

Gebelik Dönemindeki Ratlara Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE) Uygulamasının Bazı Dokularda Oksidatif Stres Üzerine Etkileri

Evren KOÇ^{1*}, Nadide Nabil KAMILOĞLU², Yusuf ERSAN³

¹ *Kafkas Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Kars*

² *Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kars*

³ *Kafkas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kars*

8-9A

Özet: Bu çalışmada, ratlarda gebelik döneminde Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE) uygulamasının karaciğer, kalp, beyin, böbrek, böbreküstü bezi gibi bazı dokulardaki oksidatif stres üzerine etkileri araştırıldı. CAPE1 ve CAPE2 gruplarına gebelikten 10 gün önce başlanarak 10 mg/kg/gün CAPE içme suyu içinde verildi. KONTROL1 ve KONTROL2 gruplarına ise herhangi bir uygulama yapılmadı. KONTROL1 ve CAPE1 grupları gebeliğin 11. gününde, KONTROL2 ve CAPE2 grupları ise gebeliğin 21. gününde dekapite edildi. Hayvanlardan doku örnekleri alındı ve homojenize edildi. Yapılan analizler neticesinde böbrek dokusunda gebeliğin ilk ve ikinci yarısında CAPE uygulanan gruplarda Total Antioksidan Seviyeleri (TAS) seviyelerinin kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlendi ($P<0.01$). Total Oksidan Seviyeleri (TOS) bakımından incelendiğinde ise, gebeliğin ikinci yarısında CAPE uygulana grupta kalp dokusunda TOS seviyesinin gebeliğin ilk yarısına göre düşük olduğu belirlendi ($P<0.05$). Böbrek dokusunda ise gebeliğin ilk yarısında CAPE uygulanan grupta TOS seviyesinin artış gösterdiği saptandı ($P<0.01$). Sonuç olarak, gebelik döneminde CAPE uygulamasının gebeliğin ilk ve ikinci yarısında incelenen dokularda total antioksidan seviyelerini değiştirmediği, gebeliğin ikinci yarısında ise, artan oksidatif stresin CAPE uygulaması ile birlikte karaciğer ve beyin dokusu dışındaki dokularda koruyucu etkisinin belirgin olduğu tespit edildi.

Anahtar kelimeler: CAPE, oksidatif stres, karaciğer, kalp, beyin, böbrek, böbreküstü bezi.

The Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) Application on Oxidative Stress in Some Tissues During Pregnancy in Rats

Abstract: In this study, the effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) application were investigated on oxidative stress in liver, heart, brain, kidney, adrenal gland tissues during pregnancy in rats. CAPE1 and CAPE2 groups were given 10 mg/kg/day CAPE in their drinking water, starting before 10 day of pregnancy. CONTROL1 and CONTROL2 were not made any applications. CAPE1 and CONTROL1 groups at the 11th day of pregnancy and CAPE2 and CONTROL2 groups at the 21st day of pregnancy were decapitated. Tissue samples were taken from animals and homogenized. Total antioxidant status (TAS) of renal tissue in CAPE treated groups were lower than the control group on the first and the second half of pregnancy ($P<0.01$). TAS of heart tissue in CAPE treated groups were lower in the first half of pregnancy than the second half of pregnancy ($P<0.05$). Total oxidant status (TOS) of CAPE treated group increased in the first half of pregnancy in kidney tissue ($P<0.01$). As a result, application of CAPE during pregnancy was not changed TAS in the studied tissues on the first and second half of pregnancy. Pronounced protective effect of CAPE application was detected to the tissues except for liver and brain against to increased oxidative stress on the second half of pregnancy.

Keywords: CAPE, oxidative stress, liver, heart, brain, kidney, adrenal gland.

e-mail: evrenkoc@hotmail.com.tr

Giriş

Serbest radikallerin zararlı etkileri iyi biliniyor olmasına rağmen, bu ajanlar hücre fonksiyonlarının kontrolünde olumlu etkiler de oluşturabilmektedirler (Carlson et al. 1993.). Reaktif Oksijen Türleri (ROS)'nin diğer hücrel alanlardan farklı olarak, üreme sisteminde çeşitli pozitif etkilere sahip olduğu bildirilmektedir (Agarwal et al. 2006). Normal biyolojik süreçlerde yavaş gelişen ve zararlı etkileri önemsiz olmayan ROS, üreme ile ilgili olaylarda aşırı derecede yüksek reaktif moleküller olabilmektedirler (Riley ve Behrman, 1991). Oksijen radikalleri ovaryumda önemli fizyolojik etkilere sahip olmalarına rağmen, bu zararlı ajanların yıllarca düzenli olarak üretilmeleri muhtemelen buradaki antioksidan sistemin azaldığı durumlarda ovaryum için risk teşkil edebilmektedir (Behrman, et al. 2001). Antioksidanların üreme döneminde uygulanmasının üreme bozukluğu, büyüme geriliği ve hepatik metabolizma değişikliklerine karşı etkili olduğu bilinmektedir (Jeong et al. 2005). Antioksidan düzeylerinde meydana gelen azalmanın uterusu implantasyon bozukluğuna ve embriyo atımına neden olduğu bildirilmektedir (Vural et al. 2000). Antioksidanlar, organizmayı ROS'un zararlı etkilerinden koruyan önemli bir savunma sistemidir (Sugino, 2005). Son yıllarda

yapılan çalışmalar propolis maddesinin aktif bir bileşeni olan Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)'in de önemli bir antioksidan olduğunu göstermektedir (Lee et al. 2008). CAPE çeşitli bitkisel kaynaklardan elde edilen ve bal arısı propolisinin de aktif bileşeni olan, antioksidatif, antiinflatuar ve antikanserojenik bir maddedir (Chen et al. 2008). Fenil ve polihidrokarbon zinciri ile birlikte iki adet hidroksil grubu taşımaktadır. Bu yapısı sayesinde de hücre membranlarını kolaylıkla geçebilmekte ve antikanserojen, antiinflatuar ve antioksidan etki göstermektedir (Chiao et al. 1995). Bu çalışmada, ratlarda gebelik döneminde Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE) uygulamasının karaciğer, kalp, beyin, böbrek, böbreküstü bezi gibi bazı dokulardaki oksidatif stres üzerine etkileri araştırıldı.

Materyal ve Metot

Çalışmada 3-4 aylık ve 200-250 gr ağırlığındaki 32 adet Sprague-Dawley cinsi rat kullanıldı. Çalışmayla ilgili olarak Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan çalışma izni alındı (Karar Sayı No: 2010-10).

Hayvanlar iki kontrol iki deney grubu olacak şekilde ayrıldı. Deneme ve kontrol grupları iki aşamalı uygulama yapılacak şekilde oluşturuldu. İlk aşamada, CAPE1 (C1) (n=8) grubuna senkronizasyondan 10 gün önce başlanarak gebeliğin 11. gününe kadar 10

mg/kg/gün oral yolla CAPE uygulandı (Maffia et al. 2002). İkinci aşamada, CAPE2 (C2) (n=8) grubuna senkronizasyondan 10 gün önce başlanarak gebeliğin 21. gününe kadar 10 mg/kg/gün oral yolla CAPE uygulandı. KONTROL1 (K1) (n=8) ve KONTROL2 (K2) (n=8) gruplarına bu dönem boyunca uygun şartlarda tutuldu ve deneme grupları ile aynı dönemde erkek ratlarla kafese alındı. Gebeliğin 11. gününde C1 ve K1 gruplarındaki hayvanlar, 21. günde ise C2 ve K2 gruplarındaki hayvanlar dekapite edilerek doku örnekleri alındı ve homojenize edildi. Elde edilen homojenatlardan kolorimetrik yöntemle spektrofotometrede Total Antioksidan Seviyeleri (TAS) ve Total Oksidan Seviyeleri (TOS) ölçüldü.

İstatistik hesaplamalarda tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) Tukey testi kullanılarak gruplar arasındaki kıyaslandı. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma ($X \pm SD$) olarak belirlendi ve $p < 0.05$ istatistiksel farklılığı gösterdi.

Bulgular

Yapılan analizler neticesinde böbrek dokusunda gebeliğin ilk ve ikinci yarısında CAPE uygulanan gruplarda TAS seviyelerinin kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlendi ($P < 0.01$). TOS bakımından incelendiğinde ise, gebeliğin ikinci yarısında CAPE uygulanan grupta kalp dokusunda TOS seviyesinin gebeliğin ilk yarısına göre düşük olduğu belirlendi ($P < 0.05$). Böbrek dokusunda ise gebeliğin ilk yarısında CAPE uygulanan grupta TOS seviyesinin artış gösterdiği saptandı ($P < 0.01$) (Tablo 1).

Parametreler	Deneysel Gruplar			
	Kontrol 1	CAPE 1	Kontrol 2	CAPE 2
	11. gün (n=16)		21. gün (n=16)	
Karaciğer				
TAS	1.24 \pm 0.08 ^a	120 \pm 0.04 ^a	1.28 \pm 0.09 ^a	1.22 \pm 0.03 ^a
TOS	7.44 \pm 0.22 ^a	7.48 \pm 0.63 ^a	6.76 \pm 0.28 ^b	7.70 \pm 0.64 ^a
Kalp				
TAS	0.20 \pm 0.06 ^a	0.15 \pm 0.05 ^a	0.14 \pm 0.02 ^a	0.22 \pm 0.11 ^a
TOS	6.17 \pm 0.40 ^{ab}	6.84 \pm 0.83 ^a	6.28 \pm 0.38 ^{ab}	5.94 \pm 0.38 ^b
Beyin				
TAS	0.17 \pm 0.02 ^a	0.15 \pm 0.03 ^a	0.15 \pm 0.03 ^a	0.14 \pm 0.03 ^a
TOS	6.51 \pm 0.33 ^b	7.17 \pm 0.29 ^a	7.07 \pm 0.41 ^a	7.37 \pm 0.35 ^a
Böbrek				
TAS	1.17 \pm 0.07 ^a	0.68 \pm 0.07 ^c	1.20 \pm 0.04 ^a	1.02 \pm 0.09 ^b
TOS	6.74 \pm 0.74 ^b	7.74 \pm 0.56 ^a	6.90 \pm 0.48 ^b	6.83 \pm 0.32 ^b
B. Bezi				
TAS	1.57 \pm 0.06 ^a	1.54 \pm 0.10 ^a	1.59 \pm 0.01 ^a	1.48 \pm 0.17 ^a
TOS	6.33 \pm 0.65 ^a	6.59 \pm 0.82 ^a	6.26 \pm 0.62 ^a	5.96 \pm 0.54 ^a

* Aynı satırda farklı harfler istatistiksel farklılığı ifade etmektedir.

Tartışma ve Sonuç

Gebelik döneminde oksidatif strese bağlı yavru ölümlerini önlemek ve gebeliği sürdürmek, oksidan sistemin baskılanıp antioksidan sistemin kuvvetlendirilmesine bağlıdır (Rahilly et al. 1991). Gebelik öncesi dönemde ve gebelik esnasında makrofajlar ve nötrofiller önemli ROS kaynaklarıdır (Suzuki et al. 1998). Özellikle preimplantasyon ve gebeliğin ilk dönemlerinde endometriyal dokuda lökosit sayısında önemli artış meydana gelmektedir (Jones et al. 2004). Yapılan araştırmalarda da gebelik esnasında ROS seviyesinde artış, antioksidan seviyesinde de azalma meydana geldiği bildirilmektedir (Burmistrov et al. 1997). Kaya et al. (1996), gebelik sırasında ve doğumdan sonra hem lipid peroksidasyonunda hem de antioksidan seviyelerinde gebe olmayanlara oranla artış meydana geldiğini ayrıca, doğumdan sonra lipid peroksidasyon aktivitesinin, gebelik dönemine oranla daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Diğer taraftan Behne ve Wolters (1979)'da gebelerde plazma GSH-Px aktivitesinin gebe olmayanlara göre daha düşük olduğunu bildirmektedir. Yine başka araştırmalarda da (Burmistrov et al. 1997; Górecka et al. 2002) gebelik esnasında antioksidan enzim aktivitesinin azaldığı bildirilmiştir. Loverro et al. (1996), gebelik esnasında lipid peroksidasyon ürünlerinin arttığını, antioksidan enzim aktivitesinin

değişmediğini belirtmektedir. Sugino (2005), yaptığı çalışmada lipid peroksit düzeyinin gebeliğin ilk yarısında fazla değişmediğini, gebeliğin ikinci yarısında artmaya başladığını ve gebeliğin sonlarında pik düzeye ulaştığını, antioksidan düzeyinin ise gebeliğin ilk yarısında yükseldiğini ikinci yarısında önemli oranda düştüğünü bildirmiştir. Steroid hormon biyosentezinde ROS'nin artışının hormon salınımını azalttığı, düşüşünün ise hormon salınımını yükselttiği bildirilmektedir. Mevcut çalışmada da, gebelik döneminde CAPE uygulamasının gebeliğin ilk ve ikinci yarısında incelenen dokularda total antioksidan seviyelerini değiştirmediği, bu sonucun CAPE'nin antioksidan koruma mekanizmalarını destekleyici etki göstermesi nedeniyle olabileceği düşünülmektedir. Gebeliğin ikinci yarısında ise, artan oksidatif stresin CAPE uygulaması ile birlikte karaciğer ve beyin dokusu dışındaki dokularda koruyucu etkisinin belirgin olduğu tespit edilmiştir. Karaciğer ve beyin dokusundaki artan total oksidan seviyelerinin ilerleyen gebelikle birlikte artan metabolizmadan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir. (Proje No: 2010-VF-42).

Kaynaklar

Agarwal A, Gupta S, Sikka S 2006. The role of free radicals and antioxidants in reproduction. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 18(3):325-332.

Behne D, Wolters W 1979. Selenium content and glutathione peroxidase activity in the plasma and erythrocytes of non-pregnant and pregnant women. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 17(3):133-135.

Behrman HR, Kodaman PH, Preston SL, Gao S 2001. Oxidative stress and the ovary. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, 8(1 suppl):40-42.

Burmistrov SO, Oparina TI, Prokopenko VM, Arutiunian AV 1997. Antioxidant activity of the blood serum in pregnant and nonpregnant women: comparison of various detection methods. *Klinicheskaia Laboratornaia Diagnostika*, (11):14-17.

Carlson JC, Wu XM, Sawada M 1993. Oxygen radicals and the control of ovarian corpus luteum function. *Free Radical Biology and Medicine*, 14(1):79-84.

Chen MJ, Chang WH, Lin CC, Liu CY, Wang TE, Chu CH, Shih SC, Chen YJ 2008. Caffeic acid phenethyl ester induces apoptosis of human pancreatic cancer cells involving caspase and mitochondrial dysfunction. *Pancreatology*, 8(6):566-576.

Chiao C, Carothers AM, Grunberger D, Solomon G, Preston GA, Barrett JC 1995. Apoptosis and altered redox state induced by caffeic acid phenethyl ester (CAPE) in transformed rat fibroblast cells. *Cancer Research*, 55(16):3576-3583.

Górecka R, Kleczkowski M, Kluciński W, Kasztelan R, Sitarska E 2002. Changes in antioxidant components in blood of mares during pregnancy and after foaling. *Bulletin Veterinary Institute in Pulawy*, 46:301-305.

Jeong SH, Kim BY, Kang HG, Ku HO, Cho JH 2005. Effects of butylated hydroxyanisole on the development and functions of reproductive system in rats. *Toxicology*, 208(1):49-62.

Jones RL, Hannan NJ, Kaitu'u TJ, Zhang J, Salamonsen LA 2004. Identification of chemokines important for leukocyte recruitment to the human endometrium at the times of embryo implantation and menstruation. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(12):6155-6167.

Kaya H, Delibaş N, Çapar M, Tahan V, Serteser M, Özkaya MO 1996. Gebelikte ve Postpartum Erken Dönemde Serbest Radikal Oluşumu ve Antioksidan Enzim Düzeyleri. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 3(4):67-70.

Lee KJ, Choi JH, Khanal T, Hwang YP, Chung YC, Jeong HG 2008. Protective effect of caffeic acid phenethyl ester against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. *Toxicology*, 248(1):18-24.

Loverro G, Greco P, Capuano F, Carone D, Cormio G, Selvaggi L 1996. Lipoperoxidation and antioxidant enzymes activity in pregnancy complicated with hypertension. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 70(2):123-127.

Maffia P, Ianaro A, Pisano B, Borrelli F, Capasso F, Pinto A, Ialenti, A 2002. Beneficial effects of caffeic acid phenethyl ester in a rat model of vascular injury. *British Journal of Pharmacology*, 136(3):353-360.

Rahilly M, Carder PJ, Al Nafussi A, Harrison DJ 1991. Distribution of glutathione S-transferase isoenzymes in human ovary. *Journal of Reproduction and Fertility*, 93(2):303-311.

Riley JC, Behrman HR 1991. Oxygen radicals and reactive oxygen species in reproduction. *Experimental Biology and Medicine*, 198(3):781-791.

Sugino N 2005. Reactive oxygen species in ovarian physiology. *Reproductive Medicine and Biology*, 4(1):31-44.

Suzuki T, Sasano H, Takaya R, Fukaya T, Yajima A, Date F, Nagura H 1998. Leukocytes in normal-cycling human ovaries: immunohistochemical distribution and characterization. *Human Reproduction*, 13(8):2186-2191.

Vural P, Akgül C, Yildirim A, Canbaz M 2000. Antioxidant defence in recurrent abortion. *Clinica Chimica Acta*, 295(1):169-177.