzozowski T, Konturek SJ: Role of epidermal growth factor: Prostaglandin and Sulfhydrylsin stress-induced gastric lesions. *Gastroenterology*, 1990, 99:1607-1615
5. Zengil H, Ercan ZS, Onuk E, Turker RK: The effects of Nocloprost, Nileprost, Ilprost and (15S)-15-Methyl PGE2 on gastric mucosal damage induced by stress, indometacin and, ethanol, Prostaglandins Leukotrienes and essential fatty acids, 1990, 40:13-16
6. Ogle CW and Cho CH: The effects of zinc sulphate on gastric histamine release and ulcer formation in stressed pylorus-occluded rast. *Pharmacological Research Communications*, 1977, Vol 9, No 8.
7. Samhoun NM, Piper JP: The combined use of isolated strips of guinea pig lung parenchyme and ileum as a sensitive and selective bioassay for leukotriene B4-Prostaglandins. 1984, Vol 27, R 5, 711-724
8. Brzozowski T, Majka J, Drozdowicz D, Konturek SJ: Role of polyamines and prostaglandins in gastroprotective action of epidermal growth factor against ethanol injury. *J Clin Gastroenterol* 1991, 13, (Supp I), 98-102
9. Itoh M, Joh T, Imai S: Experimental and clinical studies on epidermal growth factor for gastric mucosal protection and healing of gastric ulcers. *J Clin Gastroenterol*, 1988, Vol 10 (Supp 1), 507-512
10. Whittle B.J.R, Oren-Wolman N, Guth P.H (1985) *Am. J. Physiol* 248, G 580- G 586
11. Ohara A, Sugiyama S, Kuroiwa M, Goto H, Tsukamoto Y, Ozawa T: Role of leukotrienes in the genesi and healing of water immersion stress- induced gastric ulcers in rats. *Biochemistry International* 1991 Vol 23, No. 6, 1055-1062
12. Stein T, Keegan L, Auguste L-J, Bailey B, Wise L: Stress-induced gastric lesions and the synthesis of prostaglandins and leukotrienes. *Journal of Surgical Research* 1991 51, 368-371