

# Açlığın Oksidan Stres Üzerine Olan Etkisi

## THE EFFECT OF FASTING ON THE OXIDANT STRESS

Fatma ÇAĞLAYAN\*, Osman ÇAĞLAYAN\*\*, Engin GÜNEL\*\*\*, Murat ÇAKMAK\*\*\*\*

\* Yrd.Doç.Dr., Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi AD, KIRIKKALE

\*\* Doç. Dr., Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, KIRIKKALE

\*\*\* Doç. Dr., Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi AD, KONYA

\*\*\*\* Doç. Dr., Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Cerrahisi AD, KIRIKKALE

### Özet

Kalori kısıtlamasının ve bazı çalışmalarda bildirildiği gibi açlığın, antioksidan etkisi bulunmaktadır. Elektif cerrahi operasyonlar öncesi uygulanan kısa süreli açlığın fonksiyonel etkilerinin yanısıra metabolik etkilerinin de ortaya konması gereklidir. Ratlarda 48 saatlik açlığın oksidan stres üzerine olan etkisini ortaya koymak için bu çalışma gerçekleştirildi.

Toplam 25 adet rat, 48 saat süreyle su kısıtlaması olmaksızın aç bırakıldı. Başlangıçta, 24. ve 48. saatlerde kan örnekleri alındı. Bu örneklerde plazma malondialdehit (MDA) düzeyleri ölçüldü.

Başlangıç, 24. ve 48. saatlerdeki plazma MDA düzeyleri sırasıyla  $8.09 \pm 1.78$ ,  $6.86 \pm 2.51$  ve  $4.47 \pm 1.62$  nMol/ml şeklindeydi.

Çalışmamızda, 48 saatlik açlık ratlarda artan bir şekilde oksidan stresi azaltmaktadır. Bu azalma 48. saatte en belirgin hale gelmektedir. Öte yandan, açlığın hem glutasyon düzeyini azalttığı, hem de antioksidan enzimleri etkilediği rapor edilmiştir. Sınırlı süreli açlık, oksidan stres kaynağı varlığında serbest radikal artışına yol açtığı söylenmekle birlikte, bazal şartlarda antioksidan etkilidir.

**Anahtar Kelimeler:** Açlık, Oksidan stres, Antioksidan, Malondialdehit

T Klin Tıp Bilimleri 2001, 21:374-376

### Summary

Calorie restriction and starvation, as noted by some investigators, have antioxidant effect. It is necessary to disclose the metabolic effects beside functional effects of the short term fasting applied before elective surgical operations. This study was performed to investigate the effect of 48 hours of fasting on oxidant stress in rats.

Totally 25 rats were fasted along 48 hours without water restriction. Blood samples were taken at the beginning, and at the 24th and 48th hours of fasting. Plasma malondialdehyde (MDA) levels were measured in those samples.

Plasma MDA levels of the initial, 24th and 48th hours samples were  $8.09 \pm 1.78$ ,  $6.86 \pm 2.51$  and  $4.47 \pm 1.62$  nMol/ml respectively.

In our study, 48 hours of starvation reduced oxidant stress increasingly. This reduction was manifested at the 48th hour. Also, it has been reported that starvation decreases the level of the glutathione and influences the antioxidant enzymes. Although, limited time of starvation has been accused of leading to increased free radical production in the presence of an oxidant stress source, it has antioxidant effect on basal conditions.

**Key Words:** Starvation, Oxidant stress, Antioxidant, Malondialdehyde

T Klin J Med Sci 2001, 21:374-376

Organizmanın sağlıklı bir şekilde hayatini sürdürülebilmesi için dengeli beslenme gereklidir. Ancak alınan besinlerin ihtiyaç kadar olup olmadığı tartışmalıdır. Özellikle gıda maddesi temininde problem yaşamayan canlılarda tüketilecek miktarı ihtiyaçla dengeleyen sıkı bir kontrol mekanizmasının olmadığı görülmektedir. Gelişmiş toplumlarda hızla artan şişmanlık oranı ve özel bakım altındaki hayvanların doğadaki vahşi türdeşlerinden daha kilolu olmaları bunun en somut göstergeleridir. Şişmanlık, ihtiyaç

fazlası kalorinin organizmada depolanmasının sonucudur. İnsanlarda ve diğer canlı türlerinde vücut homeostazını bozmadan alınan kalori miktarı kısılanabilir. Bu kalori kısıtlamasının, kilo alımını önlemenin yanı sıra yaşlanmanın gecikmesi ve yaşlanmaya bağlı çeşitli patolojilerin önlenmesi gibi etkilerinin de olduğu görülmüştür (1,2). Bu etkileri açıklamak için ileri sürülen mekanizmaların başında enerji kısıtlamasının oksidan stresi azaltıcı etkisi üzerinde durulmaktadır (3).

Kalori kısıtlamasının çok ileri bir düzeyi olan açlığın metabolik etkileriyle ilgili bulgular ise çok kesin değildir. Organizmanın metabolik dengesini çok fazla etkilemeyen belirli süre açlığın bazı organlar üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Özellikle organlardaki oksidan stres ve an-

**Geliş Tarihi:** 08.12.2000

**Yazışma Adresi:** Dr.Fatma ÇAĞLAYAN  
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Çocuk Cerrahisi AD, KIRIKKALE

tioksidan kapasite üzerine açlığın etkileri incelenmiş, olumlu ve olumsuz yönde çeşitli sonuçlar elde edilmiştir (4-6).

Elektif cerrahi vakalarda operasyon öncesi hastalar belirli bir süre aç bırakılmaktadır. Üst gastrointestinal sistemin boşalması amacıyla uygulanan bu kısa süreli açlığın fonksiyonel etkileri bilinmemekte ancak metabolik etkileri üzerinde durulmamaktadır. Bu uygulamanın metabolik yönden faydalı olup olmadığı, faydalı ise optimize edilmesi için konunun aydınlatılması zorunludur.

Çalışmamızda, 48 saatlik açlığın ilave bir faktör olmaksızın ratlarda sistemik oksidan stres üzerine olan etkisi araştırıldı. Bu etki, plazma malondialdehit (MDA) düzeyleri ile takip edildi.

### Gereç ve Yöntem

Ağırlıkları 100-150 g arasında olan 25 adet rat, kuyruk venlerinden birinci kan örnekleri alındıktan sonra 48 saat süreyle aç bırakıldı. Su kısıtlaması yapılmadı. 24. ve 48. saatlerde ikinci ve üçüncü kan örnekleri alındı. Heparinli olarak alınan kanlar derhal santrifüj edilip plazmaları ayrıldı ve bekletilmeden plazma lipid peroksit düzeyi MDA olarak ölçüldü (7). Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SPSS for Windows 6.0 programı kullanıldı. Tekrarlayan ölçümler ANOVA sonucu, ölçüm ortalamaları farklı bulunduğundan ( $p<0.05$ ), farklılığın kaynağını belirlemek için Bonferroni düzeltilmeli paired t testi uygulandı.

### Bulgular

0, 24 ve 48. saatlerdeki plazma MDA düzeyleri sırasıyla  $8.09\pm 1.78$ ,  $6.86\pm 2.51$  ve  $4.47\pm 1.62$  nMol/ml şeklindeydi (Tablo 1). 24. saatteki MDA düzeyi başlangıca göre anlamlı farklılık göstermezken 48. saat MDA düzeyi hem başlangıç, hem de 24. saat değerlerinden anlamlı şekilde düşüktü ( $p<0.005$ ).

### Tartışma

Kalori kısıtlamasının oksidan stresi azaltıcı etkisi pek çok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (8,9). İki hafta süreyle sınırlı diyetle beslenen ratlarda solunum havasındaki lipid peroksidasyon son ürünlerinden olan etan konsantrasyonu belirgin şekilde azalmıştır (1). Öte yandan, bu şekilde beslenen ratların karaciğerinde thiobarbituric acid reactive substance ve lipofussin düzeyinin normalden daha az olduğu, karaciğer dokusundaki antioksidan enzimlerden olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz'ın (GPX) transkripsiyonlarının arttığı tespit

edilmiştir (8). Masoro'nun (2), diet kısıtlamasının hayatı uzatıcı etkisini açıklamak için ortaya attığı metabolik modele göre, serbest radikal reaksiyonlarını, protein turnover'ni ve endokrin regülasyonunu düzenleyen çeşitli anahtar metabolik prosesler kalori azalmasından etkilenmektedir. Bu etkilenme, gen transkripsiyonu safhasından başlamaktadır.

Açlıkla ilgili çalışmalarda öncelikle deney süresinin oldukça kısa tutulması gereklidir. Organizmanın açlığa dayanma gücü yağ asidi kaynağı olan trigliserit depolarıyla orantılıdır (10). Besin maddelerinin mutlak yokluğu, belirli süre sonunda deney şartlarını değiştirici etkiler doğuracaktır. Açlıkta metabolik reaksiyonlar daha farklı seyretmekte, dolayısıyla sonuçları diyet kısıtlamasından farklı olmaktadır. Enerji kaynağı olarak yağ asitlerinin artmış oksidasyonu  $H_2O_2$  üretimini arttırmaktadır (11). Öte yandan açlık, kesin olarak hücre içi ATP depolarını azaltmaktadır. Bu enerji açığı, hücredeki çeşitli metabolik yolları etkilediği gibi elektrolit dengesini de bozmaktadır (12).

Açlık sonucu hücre içi glutatyon (GSH) düzeyi azalması çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur (4,6,13,14). Bundan, glukoz azlığına bağlı olarak, pentoz fosfat yolu aktivitesinin azalması sorumludur. Çünkü NADPH yetersizliği redükte GSH rejenerasyonunu azaltmaktadır (13). Özellikle, bir oksidan stres kaynağının tabloya eklendiği durumlarda GSH azalması daha belirgin olmakta ve daha fazla serbest radikal açığa çıkmaktadır (13,15).

Aç ratların dokuları iskemi-reperfüzyon hasarına daha hassas olmaktadır (4). %100 oksijen verilen aç farelerin akciğerlerinde daha fazla hasar oluşmakta ve daha erken ölmektedir. Bu farelerin 72 saatlik açlık sonrası akciğer GSH düzeyleri normalden %41 azalmıştır. Oksijen konsantrasyonu %100'e çıkarıldığında GSH azalması çok daha fazla olmaktadır (13). Benzer şekilde 72 saat aç kalan ratların eritrositleri de  $H_2O_2$ 'ye bağlı GSH azalmasına normalden daha hassas bulunmuştur (6).

Aç bırakılan deney hayvanlarının çeşitli dokularındaki antioksidan enzim aktivitelerinde de değişiklikler tespit edilmiştir. Ancak bu değişiklikler her zaman aynı yönde bulunmamıştır. Baker ve arkadaşlarının (16), çalışmasında 72 saat açlık sonrası rat ince bağırsak dokusunda SOD, CAT ve GSH siklusunda azalma tespit edilmiştir. SOD mRNA'sı azalmışken CAT ve GPX mRNA'sı değişmemiştir. Ancak Langkamp ve arkadaşları (5) aç bırakılan ratların ince bağırsaklarının iskemi-reperfüzyon hasarına daha dirençli olduğunu bulmuştur. Wohaieb ve arkadaşları (6), ratlarda yaptıkları çalışmada açlığın antioksidan enzimler üzerine olan etkilerinin dokular arasında farklılık gösterdiğini bulmuşlardır. Buna göre, CAT, kalp ve pankreasta artarken karaciğerde azalmaktadır. SOD ise kalp dokusunda azalırken böbrek ve pankreasta artmaktadır. Smith ve arkadaşları (13) aç farelerin akciğerlerinde SOD ve CAT aktivitelerinin anlamlı değişmediğini göstermişlerdir. Koyunlar üzerinde yaptıkları çalışmada Gaal ve arkadaşları

**Tablo 1.** Plazma malondialdehit (MDA) düzeyleri (n:25)

	Başlangıç	24. saat	48. saat
MDA düzeyi (nMol/ml)	8.09±1.78	6.86±2.51	4.47±1.62*

\*Hem başlangıç, hem de 24. saat değerinden anlamlı düşük ( $p<0.005$ )

(17) açlığın eritrositlerde antioksidan enzim düzeylerini arttırdığını bildirmişlerdir.

Bu birbirinden farklı enzim aktivite değişikliklerinin yanı sıra açlığın antioksidan özelliğini ortaya koyan bazı çalışmalar da yayınlanmıştır. Yeğen ve arkadaşları (18), açlığın plazma lipid peroksit düzeyinde hafif bir azalmaya yol açtığını bildirmişlerdir. 72 saatlik açlık sonrası rat eritrositlerinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e bağlı MDA üretimi kontrol grubunda daha düşük gerçekleşmiştir (6). Habib ve arkadaşları (1), 15 saatlik açlıkla 2 haftalık gıda kısıtlamasını karşılaştırmışlardır. Solunum havasındaki etan atılımı her iki grupta da kontrole göre azalmakla birlikte ikincisinde daha düşüktür. Ancak %100 oksijen uygulandığında etan düzeyi sadece aç grupta kontrolden düşük gerçekleşmiştir. Bizim çalışmamızda da açlığın antioksidan etkili olduğu gösterilmiştir. Ratlarda 48 saatlik açlık plazma MDA düzeyini azaltmıştır. Bu azalma 24. saatte anlamlı olmamakla birlikte 48. saatte istatistiki olarak çok anlamlıydı. 48. saat MDA değeri hem başlangıç, hem de 24. saat değerinden daha düşüktü. Gaal ve arkadaşları (17), koyunlar üzerinde yaptıkları çalışmada bizim bulgularımızın aksine açlıkta plazma MDA düzeyinin yükseldiğini bulmuştur. Canlıların metabolik aktivitelerinin ve normal beslenme rejimlerinin değişik oluşu açlığa bu tür farklı cevaplar vermelerini açıklayabilir.

Sonuç olarak şunu söyleyebiliriz ki; enerji kısıtlaması ve sınırlı süreli açlıkta bir oksidan stres kaynağı varlığında organizmanın buna karşı koyucu cevabı yetersiz kalabilmektedir ve normalden daha fazla serbest radikal artışı olabilmektedir. Ancak, sınırlı süreli açlık bazal şartlarda bazı canlı türlerinde organizmanın total oksidan stres düzeyini azaltmaktadır.

#### KAYNAKLAR

- Habib MP, Dickerson F, Mooradian AD. Ethane production rate in vivo is reduced with dietary restriction. *J Appl Physiol* 1990; 68:2588-90.
- Masoro EJ. Nutrition and aging: a current assessment. *J Nutr* 1985; 115:842-8.
- Harman D. The free-radical theory of aging. In: Warner RN, Butler RL, Sprott RL, Schneider EL. eds. *Modern Biological Theories of Aging*. New York: Raven Press, 1987: 81-7.
- Vreugdenhil PK, Marsh DC, Mack VE, Belzer FO, Southard JH. Effect of fasting on hepatocytes cold stored in University of Wisconsin solution for 24 hours. *Transplantation* 1993; 56:1454-9.
- Langkamp HB, Kubsk KA, Proctor KG. Fasting induced reduction of intestinal reperfusion injury. *J Parenter Enteral Nutr* 1995; 19:127-32.
- Wohaieb SA, Godin DV. Starvation-related alterations in free radical tissue defense mechanisms in rats. *Diabetes* 1987; 36:169-73.
- Yagi K. Lipid peroxides in hepatic, gastrointestinal, and pancreatic diseases. In: Armstrong D, eds. *Free radicals in diagnostic medicine*. New York: Plenum Press, 1994: 165-9.
- Rao G, Xia E, Nadakavukaren MJ, Rirchardson A. Effect of dietary restriction on the age-dependent changes in the expression of antioxidant enzymes in rat liver. *J Nutr* 1990; 120:602-9.
- Cadenas S, Rojas C, Perez-Campo R, Lopez-Torres M, Barja G. Caloric and carbohydrate restriction in the kidney: effects on free radical metabolism. *Exp Gerontol* 1994; 29:77-88.
- Goodman MN, Larsen PR, Kaplan MM, Aoki TT, Young VR, Ruderman NB. Starvation in the rat. II. Effect of age and obesity on protein sparing and fuel metabolism. *Am J Physiol* 1980; 239:E277-86.
- Crescimanno M, Armata MG, Rausa L, Gueli MC, Nicotra C, D'Alessandro N. Cardiac peroxisomal enzymes and starvation. *Free Radic Res Commun* 1989; 7:67-72.
- Gasbarrini A, Borle AB, Farghali H, Carceni P, Van Thiel D. Fasting enhances the effects of anoxia on ATP, Cai<sup>2+</sup> and cell injury in isolated rat hepatocytes. *Biochim Biophys Acta* 1993; 28:9-19.
- Smith LJ, Anderson J, Shamsuddin M, Hsueh W. Effect of fasting on hyperoxic lung injury in mice. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141:141-9.
- Nordstrom G, Saljo A, Li SJ, Hasselgren PO. Effects of ischemia and reperfusion on protein synthesis in livers with different glutathione levels. *Ann Surg* 1990; 211:97-102.
- Robinson MK, Rustum RR, Chambers EA, Rounds JD, Wilmore DW, Jacobs DO. Starvation enhances hepatic free radical release following endotoxemia. *J Surg Res* 1997; 69:325-30.
- Baker SS, Baker RD, Campbell C. Short-term malnutrition in neonatal rabbits: Effect on function and synthesis of free radical metabolizing enzymes in the gastrointestinal tract. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990; 11:247-53.
- Gaal T, Mezes M, Miskucz O, Ribiczey-Szabo P. Effect of fasting on blood lipid peroxidation parameters of sheep. *Res Vet Sci* 1993; 55:104-7.
- Yeğen B, Dedeoğlu A, Aytaç I, Oktay S, Yalçın AS. Effect of cold-restraint stress on glutathione and lipid peroxide levels in the liver and glandular stomach of rats. *Pharmacol Res* 1990; 22:45-8.