

Submandibular Bez Ekstrelerinin Serum Çinko Düzeylerine Etkileri

The Effects of Submandibular Gland Extracts on the Serum Zinc Levels

Deniz ERBAŞ*

Gülin GÜVENDİK**

Bilge GÖNÜL*

ÖZET

Erkek ve dişi farelerin submandibular bezleri çıkarılarak ekstreleri hazırlandı. Ekstrelerin epidermal büyüme faktörü (EGF) aktiviteleri; yeni doğan farelerde göz kapağı açılışı ve diş çıkışına göre kontrol edilerek, saptandı. Bu ekstreler yetişkin erkek farelere uygulanarak serum Zn düzeyine etkileri saptandı. Yüksek protein miktarına sahip erkek fare submandibular bez ekstrelerinin serum Zn düzeyini arttırdığı bulundu. Ekstrenin EGF aktivitesine sahip olması ve Zn düzeyini yükseltmesi açısından ve her iki faktörün organizmadaki benzer etkileri nedeni ile birbirleri ile bağlantıları olabileceği kanısına varıldı.

SUMMARY

We prepared the submandibular gland extracts of male and female mice. The epidermal growth factor (EGF) activity of these extracts controlled by eyelid opening and teeth eruption in the newborn mice.

We compared the effects of male and female mice submandibular gland extracts on the serum zinc levels of male mice. The male submandibular gland extract had a high protein level compared to female submandibular gland extract. The serum zinc level increased by the injection of the male mice submandibular gland extract compared to the controls.

In conclusion this study suggests that there is a relationship between EGF and Zinc levels.

Redaksiyona verildiği tarih: 8.1.1987

* Fiziyojoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Gazi Üniversitesi

** Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi.

Anahtar Kelimeler: Epidermal Büyüme Faktörü (EGF), Submandibular bez ekstresi (SMGE), Çinko (Zn).

Farelerde submandibular bez 27 çeşit protein içermektedir(1). Bu proteinlerden erkek fare tükürük bezinde en çok bulunanı Renin, Epidermal büyüme faktörü (EGF), sinir büyüme faktörü (NGF)'dür (2). Renin, renin-anjiotensin sisteminin önemli bir komponenti olup, damarları büzücü etki göstermektedir. NGF ise özellikle sempatik sinir sistemi üzerinde etki yapmakta, büyüme döneminde sempatik sinir sistemi ve ganglionlarının gelişmesinde, ileri dönemlerde de Na-K pompası üzerinde ve dolayısı ile impuls iletiminde rol oynamaktadır(S).

EGF ise, hücre kültürlerinde, hücre çoğalmasına etki yaparak mitozu arttırmaktadır (1, 4). Derinin kalınlaşmasını, göz yaralanmalarında yaranın iyileşmesini, trakea ve özefagus epiteli ile akciğer alveollerinin gelişmesini sağlamaktadır(5). Mide de H⁺ salgılanmasını inhibe ederek asit oluşumunu azaltmakta (6,7), mide ülserlerinde yaranın iyileşmesini hızlandırmaktadır (8). EGF'nin büyüme döneminde doku ve organların gelişmesini (9), erişkinde de yara iyileşmesini hızlandırdığı düşünülmektedir (10). Her üç protein de erkek farelerde dişi farelere oranla çok fazla miktarlarda bulunmaktadır. Dişi farelere testesteron verilmesi ile bu proteinlerin miktarları çok artmaktadır (12, 13). EGF yüksek dozlarda karaciğerde yağ asiti sentezini hızlandırmakta ve trigliserit miktarında artışa neden olmaktadır(14). Ayrıca EGF'nin tükürük bezlerindeki miktarı testesteron uygulaması ile önemli ölçüde artış göstermektedir(15).

Çinko bağırsaklardan az emilen bir elementtir. Birçok enzimde ko-faktör olarak görev yapmakta, eksikliğinde civcivlerde büyüme yavaşlamakta, deri lezyonları, kıl kaybı, deride kalınlaşma ,ülserasyon meydana gelmekte, yara iyileşmesi gecikmektedir(16). Bu arada çinkonun organizmada en fazla bulunduğu yerlerden biri de erkek seks organlarıdır (17). Çinkonun absorpsiyon açısından bakır ile yarışması da çinko düzeyi ile bakır arasında bağlantı olduğunu göstermektedir (18). Ayrıca çinko eksikliğinde farelerde testesteron seviyesinde düşme saptanmıştır(19).

Bu bilgilerden hareketle submandibular bez ve özellikle içindeki proteinlerden biri olan EGF ile çinko arasında bir etkileşimin olabileceğini düşündük. Submandibular bez ekstreleri hazırlayarak EGF içerdiğini kanıtladık. Çalışmamızda bu ekstrenin serum çinko düzeyine etkisi olup olmadığını araştırarak EGF ile bağlantısını saptamayı amaçladık.

DENEL KISIM

Materyal ve Metod

İlk aşamada erkek ve dişi farelerden submandibular bez ekstreleri hazırlandı ve aktivite kontrolü yapıldı (12, 13, 20).

Deney hayvanları ayrı kafeslerde, doğal ışık şartlarında havalandırılabilir yerde, serbest su ve yem ile beslendiler. Beden ağırlığı ortalama 35 g olan erkek fareler kullanıldı. 15 adet fareye hazırlanmış olduğumuz erkek fare submandibular bez ekstresinden 0.005 ml/1.5 g /gün dozunda intraperitoneal yolla injekte edildi(13). Kontrol olarak 7 adet fareye hiçbir işlem yapılmadı. Diğer bir kontrol grubunu oluşturmak üzere 8 adet fareye daha az EGF içeren dişi fare submandibular bez ekstresinden 0.005 ml/1.5 g/gün dozunda intraperitoneal yolla injekte edildi. Erkek ve dişi fare ekstreleri deneklere 10 gün süre ile injekte edildi. Bu sürenin sonunda dekapite edilerek kanları toplandı. 12 saat buzdolabında bekletilerek serumları ayrıldı. Seyreltilerek Varian Techtron Model 1200 tipi atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile çinko tayinleri yapıldı(21).

SONUÇ VE TARTIŞMA

Deneysel sonuçlarımıza göre erkek farelerden hazırlanan submandibular bez ekstresi ile dişi farelerden hazırlanan submandibular bez ekstresinin serum çinko düzeylerine etkileri birbirinden ve kontrollardan istatistiksel açıdan anlamlı bir fark göstermektedir (Tablo ve Şekil 1). Erkek ve dişi farelerin submandibular bezlerinde özellikle EGF, NGF ve renin'in fazla miktarlarda bulunduğu araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (11). Hazırladığımız ekstrelerin de farklı miktarda protein içerdiği (Tablo 2) ve EGF aktivitesini kanıtlayan yeni doğan farelerde erken göz kapağı açılışı ve diş çıkışma neden oluşu açısından farklılık taşıdığı deneysel olarak gösterilmiştir(20). Erkek seks organlarının fazla Zn taşıyan organlardan oluşu, Zn eksikliğinde büyümede yavaşlama, iştah azalması, deri lezyonlan yanısıra akıl kaybı, testiküler ağırlık kaybı ve gelişiminin deprese oluşu bir çok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (18, 22). Çalışmamızdaki erkek fare submandibular bez ekstresi ve dişi fare submandibular bez ekstresinin serum Zn düzeylerini farklı etkilemesi bezden kaynaklanan proteinlerle bağlantı kurulabileceği ve özellikle EGF açısından dikkati çekebileceği kanisim vermektedir. Zira EGF'nin de yara iyileşmesi ve tüylenme ile direkt

Tablo 1. Dişi ve erkek farelerin submandibular bez ekstrelerinin serum Zn düzeyine etkileri

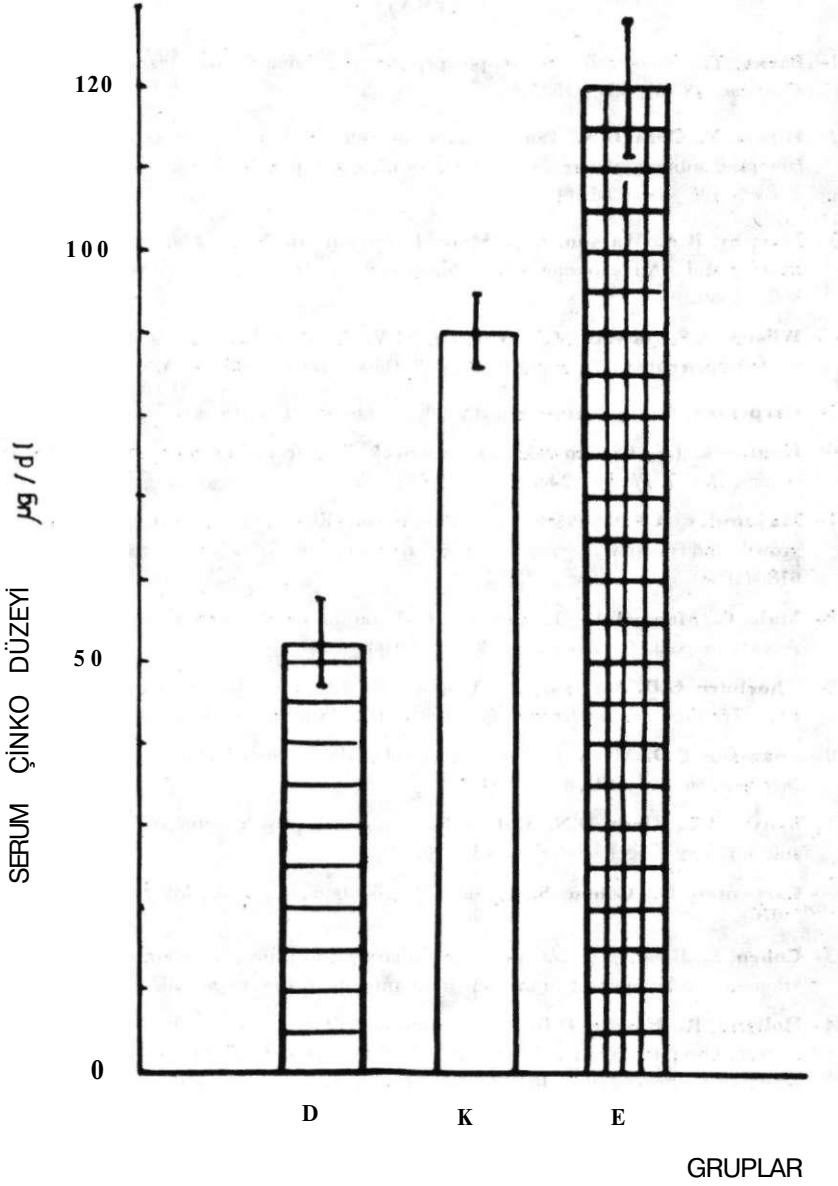
Kontrollar $\mu\text{S/dl}$	Dişi fare SMG ekstresi uygulananlar $\mu\text{B/dl}$	Erkek fare SMG ekstresi uygulananlar $\mu\text{g/dl}$
107.83	56.36	146.13
100.49	41.66	133.84
89.03	47.79	100.36
72.52	40.44	152.43
81.85	42.51	127.44
90.68	74.74	142.14
90.68	71.08	124.5
n = 7	46.56	123.03
$\bar{X} = 90.44 \pm 10.69$	n = 8	103.9
	$\bar{X} = 52.64 \pm 12.66$	102.44
		140.68
		105.37
		117.14
		96.55
		96.55
		n = 15
		$\bar{X} = 120.83 \pm 18.61$

İstatistiksel Analiz

Erkek fare SMG ekstresi-Kontrol	:	t = 3.83	P < 0.001
Erkek fare SMG ekstresi-Dişi fare SMG ekstresi	:	t = 8.88	P < 0.001
Dişi fare SMG ekstresi-Kontrol	:	t = 5.78	P < 0.001

ilişkisi olduğu gibi (10, 13), çinkonun da yara iyileşmesi büyüme ve kıl- larıma ile ilişkisi vardır. Zn eksik deneklerde ülser ve cerrahi yaraların geç iyileştiği, bunun protein ve kollagen sentezi azalmasına bağlı ol- duğu ve Zn tedavisi ile iyileşmenin hızlandığı ileri sürülmektedir(22). EGF'nin de benzer etkileri olması (5, 12, 13) ve daha çok EGF taşı- dığını kanıtladığımız erkek fare submandibular bez ekstrelerinin kont- rollara oranla serum Zn düzeylerini belirgin olarak yükseltmesi bu iki etken arasında testesterona bağımlılıkta olduğu gibi yara iyileşmesi açısından da bir bağlantı olduğunu açıklayabilir.

Araştırmalarımıza tükürük bezleri çıkarılmış denekler ve saf EGF ile devam ederek EGF ve çinko arasında bağlantı olup olmadığını sap- tamak amacındayız.



Şekil 1. Dişi ve erkek submandibular bez ekstrelerinin serum Zn düzeyine etkisi.

- D: Dişi fare submandibular bez ekstresi verilenler
K: Kontrol grubu
E: Erkek fare submandibular bez ekstresi verilenler

LİTERATÜR

- 1- **Barka, T.**, Biologically active polypeptides in submandibular glands, *J. Histochem. Cytochem.*, **28** (8), 836, (1980).
- 2- **Hirata, Y., Orth, D.N.**. Concentration of epidermal growth factor, nerve growth factor and submandibular gland renin in male and female mouse tissue and fluids, *Endocr.*, **105** (6), 1382, (1979).
- 3- **Murphy, R.A., Watson, A.Y., Metz, J., Formann, W.G.**, The mouse submandibular gland: An exocrine organ for growth factors, *J. Histochem. Cytochem.*, **28** (8) 890, (1980).
- 4- **Wilson, A.E., Jawad, M.S., Vernon, M.V.**, Effect of EGF on hormone secretion by term placenta in organ culture, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **149** (5), 579, (1984).
- 5- **Carpenter, G.**, Epidermal growth factor, *Handbook Ex. Pharmac.* 57, 89-123, (1981).
- 6- **Konturek, J.S., Cieskowski, M., Jaworek, J.**, Effect of EGF on gastrointestinal secretions, *Am. J. Physiol.*, **246**, G 580, (1984).
- 7- **Majumdar, A.P.N.**, Postnatal undernutrition: Effect of epidermal growth factor on growth and function of gastrointestinal tracts in rats, *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, **3**, 618, (1984).
- 8- **Malo, C., Menard, D.**, Influence of EGF. on the development of suckling mouse intestinal mucosa, *Gastroenterology*, **83**, 28, (1982).
- 9- **Thorburn, G.D., Maters, J.M., Young, I.R.**, EGF: A critical factor in fetal maturation, *The Fetus and Independent Life*, (1981), **172**, Pitman, London.
- 10- **Adamson, E.D., Meek, J.**, The ontogeny of EGF receptors during mouse development, *Developmental Biol*, **103**, 62, (1984).
- 11- **Bynny, R.L., Orth, D.N., Cohen, S.**, Epidermal growth factor effect on androgens and adrenergic agents, *Endocr.*, **95**, 776, (1984).
- 12- **Carpenter, G., Cohen, S.**, Epidermal growth factor, *Ann. Rev. Biochem.*, **48**, 194, (1976).
- 13- **Cohen, S.**, Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animals, *J. Biol. Chem.*, **207** (5), 1555, (1962).
- 14- **Holland, R., Hardie, D.G.**, Both insulin and EGF stimulate fatty acid synthesis and increase phosphorylation of Acetyl-Co A Carboxylase and ATP citrate lyase in isolated hepatocytes, *FEBS Letters*, **181** (2), 308, (1985).
- 15- **Perheentupa, J., Lakshmanan, J., Hoath, S.B.**, EGF measurements in mouse plasma. Method, ontogeny and sex difference, *Am. J. Physiol.*, **248**, E 391, (1985).
- 16- **Öncüler, A.**, Cıvıvlerde deneysel çinko eksikliği olgusunda gelişen patolojik ve biyokimyasal bulgular, Doktora Tezi, A. Ü. Veteriner Fakültesi, (1984).
- 17- **Prasad, A.S.**, A century of research on the metabolic role of Zn, *Am. J. Clin. Nutr.*, **22**, 1215, (1969).
- 18- **Karacıoğlu, Z.A., Sarper, R.M.**, *Zinc and Copper in Medicine*, 131, Charles C. Thomas Publisher, Illinois, USA, (1980).

- 19- **Lei, K.Y., Abbasi, A., Prasad, A.S.**, Function of pituitary-gonadal axis in zinc deficient rats, *Am. J. Physical.*, **230**, 1730, (1976).
20. **Erbaş, D., Gönül, B., Güvendik, G.**, Epidermal büyüme faktörünün (EGF) lipid metabolizması ile ilişkisinin araştırılması, *Biyokimya Dergisi*, **11** (1). 1986.
- 21- **Cin, Ş., Çavdar, A., Arcasoy, A.**, İz elementlerin incelenmesi, Nuray Matbaası, Ankara, (1972).
- 22- **Yılmaz, D.**, Lokal infiltratif anestezisinde çeşitli lokal anesteziklerin prostoglandin-benzeri aktivite düzeyine etkisi, Doktora Tezi, G.Ü. Dişhekimliği Fakültesi, Ankara, (1986).
23. **Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., et al.**, Protein Measurement With the Folin Phenol Reagent, *J. Biol. Chem.* **193**, 265-75, (1951).