

Sıçanlarda Geliştirilen Alkole Bağlı Gastrik Mukozal Lezyonlar Üzerine Çinko Sülfatın Koruyucu Rolü

EFFECTS OF ZINC SULPHATE ON GASTRIC MUCOSAL DAMAGE CAUSED BY ETHANOL IN RATS

Dr.A.Ömer ÖZÜTEMİZ, Dr.A.Rıza SANUL, Dr.Yücei BATUR

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi NK Menteş Gastroenteroloji Kliniği, İZMİR

ÖZET

Bu deneysel çalışmada, alkol verilerek gastrik mukozal hasar meydana getirilen sıçanlarda çinko sülfatın koruyucu etkisi araştırılmıştır. Gruplara ayrılan hayvanlara çinko sülfat intraperitoneal ya da orogastrik yolla 10 mg/kg veya 30 mg/kg dozlarında verilerek alkole bağlı gelişen gastrik mukozal lezyonlar değerlendirilmiştir. Ayrıca pilor ligasyonu yapılan bir diğer grup hayvanlarda, çinko sülfatın asit debisine etkisi Cimetidin ile karşılaştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Çinko sülfat, Gastrik mukozal korunma

T Klin Gastroenterohepatoloji 1993,4:86-89

SUMMARY

The effects of zinc sulphate on ethanol-induced gastric mucosal damage were evaluated in rats. When given either intraperitoneal or intragastrically, zinc sulphate (30 mg/kg) prevented gross visible damage to gastric mucosa caused by ethanol. This protective effect of zinc sulphate was not inhibited by indomethacin pretreatment. Zinc sulphate did not affect acid secretion assessed by volume and acid output in the pylorus-ligated rat.

Key Words: Zinc sulphate, Cytoprotection

Turk J Gastroenterohepatol 1993, 4:86-89

Çinko bileşikleri, deneysel hayvan modellerinde çeşitli zararlı ajanlarla geliştirilen gastrik mukozal lezyonları önlemede etkili bulunmuştur. Bu deneysel modeller arasında reserpin (1) ve etanolle (2) geliştirilen gastrik lezyonlar, stres (3) ve pilor ligasyonu (4) ile geliştirilen lezyonlar yer almaktadır. Ayrıca çinko bileşiklerinin peptik ülserli hastalarda ülser iyileşmesini hızlandırdığı da gösterilmiştir (5,6). Çeşitli ve kompleks çinko bileşikleri elde edilerek gerek hayvan modellerinde deneysel, gerekse de peptik ülser hastalığında bu bileşiklerin kullanılması günümüzde yoğun şekilde araştırılmaktadır (6,7).

Bu çalışmada sıçanlarda geliştirilen etanole bağlı gastrik mukozal lezyonlar üzerine çinkonun koruyucu rolü araştırılmıştır.

MATERYEL VE METOD

Hayvanlar: Çalışmada ortalama ağırlıkları 180-240 g olan karışık cinsden Wistar albino rat kullanılmıştır.

Geliş Tarihi: 5.1.1993

Kabul Tarihi: 26.2.1993

Yazışma Adresi: Dr.A.Ömer Özütemiz
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi
NK Menteş Gastroenteroloji Kliniği
Bornova - İZMİR

Hayvanlar E.Ü. Deney hayvanları merkezinden temin edilmiş ve her hayvan kendine ait tel kafeste tutularak altındaki delikli tel sistemi ile dışkılarını yemeleri engellemiştir. Deneyin başlamasından 24 saat önce aç bırakılmışlar ve 12 saat önce de su içmeleri engellenmiştir.

ilaçlar: ZnSO₄.7H₂O (Merck), Cimetidin (SKF), Indometacin (Deva, İstanbul'dan temin edilmişlerdir.

Deney: Hayvanlara oral olarak verilen maddeler 16 no pedlatrik plastik sonda ile verilmiştir (orogastrik-og). Bu işlem sırasında hayvanlar eter anestezisi ile uyutulup, dilleri özel delikli tahta ile ekarte edilerek og entübasyon yapılmış ve tüp su kabına tutularak akciğer yerine mideye girildiğine emin olunduktan sonra maddeler verilmiştir. İlk önce 10 hayvana 1 ml %96 etanol og olarak verilmiş ve 1 saat sonra hayvanlar servikal dislokasyon ile öldürülerek mideleri çıkartılmış ve mideler büyük kurvatur boyunca açılarak meydana gelen tipik hemorajik lezyonlar tespit edilmiştir. Böylece etanolun etkisi test edilmiştir. Daha sonra rastgele onarlık gruplara ayrılan hayvanlara şu işlemler yapılmıştır (Tablo 1, ip:intraperitoneal).

1. Çinko sülfat : 10 mg/kg, og, 1 ml volümde
2. Çinko sülfat : 30 mg/kg, og, 1 ml volümde
3. Cimetidin : 50 mg/kg, og, 1 ml volümde

Tablo t. Etanol ile sıçanlarda geliştirilen gastrik mukozal lezyonlara kullanılan maddelerin etkileri

n: 10	Madde	Doz (mg/kg)	Veriliş Yolu	Indometacin	Lezyon Skoru (mm)
1.	Çinko sülfat	10	og	—	46.3+9.3
2.	Çinko sülfat	30	og	—	11.4±4.2 ^a
3.	Cimetidin	50	og	—	63.3±9.1
4.	Serum fiz. (1 ml)		og	—	70.5±6.1
5.	Çinko sülfat	10	ip	—	51.1+4.3
6.	Çinko sülfat	30	ip	—	17.4±6.7 ^b
7.	Cimetidin	50	ip	—	53.2±9.5
8.	Serum fiz. (1 ml)		ip	—	64.6+7.1
9.	Serum fiz. (1 ml)		og	+	65.3+9.4
10.	Çinko sülfat	30	og	+	13.5+6.7 ^c
11.	Serum fiz. (1 ml)		ip	+	89.7±11.9
12.	Çinko sülfat	30	ip	+	20.7±8.1 ^d

Değerler ortalama ± SE olarak gösterilmiştir, og: orogastric, ip: intraperitoneal, indometacin verilen gruplara deneyin başlamasından yarım saat önce 5 mg/kg dozda indometacin sc verilmiştir.

^a Grup 2 ile grup 4, ^b grup 6 ile grup 8, ^c grup 10 ile grup 9, ^d grup 12 ile grup 11 arasındaki fark istatistik olarak anlamlıdır (p<0.01).

4. Serum fizyolojik og, 1 ml volümde
 5. Çinko sülfat 10 mg/kg, ip, 1 ml volümde
 6. Çinko sülfat 30 mg/kg, ip, 1 ml volümde
 7. Cimetidin 50 mg/kg, İp, 1 ml volümde
 8. Serum fizyolojik ip, 1 ml volümde

9. ve 10. grup hayvanlara ilk önce 5 mg/kg dozda 1 ml indometacin sc verildikten yarım saat sonra 30 mg/kg dozda çinko sülfat veya serum fizyolojik og yoluyla benzer şekilde verilmiştir.

11 ve 12.grup hayvanlara İse benzer şekilde indometacin verilmiş ve yarım saat sonra 30 mg/kg çinko sülfat veya serum fizyolojik ip uygulanmıştır.

Bu işlemlerden bir saat sonra tüm hayvanlara 1 ml %96 etanol og olarak verilmiş ve bunu takibeden 1 saat sonra ise tüm hayvanlar servikal dislokasyon ile öldürülerek mideleri çıkartılmıştır. Mideler büyük kurvatur boyunca açılarak deneyden habersiz bir gözlemci

tarafından (ARS) gelişen hemorajik lezyonların uzunluğu her bir mide için şeffaf milimetrik kağıt kullanılarak kaydedilmiştir. Ayrıca örnekler %10 formülde tespit edilerek hematoxilene-eosin ile boyanarak histopatolojik olarak da incelenmiştir.

Çinkonun asit sekresyonuna etkisini incelemek için diğer bir grup hayvana pilor ligasyonu uygulanmıştır (Tablo 2). 13 ve 14.grup hayvanlara, 30 mg/kg çinko sülfat veya serum fizyolojik 1 ml volümde og olarak verilmiş ve bundan 1 saat sonra batin açılarak 3/0 ipek sütür ile pilor ligasyonu yapılmıştır.

15 ve 16.grup hayvanlara, aynı dozda çinko sülfat veya serum fizyolojik, önce pilor ligasyonu yapıldıktan hemen sonra bu kez ip olarak verilmiştir.

17.grup hayvanlara 50 mg/kg Cimetidin 1 ml volümde og verilmiş, bundan 1 saat sonra batin açılarak benzer şekilde pilor ligasyonu gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2. Pilor ligasyonu uygulanan sıçanlarda çinko sülfat ve cimetidin gastrik sekresyon üzerine etkileri

n: 10	Madde	Doz (mg/kg)	Veriliş Yolu	Volüm (ml/4 saat)	Asit outputu (µep/saat)
1.	Serum fiz. (1 ml)		og	5.1+0.6	128+20
2.	Çinko sülfat	30	og	4.9±0.9	145+36
3.	Cimetidin	50	og	2.1 ±0.3 ^a	32±14 ^a
4.	Serum fiz. (1 ml)		ip	5.5+0.9	130±28
5.	Çinko sülfat	30	ip	4.1+0.5	101±15
6.	Cimetidin	30	ip	1.9+0.3 ^b	31.3+11 ^c

Değerler ortalama ± SE olarak gösterilmiştir.

a,b,c,d: Serum fizyolojik verilen kontrol gruplarına göre fark İstatistik olarak anlamlıdır (p<0.01).

18.grup hayvanlarda İse aynı doz cimetidin önce batin açılarak pilor ligate edildikten hemen sonra ip olarak verilmiştir.

13-18 gruplardaki hayvanlar pilor ligasyonundan 4 saat sonra servikal dislokasyon ile öldürülerek gastrik sıvı içeriği alınmış, volümü ölçülmüş ve otomatik pH metre ile asidite tayin edilmiştir.

İstatistiki analiz: Sonuçlar E.Ü. Bilgi İşlem Merkezinde Minitab paket programı kullanılarak variance analizi ile istatistiki olarak değerlendirilmiştir.

SONUÇLAR

Çinko sülfat 30 mg/kg dozda og veya ip yolla verildiğinde, etanolie geliştirilen gastrik mukozal lezyonları azaltmaktadır (Tablo 1). Adı geçen maddenin 10 mg/kg dozları ve cimetidin ise gelişen lezyonlar üzerinde koruyucu bir etki göstermemiştir.

Önceden endojen prostaglandin inhibe edici dozda verilen indometacin 30mg/kg dozda verilen çinko sülfatın mukoza koruyucu etkisini değiştirmemiştir (Tablo 1).

Serum fizyolojik verilen kontrol gruplarında makroskopik olarak ağır hemorajik bandlar şeklinde hemorajik lezyonlar meydana gelmiş, bu örneklerin histopatolojik incelemesinde belirgin yüzey epitel kaybı, muskularis mukoza tabakasını penetre etmeyen hemorajik nekroz ve belirgin demarkasyon hattı saptanmıştır. Submukozada masif ödem bu bulgulara eşlik etmekteydi. Çinko sülfatın makroskopik olarak koruyucu etki gösterdiği örneklerde ise küçük nekroz alanları gözlenmekte ve yüzey epiteli daha az hasar görmüş olarak izlenmiştir, ancak mikroskopik düzeyde tam bir korunma söz konusu değildir.

Pilor ligasyonu uygulanan hayvanlarda, çinko sülfat og veya ip verildiğinde mide suyu içeriğinin volümünü ve asiditesini istatistiki olarak anlamlı şekilde etkilememiştir (Tablo 2). Buna karşın cimetidin makroskopik lezyonları önlemede etkili olmamasına rağmen (Tablo 1), her iki yolla da verildiğinde hem mide içeriğinin volümünü hem de asit debisini istatistiki olarak anlamlı şekilde azaltmıştır (Tablo 2).

TARTIŞMA

Ftobert ve arkadaşları (8) etanole bağlı olarak sıçanlarda geliştirilen gastrik mukozal hasarın prostaglandinlerin nonsekretuar dozları ile önleyebileceğini göstermişler ve o zamandan beri sitoproteksiyon kavramı yaygın olarak kabul görmüştür. Daha sonra pek çok madde bu kavram içinde kullanılmıştır (9).

Çinko, biyolojik olarak esansiyel bir element olup bir çok enzim sisteminde koenzim olarak rol oynamaktadır (10). Çeşitli çinko bileşiklerinin gastrik mukoza üzerindeki sitoprotektif etkileri özellikle son on yıldır geniş olarak araştırılmaya başlanmıştır (2,7,11). Çinko sülfat bu çalışmada, sıçanlarda geliştirilen etanole bağlı gastrik mukozal lezyonları önleyici etki göstermiştir. Bu

etki 30 mg/kg dozunda hem og hem de ip yoldan verildiğinde görülmekte ve diğer bazı çalışmalar ile benzerlik göstermektedir (2,6,12).

Önceden indometacin verilmesi, çalışmamızda çinko sülfatın mukoza koruyucu etkisini önlememiştir. Bu sonuç çinkonun sitoprotektif etkisinin prostaglandinlerden bağımsız olduğunu öne süren diğer bazı çalışmaları destekler niteliktedir (6,9). Ancak çalışmamızda gastrik mukozal endojen prostaglandin düzeyleri direkt tayin edilmemiş olarak kalmaktadır.

Çinko bileşiklerinin sitoprotektif ve anti-ülser etkilerini gastrik mukozal bariyerin sağlamaştırılmasına ve mukus üretiminin artırılmasına bağlayan sonuçlar yayınlanmıştır (9,13). Bazı araştırmacılar ise, çinkonun doku hasarında temel rol oynayan ilzozomların membranlarını stabilize ettiğini ve bu etkisini de asit hidrolazların salınımını azaltarak ve lipidlerin peroksidasyonunu kaldırarak gerçekleştirdiğini bildirmişlerdir (14,15). Dupuy ve arkadaşları (12) ise çinko ve benzeri metallerin sülfidril gruplarını bağlayarak koruyucu etki gösterdiklerini saptamışlardır. Ayrıca birçok sitoprotektif ajan (örneğin CBS'de bizmut, antiasidlerde alüminyum ve magnezyum, sucraffatda alüminyum sülfat, çinko sülfatta sülfat gibi) ağır metal yada sülfat içermekte ve bu ek maddelerin de sitoproteksiyonda ayrıca bir rol oynayıp oynamadığı sorusuna cevap aranmaktadır (9). Ancak sülfat grubu içermese de çinko bileşiklerinin (çinko klorür, çinko L Carnosine, çinko acexamate gibi) sitoprotektif etki gösterebilecekleri gösterilmiştir (6,7,12).

Çinko bileşiklerinin mide asit sekresyonu üzerine inhibe edici etkileri üzerindeki çalışmalar birbiri ile çelişmektedir (4,16). Arakawa ve arkadaşları (6) ip verilen çinko sülfatın mide asit sekresyonunu sıçanlarda azalttığını, ancak intragastrik olarak verilmesi ile bu etkinin görülmediğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda pilor ligasyonu yapılan hayvanlarda çinko sülfatın ip veya og verilmesi mide içeriğinin volümünü ve asit debisini etkilemezken, Cimetidin her ikisini de anlamlı şekilde azaltmıştır. Oysa ki makroskopik hemorajik lezyonların önlenmesinde Cimetidin etkisiz kalmıştır. Bu sonuç cimetidin etanolie geliştirilen sıçan mide lezyonlarını önlemede etkisizliğinin gösterildiği diğer çalışmalar ile uyumludur (8,17).

Sonuç olarak bu çalışmada çinko sülfat etanole bağlı gastrik mukozal lezyon geliştirilen sıçanlarda, prostaglandinlerden ve mide asiditesinden bağımsız olarak koruyucu rol oynamıştır.

KAYNAKLAR

1. Reiffer CJ, Cho CH, Cheema A, Saltman D. Reserpine-induced gastric ulcers: Protection by lysosomal stabilization due to zinc. *Eur J Pharmacol* 1980; 61:347-53.
2. Cho CH, Ogle CW, Wong SH, Koe MWL. Effects of zinc sulphate on ethanol and indomethacin-induced ulceration and changes in Prostaglandin E2 and histamine levels in rat gastric glandular mucosa. *Digestion* 1985; 32:288-95.

3. Cho CH, Ogle CW. A correlation study of the antiulcer effects of zinc sulphate in stressed rats. *Eur J Pharmacol* 1978; 48:97-105.
4. Cho CH, Ogle CW, Day S. Effects of zinc chloride on gastric secretion and ulcer formation in pylorus-occluded rats. *Eur J Pharmacol* 1976; 38:337-41.
5. Fraser RM, Doll R, Langman MJS, Misiewicz JJ, Shawdon HH. Clinical trial of a new carbenoxolone analogue (BX24) zinc sulphate and vitamin A in the treatment of gastric ulcer. 1972;13:459-61.
6. Arakawa T, Satoh H, Nakamura A, Nebiki H, Fukuda T, et al. Effects of zinc L carnosine on gastric mucosal and cell damage caused by ethanol in rats. *Dig Dis Sci* 1990; 35:559-66.
7. Alcalá-Santaella R, Castellanos D, Velo JL, Gonzales-Lara V. Zinc acexamate in treatment of duodenal ulcer. *Lancet* 1985; 2:157.
8. Robert A, Nezamis JE, Lancaster C, Hanchar AJ. Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterology* 1979; 77:433-43.
9. Guth PH. Mucosal coating agents and other nonantisecretory agents. *Dig Dis Sci* 1987; 32:647-54.
10. Vallee BL. Zinc biochemistry in normal and neoplastic growth processes. *Experientia* 1977; 33:600-2.
11. Wong SH, Cho CH, Ogle CW. Protection by zinc sulphate against ethanol-induced ulceration: Preservation of the gastric mucosal barrier. *Pharmacology* 1986; 33:94-102.
12. Dupuy D, Szabo S. Protection by metals against ethanol-induced gastric mucosal injury in the rat. *Gastroenterology* 1986;91:966-74.
13. Esplugues JV, Bulbena O, Escolor G, Martí-Bonnati E, Esplugues J. Effects of zinc acexamate on gastric mucosal resistance factors. *Eur J Pharmacol* 1985; 109:145-51.
14. Chvapil M, Ryan JN, Zukosky CF. Effect of zinc on lipid peroxidation in liver microsomes and mitochondria. *Proc Soc Exp Biol Med* 1972; 141:150-3.
15. Chvapil M, Ryan JN, Elias SL, Peng YM. Protective effects of zinc on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats. *Exp Mol Pathol* 1973; 19:186-96.
16. Yamaguchi M, Yoshino T, Okada S. Effect of zinc on the activity of gastric secretion in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1980; 54:526-30.
17. Purunen J. Effect of prostaglandin E2 cimetidine and atropine on ethanol-induced gastric mucosal damage in rat. *Gastroenterology* 1980; 15:485-8.