

## ARAŞTIRMA/RESEARCH

# TAKSİFOLİNİN SIÇANLARDA AKRİLAMİDLE İNDÜKLENEN MİDE HASARINA KARŞI KORUYUCU ETKİSİNİN HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRİLMESİ

Orhan ÇİMEN\*

Alınış Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
18.09.2020	27.09.2020	30.09.2020

### Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:

Çimen O. Taksifolinin sıçanlarda akrilamidle indüklenen mide hasarına karşı koruyucu etkisinin histopatolojik değerlendirilmesi. Anadolu Hemşirelik ve Sağlık Bilimleri Dergisi, 2020; 23(3): 418-422.

DOI: 10.17049/ataunihem.796766

### ÖZ

**Amaç:** Akrilamid; fırın, ızgara veya kızartma gibi yüksek sıcaklıkta pişirilen karbonhidratlı gıdalarda ortaya çıkan suda çözünen bir vinil monomerdur. Bu şekildeki beslenme sonrası gastrointestinal sistem organları yüksek Akrilamid düzeyine maruz kalırlar. Akrilamid'in neden olduğu kimyasal oksidatif mide hasarının tedavisinde antioksidan ve antiinflamatuvar ilaçların faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Kuvvetli bir antioksidan olan Taxifolin (3,5,7,3,4-pentahidroxy flavanone veya dihydroquercetin), turunçgiller ve soğanda bol miktarda bulunan bir flavonoiddir. Taxifolin'in albino Wistar türü erkek sıçanlarda Akrilamid ile tetiklenen mide harabiyetine karşı koruyucu etkisini histopatolojik açıdan ortaya koymaktır.

**Yöntem:** Deneysel araştırmamız 280-295 gram tartılan 18 adet albino wistar türü erkek sıçanlar ile yapılmıştır. Deney hayvanları sağlıklı, tek başına acrylamid ve taksifolin + acrylamid uygulanan üç farklı gruba ayrıldı. İlaç uygulamaları gavaj yardımı ile oral yoldan yapıldı. Çıkarılan mide dokularını histopatolojik açıdan değerlendirildi. Mide dokusunda tespit edilen; Ödem, Destruksiyon, Dilate-Konjesyone Kan Damarları şiddetine göre artan şiddeti göstermek üzere 0 ile 3 arasında puanlama yapılarak değerlendirilmeye tabi tutuldu. Histopatolojik karşılaştırma için Kruskal-Wallis testi kullanıldı.

**Bulgular:** Akrilamid'in, besinlerin ilk temas ettiği organ olan mide dokuları üzerinde meydana getirdiği değişiklikler yeterince irdelenmemiştir. Araştırmamızda, Taxifolin'in sıçanlarda Akrilamid ile tetiklenen mide harabiyetine karşı koyucu işlevini histopatolojik açıdan araştırıldı. Akrilamid'in oral yoldan verildiği hayvanların mide mukozasında belirgin destrüksiyon ve ödeme, mide serozasında gözle görülür dilate-konjesyone kan damarlarının ortaya çıkmasına neden olduğu sonucuna varılmıştır.

**Sonuç:** Taxifolinin çeşitli organ dokularında oksidan miktarının artışı ve antioksidan miktarının azalmasını durdurmasının, dokuları oksidatif hasardan koruduğu belirtilmiştir. Taksifolin'in; Akrilamid'in neden olduğu mide toksisitesinin tedavisinde faydalı olabileceği düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Akrilamid; hayvan deneyi; mide hasarı; taksifolin.

### ABSTRACT

#### **Histopathological Evaluation of the Protective Effect of Taxifoline Against Stomach Damage Induced by Acrylamide in Rats**

**Aim:** Acrylamide is a water-soluble vinyl monomer that occurs in high-temperature carbohydrate foods such as oven, grill, or roast. After such feeding, the gastrointestinal tract organs are exposed to high levels of Acrylamide. It suggests that antioxidant and anti-inflammatory drugs may be useful in the treatment of chemical oxidative stomach damage caused by acrylamide. Taxifolin (3,5,7,3,4-pentahydroxy flavone or dihydroquercetin), a potent antioxidant, is an abundant flavonoid in citrus fruits and onions. In this study, our aim is to demonstrate histopathologically the protective effect of Taxifolin against acrylamide-induced gastric injury in male rats of albino Wistar species.

**Methods:** Our experimental research was conducted with 18 male albino wistar rats weighing 280-295 grams. The experimental animals were divided into three different healthy groups treated with Acrylamide alone and Taxifolin + Acrylamid. The medication was administered orally with the aid of a gavage. The gastric tissues removed were evaluated histopathologically. Detected in stomach tissue; Edema, Destruction, Dilated-Congested Blood Vessels were evaluated by scoring between 0 and 3 to show the increasing severity. Kruskal-Wallis test was used for histopathological comparison.

**Results:** The changes caused by acrylamide on the stomach tissues, which are the first contact of food, have not been adequately examined. In our study, the function of Taxifolin against acrylamide-induced gastric injury in rats was investigated histopathologically. It was concluded that the animals given acrylamide orally caused marked destruction and edema in the gastric mucosa and visible dilated-congested blood vessels in the gastric serosa.

**Conclusions:** It has been stated that the fact that taxifolin stops the increase in the amount of oxidant and the decrease in the amount of antioxidant in various organ tissues, protecting the tissues from oxidative damage. Taxifolin is thought to be useful in the treatment of stomach toxicity caused by Acrylamide.

**Keywords:** Acrylamid; animal study; gastric damage; taxifolin.

\***Sorumlu Yazar:** Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi AD, (Dr. Öğretim Üyesi), ORCID ID: 0000-0003-4723-5838, e posta: [orhancimen24@hotmail.com](mailto:orhancimen24@hotmail.com)

## GİRİŞ

Akrilamid (AKR) tarihte ilk kez 1893 yılında kimyasal olarak Almanya’da Christian Moureau tarafından keşfedilmiştir (1). İlerleyen zamanlarda, bir takım gıdaların içerisinde çeşitli oranlarda AKR tespit edildi (2). AKR su arıtma, kozmetik endüstrileri, kâğıt üretimi, endüstriyel ve laboratuvar alanlarında kullanılan, suda çözünen bir vinil monomerdır (3). Fırın, ızgara veya kızartma gibi yüksek sıcaklıkta pişirilen karbonhidratlı gıdalarda ortaya çıkar. Patates cipsi ve patates kızartmasında yüksek AKR düzeyleri bildirilmiştir (4). Bu sebeple, vucutta en yüksek AKR düzeyine maruz kalan kısım gastrointestinal sistem (GIS) organlarıdır (5).

AKR’in gastrik mukozaya toksik etkileri daha önce yapılan bazı çalışmalarda histopatolojik olarak ortaya konmuştur (6).Yapılan diğer bir çalışmada, AKR’in mide dokusunda oksidatif stres, yaygın enflamatuvar infiltrasyon, mukozal erozyonlar ve koruyucu yüzey mukusunun yok olmasına neden olduğu tespit edilmiştir (7). Kazanılan bu literatür bilgileri AKR’in neden olduğu mide hasarının tedavisinde antioksidan ve antiinflamatuvar ilaçların faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Flavanoidler antioksidan olarak birçok deneysel araştırmada kullanılmıştır. Taksifolin (3,5,7,3,4-pentahidroksi flavanon veya dihidrokuarsetin), turunçgiller ve soğanda bol miktarda bulunan bir flavonoiddir (8). Literatürde flavonoidlerin, reaktif oksijen türlerinin (ROS) meydana gelmesinden sorumlu enzimatik süreçleri durdurduğu bildirilmiştir (9). Taksifolin’in bazı organ dokularında oksidan artışını ve antioksidan azalmasını durdurarak dokuları oksidatif olumsuz etkilerden koruduğu rapor edilmiştir (10-12). Bu çalışmada; AKR ile oluşturulan mide hasarında, Taksifolin’in koruyucu etkisinin olup olmadığını, sıçanlarla oluşturulan deneysel bir hayvan modeli ile histopatolojik açıdan ortaya koymayı amaçladık.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Deneysel araştırmamız 280-295 gram ağırlığında 18 adet Albino Wistar türü erkek sıçanlar ile yapılmıştır. Hayvanların tamamı Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi’nden temin edilmiştir. Hayvanların ortama uyum sağlayabilmeleri için deneyin uygulandığı ortam şartlarında bir hafta süre ile normal oda sıcaklığında (22°C) kalması ve beslenmesi sağlanmıştır. Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Kurulu’ndan 27.02.2020 tarih ve 9 karar numarası ile etik kurul onayı alınmıştır. Deneyde kullanılan

Thiopental sodium (IE Ulagay-Türkiye), Taksifolin (Evalar-Rusya), Acrylamid (Sigma Aldrich Chemical Company,USA) tarafımızca temin edildi.

Deney hayvanları sağlıklı (SG), tek başına Acrylamid (AKR) ve Taksifolin + Acrylamid (TAKR) uygulanan ve altışar denekten oluşan üç farklı gruba ayrıldı. TAKR grubuna taksifolin 50 mg/kg dozunda oral olarak, gavajla mideye uygulandı. AKR ve SG gruplarına ise aynı miktarda çözücü olarak distile su yine oral yoldan verildi. Taksifolin ve distile su uygulandıktan bir saat sonra TAKR ve AKR gruplarına acrylamid 20 mg/kg dozda yine oral gavaj ile verildi. Bu uygulama her gün bir defa 30 gün süre ile tekrar edildi. 30 gün bitiminde, hayvanlar yüksek doz anestezi (50 mg/kg Tiyopental Sodyum) ile sakrifiye edilerek mide dokuları çıkarıldı. Elde edilen mide dokuları histopatolojik açıdan değerlendirildi. Normal ve AKR’e maruz kalan mide dokusunun kıyaslanması için AKR ve SG gruplarının histopatolojik sonuçları karşılaştırıldı. Ayrıca, Taksifolin’in koruyucu etkisinin olup olmadığını incelemek için AKR ve TAKR gruplarının histopatolojik sonuçları da karşılaştırıldı.

Sıçanlardan elde edilen mide dokuları %10 oranında formalin solüsyonu içinde 24 saat süre ile tespit (fikse) edildi. Rutin doku takip neticesinde parafin bloklardan 4 mikron kalınlığında kesitler alındı ve Hematoksilin & Eozin ile boyamaya tabi tutuldu. Gruplara uygulanan tedavi süreçlerini bilmeyen iki patoloğ tarafından tüm kesitler ışık mikroskobu altında (Olympus BX 52, Tokyo, Japonya) incelendi. Mide dokusunda tespit edilen; ödem, destrüksiyon, vasküler dilatasyon ve konjesyon şiddetine göre 0-3 arasında skor verilerek değerlendirmeye tabi tutuldu.

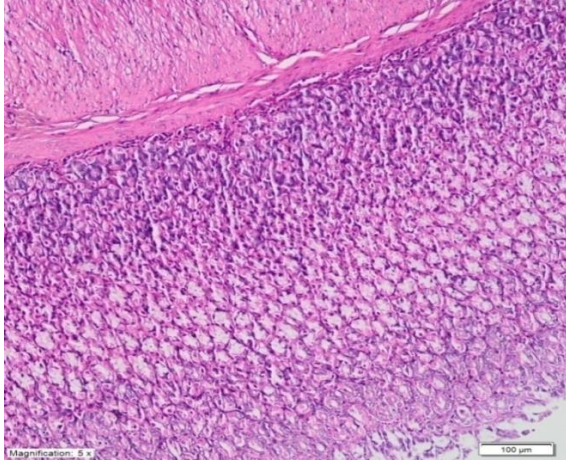
Histopatolojik skorların karşılaştırılması için Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Tüm istatistiksel analizler SPSS İstatistik Versiyon 20 programı kullanılarak çalışıldı ve skora sonucunda gruplar arası karşılaştırmada  $p < 0.05$  değeri, gruplar arasında anlamlı farklılık olarak kabul edildi.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

SG grubunun mide dokusunun histopatolojik incelemesinde normal mikroskopik görünüm tespit edildiğinden skora sonucunda, tüm parametreler için 0 olarak kabul edildi (Resim 1).

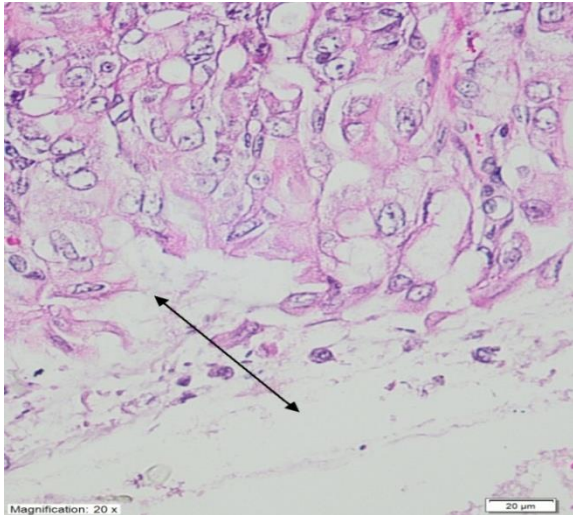
AKR uygulanan hayvanların mide mukozasında histopatolojik olarak belirgin destrüksiyon ve ödemin geliştiği saptanmıştır

(Resim 2). Ayrıca, AKR verilen hayvanların mide serozasında belirgin dilate konjesyone kan damarları gözlemlenmiştir (Resim 3).



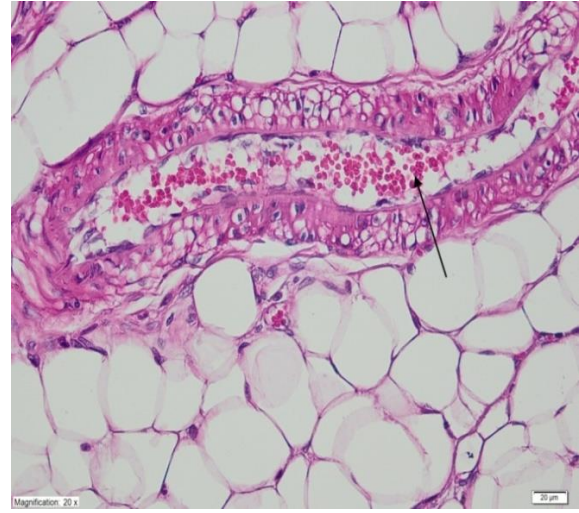
**Resim 1.** SG grubunda mide dokusunun normal histopatolojik görünümü

Taksifolin ile tedavi edilen hayvanların mide kas tabakasında hafif dilate konjesyone kan damarları dışında normale yakın görünüm izlenmiştir (Resim 4). Tüm parametreler TAKR ve AKR grupları arasında karşılaştırıldığında skorlar, AKR grubunda TAKR grubuna göre ödem ve destrüksiyon için belirgin yüksekti ve bu durum istatistiksel olarak da anlamlıydı ( $p < 0.05$ , Tablo 1). Fakat dilatasyon ve konjesyon açısından TAKR grubunda skor AKR grubuna göre daha düşük olmasına rağmen bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $p > 0.05$ , Tablo 1).

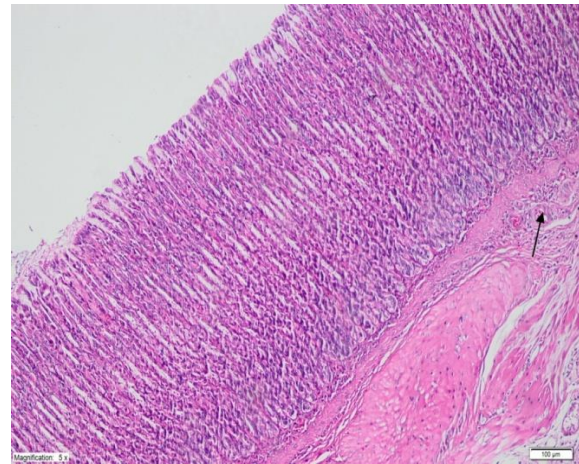


**Resim 2.** AKR grubundaki hayvanların mide mukoza dokusunda histopatolojik görünüm. Belirgin destrüksiyon ve ödem alanları (siyah ok)

Araştırmamızda, Taksifolin'in sıçanlarda AKR ile tetiklenen mide harabiyetine karşı koyucu etkisinin olup olmadığı histopatolojik açıdan araştırılmıştır. AKR'in hayvanlara oral yoldan verildiğinde mide mukozasında belirgin destrüksiyon ve ödeme, mide serozasında belirgin şekilde kan damarlarında dilatasyon ve konjesyona neden olduğu tespit edilmiştir. Daha önce yapılan bir çalışmada, 25 ve 50 mg/kg dozlarda sıçanlara verilen AKR'inin; 3 gün sonunda mide yüzey epitelinde harabiyete, düşük derecede iltihabi hücre infiltrasyonuna ve mast hücre degranülasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Ayrıca; toksisitenin, uygulanan doz ve uygulanan zamana bağlı olarak şiddetlendiği vurgulanmıştır (11).



**Resim 3.** AKR grubunda mide seroza dokusunda belirgin dilate konjesyone kan damarlarının histopatolojik görünümü (Siyah ok)



**Resim 4.** Taksifolin ile tedavi edilen hayvanların mide kas tabakasında histopatolojik görünüm. Hafif dilate konjesyone kan damarları dışında normale yakın görünüm (siyah ok)



Yapılan başka bir araştırma da ise, dört hafta boyunca 30 mg/kg dozda uygulanan AKR sıçanların mide mukozasında yüzey epitelinde kayıp, iltihabi hücre infiltrasyonu, kanama, parietal ve şef hücrelerinde sayıca azalma ve vakuolizasyon gibi etkilere sebebiyet verdiği belirtilmiştir (7).

Altınöz ve arkadaşlarının (12) gerçekleştirdiği deneysel çalışmada sıçanlara 21 gün süre ile 25 mg/kg dozunda AKR tatbik edilmesiyle barsak dokusunda oksidatif hasar meydana geldiği ve plazma glutatyon düzeylerinin azaldığı, ayrıca barsak epitelinde de hasar olduğu tespit edilmiştir. Bir diğer çalışmada

da içme suyu içerisinde hayvanlara 12 hafta süresince 500 µg/kg dozunda AKR uygulanmış ve kalın barsaklarda oksidatif stresin kademeli olarak artarak doku hasarı meydana getirdiği bildirilmiştir (13). AKR, gastrointestinal sistem içerisinde GST/GSH (Glutatyon kompleksi) yapısıyla konjuge edilerek AKR-Glutatyon kompleksine dönüşmekte ve sindirim kanalı dokularının AKR'nin olumsuz etkilerinden uzaklaşmasına katkı sağlamaktadır (14). Ancak AKR'in sindirim kanalı boyunca sağlıklı ve doğru konjuge edilebilmesi, yüksek ihtimal ile dokunun GST aktivite ve GSH seviyelerine bağlıdır.

**Tablo 1.** Grupların Histopatolojik Skorları ve Bu Skorların İstatistiksel Olarak Karşılaştırılması

Gruplar	Histopatolojik Bulgular		
	Ödem Skoru	Destrüksiyon Skoru	Dilatasyon Konjesyon Skoru
SG	0	0	0
AKR	2.80±0.01	2.90±0.02	2.90±0.04
<i>p</i> <sub>1</sub>	0.001	0.001	0.001
T+AKR	1.01±0.02	1.01±0.01	2.10±0.01
<i>p</i> <sub>2</sub>	0.001	0.001	0.118

*p*<sub>1</sub>: SG ve AKR grup skorlarının Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırılması sonucu oluşan *p* değeri, *p*<0,05 anlamlıdır.

*p*<sub>2</sub>: AKR ve T+AKR grup skorlarının Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırılması sonucu oluşan *p* değeri, *p*<0,05 anlamlıdır.

Literatürde, antioksidan ve anti kanserojen özelliğe sahip moleküllerden zengin olan sebze ve meyvelerin yeterli miktarda alınmasının, tüketilen toksik ve kanserojen maddelerin sindirim kanalında GSH ile konjugasyonunu ve vücut dışına atılımını artıracığı bildirilmiş sonuç olarak vücudumuza verebileceği olumsuzluklardan koruyabileceği bildirilmiştir (15).

### SONUÇ VE ÖNERİLER

AKR'in mide toksisitesine karşı koruyucu etkisini araştırdığımız Taksifolin, turunçgiller ve soğanda yüksek oranda bulunan bir flavonoiddir (8).Literatürde flavonoidlerin, ROS meydana gelmesinde görevli enzimatik reaksiyonları durdurduğu rapor edilmiştir (9).Taksifolin'in çeşitli organ dokularında oksidan miktarının azaltıp antioksidan miktarını artırarak, dokuları oksidatif hasardan koruduğu bildirilmiştir (10-12).Flavonoid ve benzeri antioksidan içeren gıdaların çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisi amacı ile alınması, tüm dünyada sürekli yaygınlaşmaktadır. Gıdalar ile yüksek oranlarda alınan ve insan sağlığı açısından faydalı olan birçok ikincil metabolitlerin sınıfını

temsil eden flavonoidler artan şekilde araştırma konusu olmuştur. Flavonoidlerin hücre koruyucu ve antioksidan etkisi ile mide koruyucu olarak azımsanmayacak birçok farmakolojik özelliğe sahip olduğu daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (16).

Sonuç olarak; AKR'in, sıçanlarda mide dokusunda harabiyete sebep olduğu histopatolojik olarak gösterilmiştir. Çalışmamız neticesinde; Taksifolin'in, AKR'in neden olduğu mide hasarının önlenmesinde etkili olduğunu deneysel olarak gösterdik. Daha sonraki yıllarda, antioksidanların faydalı olabileceği düşünülen diğer hastalıklar için yapılacak çalışmalarda (örneğin batın cerrahisi sonrası oluşan bridler ve diğer postopertif komplikasyonların engellenmesi için deneysel (17) veya insan modellerinde) Taksofilin'in kullanılması ile bu etki daha iyi anlaşılacaktır.

**Teşekkür:** Patoloji değerlendirmeleri açısından Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji AD.'dan Dr. Öğr. Üyesi Ferda Keskin Çimen'e ve deney aşamalarında yardımını esirgemeyen Erzincan Binali Yıldırım

Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakoloji AD.'dan Prof. Dr. Halis Süleyman'a teşekkür ederim.

**Çıkar Çatışması:** Araştırma ve katkı açısından yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

## KAYNAKLAR

1. Kısabay A, Korkmaz T, Çakıroğlu E, Selçuki D. Kısa süreli akrilamid maruziyeti sonucu gelişmiş toksik polinoropati olgusu. *CausaPedia* 2004; 3: 701-2.
2. Arusoğlu G. Akrilamid Oluşumu ve İnsan Sağlığına Etkileri. *Akademik Gıda* 2015; 13 (1): 61-71.
3. Sharma A, Sharma R, Jain J. Biochemical changes in the albino mice orally exposed to acrylamide. *Maejo International Journal of Science and Technology* 2008; 2: 542-50.
4. Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S, Törnqvist M. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated food stuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2002; 5: 4998-5006.
5. Zödl B, Schmid D, Wassler G, Gundacker C, Leibetseder V, Thalhammer T, Ekmekcioglu C. Intestinal transport and metabolism of acrylamide. *Toxicology* 2007; 232: 99-108.
6. Morini G, Grandi D. Methods to Measure gastric mucosal lesions in therat. *Current Protocols in Toxicology* 2010; 43 (2): 1212-15.
7. El-Mehi AE, El-Sherif NM. Influence of acrylamide on the gastric mucosa of adult albino rats and the possible protective role of rosemary. *Tissue Cell*. 2015;47 (3): 273-83.
8. Rice-Evans C.A, Miller N.J, Pagang G. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine* 1996;20 (7): 933-56.
9. Cotelle N. Role of flavonoids in oxidative stress. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 2001; 1(6): 569-90.
10. Unver E, Tosun M, Olmez H, Kuzucu M, Cimen F.K, Suleyman Z. The Effect of Taksifolin on Cisplatin-Induced Pulmonary Damage in Rats: A Biochemical and Histopathological Evaluation. *Mediators of Inflammation* 2019; 12: 3740867.
11. Sabo J. I, Djolai M, Zivojinov M, Fejsa A.L, Mocko-Kacanski M, Amidzic J. Effects of acute exposure to orally administrate dacylamide on histological structure of stomach tissue in Wistar rat. *Virchows Archiv* 2016; 469S158-S.
12. Altinoz E, Turkoz Y, Vardi N. The protective effect of N-acetylcysteine against acrylamide toxicity in liver and small and large intestine tissues. *Bratislavske Lekarske Listy* 2015; 116 (4): 252-58.
13. Erdemli M.E, Dogan Z, Cigremis Y, Akgoz M, Altintoz E, Gecer M, et al. Amelioration of subchronic acrylamide toxicity in large intestine of rats by organic dried apricot intake. *Turkish Journal of Biology* 2015; 39 (6): 872-78.
14. Marlowe, C, Clark, M., Mast, R., Friedman, M., Waddell, W. (1986). The distribution of (14C) acrylamide in male and pregnant swiss-webster mice by whole body auto radiography. *Toxicology and Applied Pharmacology* 86, 457-65.
15. Lieshout, E.M.M.V, Bedaf M.M.G, Pieter M, Ekkel C, Nijhoff W.A, Peters W.H.M. Effects of dietary anticarcinogens on rat gastrointestinal glutathione S-transferase theta 1-1 levels. *Carcinogenesis* 1998; 11 (4): 2055-57.
16. Lira Mota K.S, Dias G.E.N, Pinto M.E.F, Luiz-Ferreira A, Souza-Brito A.R.M, Hiruma-Lima C.A, Barbosa-Filho J.M, Batista L.M. Flavonoids with Gastroprotective Activity. *Molecules* 2009; 14: 979-1012.
17. Peker K, Inal A, Sayar I, Sahin M, Gullu H, Inal DG, Isik A. Prevention of intraabdominal adhesions by local and systemic administration of immunosuppressive drugs. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 2013;15(12): e14148.