

Deneyisel Korozif Özefagus Yanığında Lipid Peroksidasyon, Glutatyon ve Total Tiol Düzeyleri

Dr. Ramazan AMANVERMEZ¹, Dr. Faruk KAZANCI²,

Dr. Cemil ÇELİK¹, Dr. Muhlise ALVUR¹, Dr. Müşerref BOSTANCI¹

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya¹ ve Çocuk Cerrahisi²
Anabilim Dalları, SAMSUN

- ✓ Rat'larda alkali ile oluşturulan korozif özefagus yanığında gelişen akut inflamasyonda, fagositer hücre aktivasyonundan dolayı serbest radikal oluşumu artmaktadır. Buradan hareketle serbest radikal aktivitesinin bir göstergesi olarak, kan ve yanık dokuda; lipid peroksidasyon, antioksidan olarak kabul edilen glutatyon ve total tiol düzeyleri araştırıldı. Çalışma; kontrol ve yanık oluşturulan grup olarak düzenlendi. Kan ve doku lipid peroksidasyon (tbars), redükte glutatyon ve total tiol düzeyleri; kontrol ve yanık grubu arasında istatistiksel karşılaştırmada anlamlı bir ilişki saptanamadı ($p>0.05$).

Sonuç olarak korozif özefagus yanığında oluşan akut inflamasyonda lipid peroksidasyon, redükte glutatyon ve total tiol düzeylerinde anlamlı bir farklılığın olmaması, organizmanın diğer antioksidan savunma sistemleriyle birlikte oksidan hasara karşı kendisini koruyabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Korozif özefagus yanığı, lipid peroksidasyon, glutatyon, tiol

- ✓ **The Lipid Peroxidation, Glutathione and Total Thiol Levels in Experiential Caustic Esophageal Burn**

The free radicals increases due to phagocyte cell activation, in developing acute inflammation, in rats with alkali corrosive esophageal burn. In this study, it was organized two groups as the control and caustic group. The lipid peroxidation (tbars) levels was determined in both blood and burn tissue as a sign of free radicals. In addition, the reduced glutathione and total thiol levels were determined as antioxidants. The lipid peroxidation, reduced glutathione and total thiol of both the blood and tissue were compared between two groups and there was no statistical difference ($p>0.05$).

In conclusion, since there was no significant difference in the levels of lipid peroxidation, reduced glutathione and total thiol between control and caustic group. It can be conclude that the tissue might protect itself by using other antioxidant defence systems, against the oxidative damage.

Key words: Caustic esophageal burn, lipid peroxidation, glutathione, thiol

GİRİŞ

Özefagus yanıkları, sıvı veya katı nitelikteki yakıcı kimyasal maddelerin ağız yoluyla alınması sonucunda oluşmaktadır. Alkali yanıkları, alkali nitelikteki maddelerin içimi ile olmaktadır. Alkalen maddenin alımından sonraki ilk 4-6 gün enflamasyonun en şiddetli olduğu dönemdir. Takip eden günlerde nekrotik doku azalır ve granülasyon

dokusu gelişir. Sonrasında fibroblastik proliferasyon ve kollajen birikimi oluşur. Haftalar ve aylar içerisinde kollajen kontrakte olur ve skar dokusuyla birlikte iyileşme olur.

Korozif özefagus yanığında gelişen akut inflamasyonda fagositer hücre (lökositler ve makrofajlar) aktivasyonundan dolayı serbest radikal oluşumu, özellikle reaktif oksijen

türlerinin oluşumunda bir artışın olabileceği ifade edilmektedir⁽¹⁾.

Serbest radikaller değişik mekanizmalarla hücrel ve doku injurisine yol açabilirler. Bununla birlikte, prokaryotik ve ökaryotik hücrelerde olduğu gibi serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı; enzimatik (süperoksid dismutaz, glutasyon peroksidaz, katalaz gibi) ve non-enzimatik antioksidan (glutasyon, tioller, vit C, vit E gibi) defans sistemleri bulunmaktadır. Ancak antioksidan sistemin yetersizliği veya aşırı serbest radikal üretiminde "oksidan strese" maruz kalınacağından dolayı, oksidanlar hücrel injüriye ve olasılıkla organ disfonksiyonuna neden olabileceği belirtilmektedir^(1,2). Buradan hareketle korozif özefagus yanığında gelişen akut inflamasyonda; serbest radikal aktivitesinin bir göstergesi olan lipid peroksidasyon, non-enzimatik antioksidan olarak değerlendirilen redükte glutasyon (GSH) ve total tiol (-SH) düzeylerinin kan ve yanık özefagus dokusunda araştırılması planlandı.

MATERYAL VE METOD

Bu deneysel çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi.

Kontrol grubunda 7 ve korozif özofajit (yanık) oluşturulan grupta 9 adet rat (ağırlıkları; 190-230 gr arasında değişen Swiss Albino tipi erkek rat) çalışma kapsamına alındı. Standart korozif özofajit modeli için "Pierra Gehenna" tarafından tarif edilmiş olan yöntem kullanıldı⁽³⁾. Deney öncesi ratlar 12 saat süreyle aç bırakıldı. Ratlar eter inhalasyonu tekniği ile genel anestezi verildikten sonra göbük üstü orta hat kesisi ile laparotomi uygulandı. Abdominal özefagus etraf bağlardan serbestleştirilerek yalınlaştırıldı. Kardia ve hiatus özefagus seviyelerinden geçirilen 3/0 ipek iplik ile abdominal özefagus askıya alındı. Daha sonra mide fun-

dusundan sokulan 22 G kanül abdominal özefagus içine ilerletildi ve askı sütürleri bağlandı. Böylece elde edilen 1-1,5 cm'lik izole özefagus segmenti içine %50'lik NaOH çözeltisinden 1 ml verildi ve 3 dk. sonra NaOH geri çekildi. Ardından 1 dk süreyle distile su ile yıkandı. Kanül geriye çekilip, askı sütürlerinin kaldırılması ardından orta hat kesisi kapatılarak işleme son verildi. Kontrol grubunada aynı işlemler yapılarak, NaOH yerine 1 ml SF sıvısı uygulandı.

Operasyon öncesi ve sonrasında ratlar "normal" diyetle beslenmişlerdir. Çalışma süresi korozif özefagus yanıklarında inflamasyonun en yoğun olduğu 4. güne göre ayarlandı. Çalışmanın 4. gününde ratların abdominal aortasına girilerek 3-4 ml kan alındı ve santrifüj edilerek serum ayrıştırıldı. Ratlar sakrifiye edildikten sonra abdominal özefagus kısmı alınarak yanık doku biyokimyasal analiz işlemlerine geçildi.

Yanık özefagus dokusu ve serum örneklerinde lipid peroksidasyon (tbars) tayini spektrofotometrik yöntemle göre belirlendi⁽⁴⁾. Tbars ölçülmesi istenen doku parçasından 100 mg alınıp 0.1 M fosfat tamponu (pH 7.4) ile hacim 0.9 ml'ye tamamlandı ve Fisher-Sonic Dismembratör Model 300 marka homojenizatörü ile homojenize edildi. Homojenat 3500 rpm de 30 dk +4 °C'de MSE (mistral 3000i) marka soğutmalı santrifüj ile santrifüj edildi. Deneysel çalışma için santrifügasyon ile elde edilen süpernatant fraksiyonu ve serum kullanıldı. Ayrıca bu süpernatant fraksiyonu ve serum örneklerinde redükte glutasyon tayini spektrofotometrik⁽⁵⁾, total tiol ölçülmesi ise spektrofotometrik yöntemle göre yapıldı⁽⁶⁾.

Kontrol grubu özefagus dokusu ve serum örneklerinde de yukarıdaki işlemlere benzer şekilde tbars, redükte glutasyon ve total tiol tayinleri yapıldı.

Çalışılan doku örneklerinde protein tayini "Lowry" yöntemine göre yapıldı⁽⁷⁾.

İstatistiksel değerlendirmede Mann-Whitney U Testi kullanıldı.

BULGULAR

Kontrol ve yanık grubu; doku ve serum lipid peroksidasyon, glutatyon (GSH) ve total tiol düzeylerinin istatistiksel karşılaştırılmasında anlamlı bir farklılık tesbit edilemedi ($p>0.05$).

Tayin edilen biyokimyasal parametre değerleri Tablo'da verilmiştir.

TARTIŞMA

Korozif özefagus yanıkları sülfirik asit, hidroklorik asit, asetik asit gibi asitler; daha sıklıkla da potasyum hidroksit, sodyum hidroksit veya sodyum hipoklorid gibi alkalilerin kazara veya intihar amacıyla içilmesi ile oluşur⁽⁸⁾. Yanık sonrası gelişen nekroz ve enflamasyon ilk hafta süresince pik oluşturur. 4. gün enflamasyonun en şiddetli olduğu dönemdir. Angiogenesis ve kollejen birikimi ile olan granülasyon dokusunun gelişimi ikinci hafta sonuna kadar devam eder.

Yara iyileşmesinin özgün bir dönemi olan

enflamasyon fazında yara yerinde vasküler permeabilite artar, dolaşımdan hücre kemotaksisi olur, büyüme faktörleri ve sitokinler lokal olarak salınır. Bu olaylarla birlikte immün mekanizmaların harekete geçmesi ve fagositer hücrelerin aktive olması gibi olaylar da meydana gelmektedir⁽¹⁾.

Enflamasyon sahasında fagositer hücrelerce oluşturulan serbest radikaller, özellikle dokuda oluşan reaktif oksijen türleri lipidlerde (lipid peroksidasyon), karbonhidratlarda, proteinlerde, DNA ve RNA da hasar oluşturabilirler. Serbest radikaller oksidan tabiatında moleküller olup, hücrelerde bulunan enzimatik ve non-enzimatik antioksidan moleküller tarafından etkisizleştirilirler. Proteinlerin tiol (-SH) yapıları ve redükte glutatyon (GSH) plazmada, dokularda ve hücrelerde önemli antioksidan fonksiyon görmektedirler. Özellikle -SH yapıları hücresel antioksidan defans sistemine önemli katkı sağlamaktadır⁽⁹⁾.

Kontrol ile yanık grubu; doku ve kan serumunda ölçülen lipid peroksidasyon (tbars), GSH ve total tiol (-SH) düzeylerinde anlamlı

Tablo. Kontrol ve Yanık Özefagus Dokusu ve Serum Örneklerinde Ölçülen Lipid Peroksidasyon, Redükte Glutatyon ve Total Tiol Düzeyleri

	Kontrol grubu	Yanık grubu	p
• Doku lipid peroksidasyonu (tbars) (nmol/mg yaş doku proteini)	0.015 ± 0.008	0.019 ± 0.006	> 0.05
• Serum lipid peroksidasyonu (tbars) (µmol/L)	0.200 ± 0.010	0.180 ± 0.010	> 0.05
• Doku redükte glutatyonu (GSH) (nmol/mg yaş doku proteini)	0.170 ± 0.010	0.180 ± 0.010	> 0.05
• Serum redükte glutatyonu (µmol/L)	15.23 ± 1.150	12.36 ± 1.360	> 0.05
• Doku total tiol'ü (nmol/mg yaş doku proteini)	7.960 ± 0.170	8.160 ± 0.150	> 0.05
• Serum total tiol'ü (µmol/L)	486.7 ± 34.57	416.2 ± 40.10	> 0.05

bir farklılık bulunamadı ($p>0.05$). Ancak yanık grubu dokularda lipid peroksidasyon, GSH ve total tiol düzeylerinin kontrol grubu dokulara göre kısmende olsa arttığı görülmektedir. Bu artış muhtemelen enflamasyonun akut faz cevabına paralel olarak, savunma mekanizmalarının aktive olmasını düşündürülebilir. Akut enflamasyonda serbest radikal üretimi fagositer hücre aktivasyonundan dolayı artmaktadır⁽¹⁾. Bundan dolayı lipid peroksidasyonun artış göstermesi olağandır. Bunun aksine yanık grubunda serum lipid peroksidasyon, glutatyon ve total tiol düzeylerinde ise kontrol grubuna nazaran azalmanın olduğu dikkati çekmektedir (Tablo). Bu durum enflamasyon şiddetine paralel olarak oksidan moleküllerin (serbest radikaller) serumda GSH ve -SH içeren moleküllerde hasar oluşturabileceklerini akla getirmektedir. Literatür taramasında bu konuda yapılan çalışmalara rastlanılmadığından dolayı tartışma yapılamadı. Bununla birlikte organizmanın total antioksidan kapasitesinin (enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar) ileri çalışmalarla araştırılması konunun aydınlığa kavuşması açısından faydalıdır.

Geliş tarihi : 28.04.2000

Yayına kabul tarihi : 12.07.2000

Yazışma adresi:

Dr. Ramazan AMANVERMEZ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi,

Biyokimya Anabilim Dalı

55139 Kurupelit, SAMSUN

KAYNAKLAR

1. Sokol RJ, Hoffenberg EJ. Antioksidants in pediatric gastrointestinal disease. *Pediatric Gastroenterology* II, 1996; 43: 2; 471-489.
2. Sipahi T, Arcasoy A. Serbest radikaller ve klinik hastalıklarla ilişkisi. *MN Klinik Bilimler* 1996; 2: 124-132.
3. Gehanno P, Guedon C. Inhibition of experimental lye stricture by penicillamine. *Arch Otolaryngol* 1981; 107: 145-147.
4. Wasowicz W, Neve J, Peretz A. Optimized steps in fluorometric determination of thiobarbituric acid-reactive substances in serum: Importance of extraction pH and influence of sample preservation and storage. *Clin. Chem.*, 1993; 39(12): 2522-2526.
5. Hu ML, Dillard CJ, Tappel AL. In vivo effects of aurothioglucose and sodium thioglucose on rat tissue sulfhydryl reactivity. *Agent and Actions*, 1988; 25: 1-2; 132-137.
6. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total protein-bound, and non-protein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.*, 1968; 25: 192-205.
7. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Biol. Chem.*, 1951; 193: 265-275.
8. Adam JS, Birck HG. Pediatric caustic ingestion. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 1982; 91: 656-658.
9. Di Mascio P, Murphy ME, Sies H. Antioksidant defense systems: The role of carotenoids, tocopherols and tiols. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1991; 53 (1 suppl): 194S-200S.

