

Denerve Farelerde Epidermal Büyüme Faktörünün Serum Çinko Düzeylerine Etkisi

The Effect of Epidermal Growth Factor on Serum Zinc Levels of Denervated Mice

Bilge GÖNÜL* Gülin GÜVENDİK** Deniz ERBAŞ* Lamia YANIÇOĞLU*

ÖZET

Birçok araştırma çinko katyonu ve epidermal büyüme faktörü arasında bağlantı olduğunu göstermiştir. EGF'nin prostaglandin E₂ (PGE₂) sentezini stimüle ettiği, PGE₂'nin ise çinko absorpsiyonunu etkilemediği veya arttırdığı yayınlanmıştır. Cerrahi ve travmatik işlemlerde ise çinko düzeyleri değişmekte ve önem taşımaktadır. Bu nedenle siyatik denervasyon yapılan deneklerde, EGF uygulaması yapılmış ve PGE₂ sentezi inhibe edilmiş gruplarda serum çinko düzeylerinin karşılaştırılması amaçlandı. Sistemik olarak EGF uygulanan gruplarda denervasyondan 31 gün sonra serum çinko düzeyinde istatistik açıdan anlamlı yükselme bulundu. Diğer gruplardaki çinko düzeylerinde belirgin bir fark bulunamadı. Sonuç olarak denerve deneklerde EGF uygulamasının çinko düzeylerini yükselttiği gösterildi.

SUMMARY

There are numerous researches on the relation between zinc and epidermal growth factor (EGF). It is published that EGF stimulates the PGE₂ synthesis and that PGE₂ either increases or does not affect the zinc absorption. Zinc levels were altered by operation and trauma and this alteration has an importance. We observed the serum zinc levels of mice of which ischiatic nerve were denervated and PGE₂

* G.Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

** A.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmasotik Toksikoloji Anabilim Dalı ..

• Redaksiyona verildiği tarih: 23.3.1988

synthesis were inhibited. There was a significant increase 31 days after denervation at the serum zinc levels of mice groups which received IP, EGF. NO significant change was observed at the serum zinc levels of other groups. In conclusion: EGF administration causes an increase at the serum zinc levels of denervated mice.

Anahtar Kelimeler: EGF, PGE₂, serum çinkosu, denervasyon, ASA

Cerrahi ve travmatik işlemlerde ilk 24 saatte çinko düzeyinin düşmesi ve sonraki 2-3 gün aynı düzeyde kalması komplikasyon olmazsa takibeden günlerde normal düzeye dönmesine dair bulgular yaymlanmıştır(1). EGF'nin prekürsör molekülü önce yüksek molekül ağırlıklı bir kompleks oluşturur, bu da EGF sentezinde görev alır. Çinkonun bu kompleksi stabilize edebileceği görüşü yayınlanmıştır(2). Daha önceki çalışmalarımızda da EGF'nin en çok bulunduğu saptanan submandibuler bez ekstrelerinin serum çinko düzeyini arttırdığını saptadık(3). EGF, PGE₂ üretimini doku kültürlerinde stimüle etmektedir (4, 5). Bu arada PGE₂'nin çinko absorpsiyonunu arttırdığı veya etkilemediğine dair ters bulgular vardır(6). SONG ve ADHAM, PGE₂'nin çinko absorpsiyon mekanizması ile bağlantılı endojen intralümenal çinko şelatörü olabileceğini ileri sürmektedirler(7). Denervasyon yapılan deneklerde PGE₂ miktarının arttığı gösterilmiştir(8). Bu durumda denervasyon geçiren deneklerde EGF verilmesinin PGE₂ düzeyini artırması beklenmelidir. Eğer serum çinko düzeyi PGE₂ aracılığıyla absorpsiyonda artışla yükseliyorsa PGE₂ sentezinin inhibe edilmesi halinde bu artışın olmaması gerekmektedir. Aspirinin (ASA) prostaglandin sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir(9, 10, 11, 12). Bu durumda ASA uygulanan deneklerde çinko absorpsiyonunun artması gerekir. Bu nedenlerle deneylerimizde EFG uygulanan ve PGE₂ inhibisyonu yapılan denerve farelerde serum çinko düzeyleri saptanmıştır.

DENEL KISIM

Materyal ve Metod

Deneyler 30-40 g ağırlıkta erkek farelerde gerçekleştirildi. Fareler beşerlik gruplar halinde oda sıcaklığında Yem Sanayii peletleri ve su ile serbest olarak beslendiler.

Farelere IP yolla 40 mg/kg dozda nembutal verilerek anestezi sağlandı (13). Arka bacaklarında kaslar aralanarak siyatik sinir bulundu, 2 tarafta 5 er mm'lik segmenti kanama olmaksızın kesilerek çıkarıldı (14). Yara dudakları ipek iplikle kapatılarak dezenfekte edildi.

Denervasyondan 21 gün sonra (15) fareler 5 er lik 6 gruba ayrılarak aşağıdaki uygulama yapıldı:

1. grup operasyon yapılmayan farelerden oluşturuldu.
2. grup siyatik denervasyon yapılan farelerden oluşturuldu.
3. grup denervasyondan 21 gün sonra 10 gün süreyle hergün IP, 4 mg/kg asetil salisilik asit (ASA) uygulanan deneklerden oluşturuldu (16, 17).
4. grup denervasyondan 21 gün sonra 10 gün süreyle hergün 4 mg/kg IP, ASA ve denek başına IP, 1 µg EGE (Sigma) uygulanan (18) farelerden oluşturuldu.
5. grup denervasyondan 21 gün sonra 10 gün süreyle denek başına 1 µg EGF IP yolla uygulanan farelerden oluşturuldu.
6. grup denervasyondan 21 gün sonra 10 gün süreyle ayak tabanlarına gazbez pet flasterlenerek lokal 0.5 µg /0.05 ml dozda EGF uygulanan deneklerden oluşturuldu.

Uygulamaların 10. gününde denekler dekapite edilerek Arteria carotis communisten polipropilen tüplere toplanan kanlar +4°C de bir gece bekletilerek serumları ayrıldı. Bu serumlarda, Varian Techtron Model 1200 atomik absorpsiyon spektrofotometre ile çinko tayini yapıldı(19). Çinko tayinlerinde kullanılan cam malzeme 1:1 oranında dilüe edilmiş hidroklorik asitle çalkalanmıştır.

Deney sonuçları gruplar arasında t testi ile karşılaştırılarak istatistiksel açıdan anlamlılıkları tablolarda p değerlerine göre belirtilmiştir(20).

SONUÇ VE TARTIŞMA

Deney sonuçları Tablo I de özetlenmiştir.

Görüldüğü gibi operasyon görmüş deneklerde kronik ameliyat stresinin sonlandığı ve denerve kasta lif çapının önemli derecede düşük bulunduğu 21. günde deneylere başlanmıştır (15). Bu sürede deneklerde

Tablo I. Normal ve Denerve Farelerde Serum Çinko Düzeylerinin Karşılaştırılması

Grup	n	Beden ağırlığı (g)	Denervasyon	Serum Çinko Düzeyi ($\mu\text{g}/100 \text{ ml}$)
1	5	35.2 \pm 7.8	Yok	90.2 \pm 12.8
2	5	34.8 \pm 8	Var	95.7 \pm 16.3
3	5	33 \pm 6.5	Var	99.4 \pm 20.6
4	5	41.7 \pm 5.1	Var	129.4 \pm 18.4***
5	5	38.2 \pm 3.5	Var	127.6 \pm 20 ***
6	5	37.5 \pm 4	Var	94.6 \pm 14.8

Tabloda $x \pm SH$ gösterilmiştir.

1. Normal denekler, 2. Denerve kontroller, 3. 10 gün süreyle hergün IP, 4 mg/kg uygulananlar, 4. 10 gün süreyle hergün IP 4 mg/kgASA IP, 1 μg EGF uygulananlar, 5. IP 1 μg EGF uygulananlar (10 gün süreyle hergün), 6. 10 gün süreyle hergün lokal 0.5 μg EGF uygulananlar

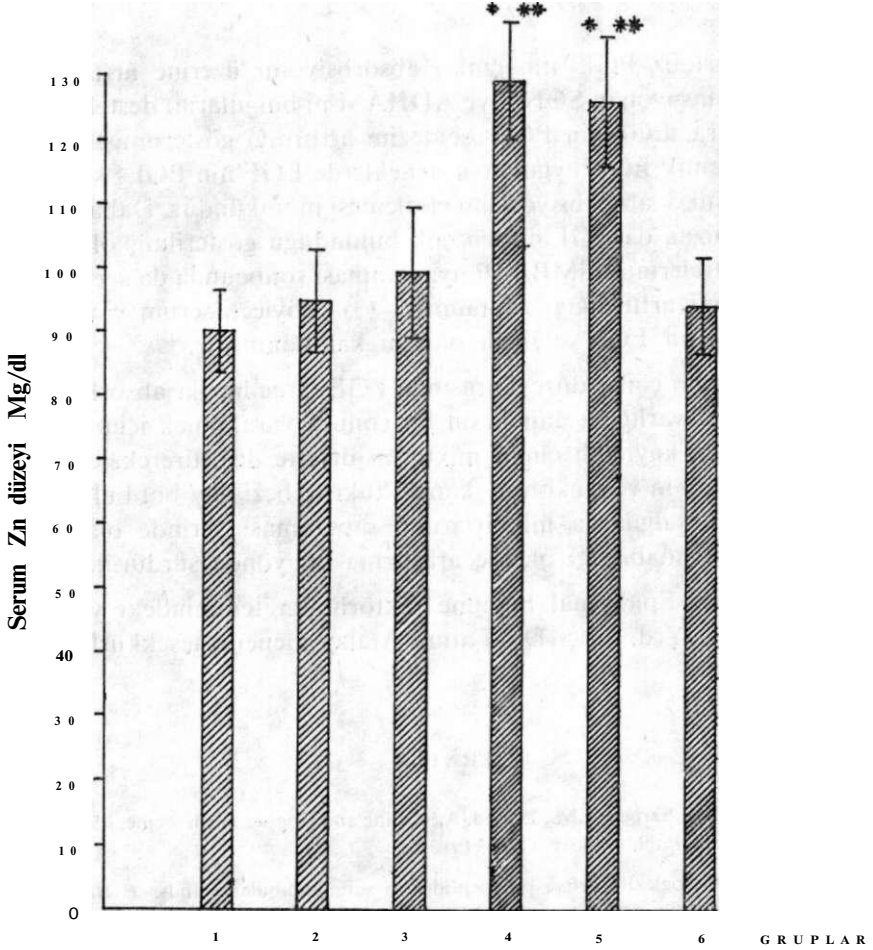
* 1. grup ile $p < 0.001$

** 2. grup ile $p < 0.01$

arka ayaklarının taban ve dirsek kesimlerinde basınç yaraları olmuştur. Serum çinko düzeylerinde denerve deneklerde, normal farelere oranla yükselme saptanmıştır. Ancak bu artış istatistiksel açıdan anlam taşımamaktadır. Denerve ratlarda yapılan bir araştırma denervasyonun ilgili kaslarda PGE_2 düzeylerinde önemli artış yaptığını göstermiştir(8). Deneklerimizde görülen serum düzeylerindeki hafif artma PGE_2 düzeyinin artışı ile absorpsiyonda artışa bağlı olabilir, fakat istatistik açıdan önem taşımamaktadır.

Serum çinko düzeyinde önemli yükselme EGF'nin sistemik olarak uygulandığı gruplarda görülmektedir (Şekil I). O halde bu artış denervasyonla ilişkili değildir. Uygulanan EGF'nin çinko düzeyine etkisinin çinko absorpsiyonunun PGE_2 aracılığıyla arttırılması tarzında olduğu kanısını vermektedir.

Denervasyondan 21 gün sonra 4 mg /kg ASA uygulanmaya başlanan gruplarda çinko düzeylerinin diğer kontrol gruplarından farklı olmadığı görülmektedir. Bilindiği gibi ASA, PGE_2 sentezinde yeralan siklooksijenaz enzimini kompetitif yolla irreversibl olarak inhibe etmektedir (21, 22). Deneylerimizde kullandığımız ASA dozu inhibisyon için yeterlidir (17, 21). Ancak aspirinin PGE sentezi inhibisyonu üzerindeki etkisinin uzun süreli uygulamalarda azaldığı, 3 günde % 57 inhibisyon sağlanırken, 7 günde inhibisyonun % 37 ye düştüğü saptanmıştır(23). Bu arada PGE_2 'nin fizyolojik dozlarda değil farmakolojik



Şekil 1. Normal ve denerve farelerde serum çinko düzeyleri.

1 Normal denekler, 2. Denerve kontrol, 3. IP, ASA uygulaması, 4. IP,ASA+ IP, EGF uygulaması, 5. IP, EGF uygulaması, 6. Lokal EGF uygulaması

* $p < 0.01$, 1. grup ile
** $p < 0.001$, 2. grup ile

dozlarda çinko absorpsiyonuna etkili olduğu da yayınlanmıştır(24). O halde EGF sistemik uygulaması yapılan gruplar dışında PGE_2 sentezi çinko absorpsiyonunu etkileyebilecek miktarlara ulaşamamaktadır. Bu konuya açıklık getirmek üzere EGF uygulanan ve diğer grup-

larda PGE₂ düzeyleri saptanarak ayrı bir makale halinde yayınlanacaktır.

Bulgularımız PGE₂'nin çinko absorpsiyonu üzerine artırıcı etkisi olduğunu savunan SONG ve ADHAM'ın bulgularını desteklemektedir(25). Zira, EGF'nin PGE₂ sentezini arttırdığı gösterilmiştir (4,5). O halde sistemik EGF uygulanan deneklerde EGF'nin PGE₂ sentezini arttırarak, çinko absorpsiyonunu etkilemesi mümkündür. Daha önceki çalışmalarımızda da EGF'nin en çok bulunduğu gösterilmiş olan tükürük bezi ekstrelerinin (SMBE)IP uygulanması sonucunda da serum çinko düzeylerini arttırdığını saptamıştık (3). Böylece serum çinko düzeyindeki artışın EGF'ye bağlı olduğu kanıtlanmıştır.

EGF serum çinko düzeyi arasında PGE₂ aracılığıyla absorpsiyona bağlı bir ilişki varlığına dair kesin bir sonuca varabilmek için araştırmanın eksojen kaynaklı çinko miktarını diyetle değiştirerek, endojen kaynaklı EGF'nin ve çinkonun kan ve tükürük bezi gibi bol buldukları organ ve salgılarda miktarlarının saptanması yerinde olacaktır. Olanaklar sağlanabildiği ölçüde araştırma bu yönde sürdürülecektir.

Teşekkür: Epidermal büyüme faktörünün teminindeki yardımları için Sayın Yrd. Doç. Dr. Fatma Atalay Gener'e teşekkürlerimizi sunarız.

LİTERATÜR

1. Karcioğlu, Z.A., Sarper, R.M., Prasad, A.S., Zinc and Copper in Medicine, 654, Charles C Thomas Publ. Illinois, USA (1980).
2. Barka, T., Biologically active polypeptides in submandibular glands, *J. Histochem. Cytochem.*, 28 (8), 836 (1980).
3. Erbaş, D., Güvendik, G., Gönül, B., Submandibular bez ekstrelerinin serum çinko düzeylerine etkileri, *Ankara Ecz. Fak. Der.* 17 (1) 11 (1986).
4. Levine, L., Hassid, A., Epidermal growth factor stimulates prostaglandin biosynthesis by canine kidney (MDCK) cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 76(4),1181 (1977).
5. Tashjian, A.H., Levine, L., Epidermal growth factor stimulates prostaglandin production and bone resorption in cultured mouse calvaria, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 85 (3), 966, (1978).
6. Cousins, R.J., Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin, *Physiol. Rev.*, 65 (2), 238 (1985).

7. Song, M.K., Adham, N.F., Evidence for an important role of prostaglandins E₂ F₂ and in the regulation of zinc transport in the rat, *J.J. Nutr.*, 109 (12), 2151 (1979).
8. Jaweed, M.M., Alam, I., Herbison, G. J., Ditunno, J.F., Prostaglandins in denervated skeletal muscle of the rat: effect of direct electrical stimulation, *Neurosci.*, 6 (12), 2787 (1981).
9. Villa, S., Gaetano, G., Bleeding time in laboratory animals. IV. Effects of prostacyclin, pyrimido-pyrimidine compounds and aspirin in rats, *Thromb. Res.*, 15, 727 (1979).
10. Merino, J., Livio, M., Grazyna, R., Gaetano, G., Salicylate reverses in vitro aspirin inhibition of rat platelet and vascular prostaglandin generation, *Biochem. Pharmacol.*, 29, 1093 (1980).
11. Coker, S. J., Ledingham, I., McA., Parratt, J.R., Zeitlin, T.J., Aspirin inhibits the early myocardial release of thromboxane B₂ and ventricular ectopic activity following acute coronary artery occlusion in dogs, *Br. J. Pharmac.*, 72, 593 (1981).
12. Hanley, S.P., Bevan, J., Cockbill, S.R., Heptinstall, S., Differential inhibition by low-dose aspirin of human venous prostacyclin synthesis and platelet thromboxane synthesis, *Lancet*, May 2, 969, (1981)
13. William, N.F., Watson, P.A., Booth, F.W., Glucose uptake and glycogen synthesis in muscles from immobilized limbs, *J., Appl. Physiol.*, 56 (2), 431, (1984).
14. Turinsky, J., Dynamics of insulin resistance in denervated slow and fast muscles in vivo, *Am. J. Physiol*, 22 (5), R 531 (1987).
15. Tomanek, R.J. Lund, D.D., Degeneration of different types of skeletal muscle fibres, I. Denervation, *J. Anat.*, 116 (3), 395 (1973).
16. Hebel, R., Stromberg, M.W., Anatomy of the Laboratory Rat, 134, Williams-Wilkins Comp., Baltimore (1976).
17. Lee, T., Hsieh, B., Effect of acetylsalicylic acid on urinary excretion of prostaglandin E in stroke patients, *Prostaglandins*, 32 (8), 847, (1986).
18. Tsutsumi, O., Tsutsumi, A., Takami, O., A possible physiological role of milk epidermal growth factor in neonatal eyelid opening, *Am. J. Physiol*, 2, R 376 (1987).
19. Cin, Ş., Çavdar, A., Arcasoy, A., İz lementlerin incelenmesi (çinko, demir, bakır ve magnezyum), Tübitak yayımları, Nuray Matb., Ankara (1972)
20. Nie, N.H., Hull, C.H., Jenkins, J.G., Steibrnner, K., Bent, D.H., Statistical Package for the Social Sciences, 2. Edit. Ny, Mac Graw-Hill B. C. (1975)
21. Meyers, F.H., Jawetz, E., Goldfien, A., Review of Medical Pharmacology 7. Edit., 177, Lange Med. Publ., Los Altos, California (1980).
22. Ganong, W.F., Review of Medical Physiology, 11. AEdit., 248, Lange, Beirut, (1983).
23. Flower, R.J., Drugs which inhibit prostaglandin biosynthesis, *Pharmacol. Rev.*, 26 (1), 33, (1974).
24. Bennet, A., Prostaglandins, *Cephalalgia*, 6, (Supmpl. 4), 17 (1986).
25. Song, M.K., Adham, N.F., Relationship between zinc and prostaglandin metabolism in plasma and small intestine of rats, *Am. J. Clin. Nutr.*, 41, 1201, (1985).