

T.C.
DICLE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Fizyoloji Anabilim Dalı

SIÇANLARDA ETANOLLE OLUŞTURULAN GASTRİK MUKOZAL TAHRİBATA SERBEST RADİKAL VE RADİKAL TEMİZLEYİCİLERİN ROLÜ İLE ANTİOKSİDAN SİSTEMLERDEKİ DEĞİŞİKLİKLER

(DOKTORA TEZİ)

Uzm.Yüksel KOÇYİĞİT

TEZ YÖNETİCİSİ

Prof.Dr.Orhan DENLİ

DICLE ÜNİVERSİTESİ MERKEZ KÜTÜPHANESİ	
Demirbaş No.	38562
Tasnif No.	612.32
	KOÇ
	1998

T. C. DİCLE ÜNİVERSİTESİ KÜTÜPHANESİ	
Demirbaş No.	1998-13-B
Tasnif No.	

DIYARBAKIR - 1998

X

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
GİRİŞ ve AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	5
Serbest Radikallerin ve Lipid Peroksidlerinin Etkisizleştirilmesinde Glutasyon, SOD ve Katalaz'ın Rolü	5
Etanol - Lipid Peroksidasyonu İlişkisi Ve Mide Üzerine Etkileri	16
Etanol - Lipid Peroksidasyonu ve Glutasyon	23
Sukralfat	24
Allopurinol	26
Vitamin E (Tokoferol'ler)	27
MATERYAL ve METOD	30
BULGULAR	37
TARTIŞMA	45
ÖZET	56
SUMMARY	58
KAYNAKLAR	60

Doktora öğrenimim ve tez çalışmalarım süresince beni yönlendiren, engin bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı, danışman hocam Prof.Dr.M.Orhan DENLİ'ye, ayrıca tezimin hazırlanmasında gerekli ilgi, tenkit ve tavsiyeleriyle bana yardımcı olan tüm değerli hocalarıma ve mesai arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Uzm. Yüksel KOÇYİĞİT

GİRİŞ ve AMAÇ

Genellikle, karaciğerin etanol metabolizmasında temel organ olduğu bilinmekte ve gastrointestinal etanol metabolizmasının önemsiz olduğu bildirilmektedir (1). Ancak, son zamanlarda yapılan çalışmalar, normal miktarlarda alınan alkolün (miktar genellikle "sosyal içme" ile ilişkilidir) dikkate değer bir kısmının (yaklaşık %20) sistemik dolaşıma katılmadığı ve temel olarak midede okside edildiğini ortaya çıkarmıştır. Böylece, gastrik etanol metabolizmasının etanolün biyoyararlanımını azalttığı ortaya çıkar ve etanolün penetrasyonu için bir bariyer oluşturabilir, bu suretle onun sistemik etkileri ve potansiyel toksisitesini hafifletebilir. Uzun süren etanol tüketiminden sonra bu bariyerin büyük bir kısmı kaybolur (alkol dehidrojenaz aktivitesinin kısmen azaltılmasına bağlı bir etki). Aslında gastrik alkol dehidrojenaz aktivitesinin anlamlı azalışı, uzun süre alkol içeren diyetlerle beslenmiş ratlarda bildirilmiştir (1,2).

Etanolün, hem insan hem de hayvanlarda gastrointestinal mukozayı irrite ederek hasara ve kanamaya yol açtığı bilinmektedir. Bu hasar, birkaç küçük akut ülserden, gastrik mukozada erozyon ve erozif gastritle birlikte gastrik mukoza inflamasyonunu da içeren farklı şiddette tablolardan oluşur. Böylece gastrit hayatı tehdit eden en az %30 mortalite riski olan ve cerrahi müdahale gerektiren hemorajilere yol açabilir. Etanolün kullanımı, mukoza bariyerini ortadan kaldırarak gastrik mukozayı topikal olarak etkiler. Böylece nekroza yol açan hidrojen iyon dönüşümünün diffüzyonuna neden olur (3).

Serbest oksijen radikallerinin son zamanlarda, iskemi/reperfüzyon, soğuk/ stress, etanol ve nonsteroidal anti-enflamatuar ilaçların neden olduğu gastrik mukozal hasarın patogenezinde major primer bir faktör oldukları gösterilmiştir (4,5). Ancak, gastrik mukozal hasara neden olabilen oksijen radikallerinin gerçek mekanizması açık değildir. Oksidanlar, poliansatüre yağ asitleri, sülfürlü a.a. içeren proteinler ve nükleik asitlerle kolaylıkla reaksiyona girer. Bu da membranın hayati özelliklerini değiştirebilir, epitelya ve endotelyanın bariyer yeteneğine hasar verebilir. Oksijen radikalleri, ayrıca, sekonder mekanizmalarla da gastrik mukozada hasara yol açabilirler. Oksijen radikallerinin, araşidonik asid metabolizmasının ürünleriyle etkileştiği ve gastrik mukozal kan akımını

mukozal ve submukozal damarları büzerek azaltabilen tromboksanın oluşumunu stimüle ettiği bilinmektedir. Bunlara ilaveten, s perokside-bağımlı nötrofillerin birikimi sonucu oluşan mikrovasküler rezistanstaki bir artış, son yıllarda gastrik mukozada oksijen radikal hasarının patogenetik bir mekanizması olarak sunulmaktadır (4,5,6).

Süperoksid anyon ve hidroksil radikali gibi oksijen kaynaklı serbest radikaller sitotoksiktirler ve doku hasarının oluşmasını teşvik ederler. Bu radikaller, daha çok doku hasarına yol açan lizozomal enzimler gibi intrasellüler komponentlerin salınımıyla sellüler membran hasarına neden olurlar. Buna ilaveten radikaller ( zellikle hidroksil radikali), epitelyal membranın temel komponenti olan hiyalüronik asidin degradasyonuna neden olarak mukozal hasar oluşumunu teşvik ederler (3).

Oksidatif hasarlar, lipid peroksidasyonu, enzim inaktivasyonu ve DNA hasarı gibi pekçok olayı içermektedir. Hücrede oksidatif hasar oluşturabilen etkenler; oksijenin univalan redüksiyonu ile oluşan H_2O_2 , süperoksit anyonlar (O_2^-) ve hidroksil radikalleri (OH) gibi oksijen ürünleridir (7). Erişkin insan organizmasında reaktif oksijen metabolitlerini ve lipid kökenli ara ürünleri detoksifiye eden koruyucu antioksidan savunma sistemleri bulunmaktadır (8). Bu antioksidan sistemler enzimatik ve nonenzimatik olarak 2'ye ayrılır. En önemli nonenzimatik antioksidan E vitamini iken, katalaz, süperoksid dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) primer intrasellüler enzimatik antioksidan sistemi oluşurmaktadır (7).

Bunlardan katalaz (ECI. 11.1.6.) hidrojen peroksit ve diğer hidrojen donörlerinin yıkılımını katalizlemektedir. İnsanlarda en yüksek oranda eritrosit, K.C. ve böbrekte bulunan bu enzim serumda daha düşük seviyelerdedir. Diğer antioksidan enzim SOD (EC 1.15.1.1.), organizmada sıvı fazda bulunan, serbest radikallere karşı ilk sırada devreye giren ve etkin bir şekilde süperoksid radikallerini yokeden, eritrokuprein ile identik bir enzimdir (7).

Bu enzimler tarafından yokedilmeye çalışılan oksijen radikalleri hemoglobinin otooksidasyonu ile sürekli olarak oluşabilmekte ve eritrositleri devamlı bir oksidatif strese maruz bırakmaktadır. Bu nedenle eritrositler, antioksidan enzim sistemlerinin çalışılması için çok elverişli bir ortam oluşurmaktadır (7).

Ayrıca bu sistemlerden glutatyon (GSH) redoks siklusu hücre içinde oluşan hidroperoksidlerin indirgenmesini sağlayan temel sistemi oluşturmaktadır. Siklusun anahtar enzimi glutatyon peroksidaz ve bunun da substratı indirgenmiş glutatyondur. GSH sentezi için gerekli NADPH, heksoz monofosfat şantından, glikoz-6-P dehidrojenazın (G-6-PD) yardımı ile sağlanabildiğinden G-6-PD'de önemli bir antioksidan enzim olarak kabul edilmektedir (8).

Endojen antioksidan savunma mekanizmalarının yeterli olması, akut gastrik mukozal hasarın gelişimine karşı korunmada kritik bir öneme sahiptir. Tripeptid glutatyon, insan ve sıçan gastrik mukozasında özellikle yüksek konsantrasyonlarda oluşan endojen bir antioksidandır. İn vitro deneyler, oksidatif strese karşı endotelial hücrelerin ve gastrik ana hücrelerin korunması için GSH'un esas olduğunu göstermiştir. Glutatyon peroksidaz enzimi tarafından katalize edilen GSH oksidasyon/redüksiyon siklusu, H_2O_2 'in indirgenmesinde böylece süperoksid radikallerinden yüksek reaktif hidroksil radikalleri oluşumuna yol açan zincir reaksiyonunu kırmada önemlidir. Buna ilaveten GSH'ın, süperoksid anyonları için doğal bir temizleyici olduğu ve oksidasyona karşı sellüler bütünlüğün korunmasında gerekli olan protein tiol gruplarını koruduğu bulunmuştur. GSH ayrıca diğer serbest radikal temizleyicilerinin restore edilmesinde, vitamin E ve C gibi antioksidanların redükte durumda tutulmalarında major bir role sahiptir (9).

E vitamini (α - tokoferol), diyetle alınan eksojen antioksidan olup, zincir dağıtıcısı peroksil radikallerini tutarak zincir kırıcı bir antioksidan olarak davranır. E vitamini, dokularda olduğu gibi, hem depolama sürecinde besinlerde, hem de gastrointestinal kanal içindeki doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu süresince ortaya çıkan serbest radikal ara maddelerini temizler (10).

Radikal temizleyici ajanlar, allopurinol ve dimetil sülfoksid (DMSO) doza ve zamana bağlı olarak, etanol hasarının iyileşmesini, rejenerasyonu sağlayarak stimüle ederler. DMSO ve allopurinol hidroksil radikalini temizler ve allopurinol süperoksid radikallerinin oluşumundan sorumlu tutulan ksantin oksidazı inhibe eder (3). Sukralfat ise, akut gastrik mukozal korunma sağlayan ve gastrik asid sekresyonunu inhibe

etmeksizin ya da intralüminal asidi nötralize etmeksizin kronik gastrik ve duodenal ülserlerin iyileşmesini hızlandıran nadir ilaçlardan birisidir (11).

Çalışmada bu temel bilgilerin ışığı altında eritrosit glutatyon, SOD ve katalaz, doku MDA ve GSH ile serum MDA düzeyleri ölçülerek etanolün mide mukozasına etkileri ve serbest radikal temizleyicilerinin de bu etkileri ne şekilde giderebildiğini, bununla ilgili olarak etanolün oluşturduğu komplikasyonların patogenezinde serbest radikallerin ve antioksidan enzimlerin etkinliği incelenmeye çalışılmıştır.

GENEL BİLGİLER

SERBEST RADİKALLERİN VE LİPİD PEROKSİTLERİNİN ETKİSİZLEŞTİRİLMESİNDE GLUTATYON, SOD VE KATALAZ'IN ROLÜ:

Oksijen bütün canlılar için toksik etkili bir elementtir. Canlıların çok büyük bir kısmının yaşamlarının devamı için moleküler oksijene mutlak gereksinim duymaları gerçeğine karşın; anaerobik koşullarda yaşayan canlılar için oksijenin varlığı, yaşamlarını sınırlayıcı bir faktördür. Aerobik koşullarda yaşayabilen bütün canlı türleri oksijenin toksik etkilerine karşı enzimatik bir korunma mekanizmasına sahiptirler. Moleküler oksijen kendi başına hiçbir canlıda toksik etkili değildir, ancak hücrede metabolize edilirken bazı toksik ara ürünlere dönüşür. Moleküler oksijenin tek elektron ile tam olmayan indirgenmesi sonucu oksijenin reaktif türleri olan oksijen radikalleri oluşur ve bu radikaller oksijenin toksik etkilerinin tamamından sorumludurlar (12,13). Oksijen radikalleri, oksijeni metabolize eden bütün canlılar tarafından üretilir. Normal koşullarda canlılarda oluşan ilk ve temel oksijen radikali süperoksit radikalidir (süperoksit anyonu, $O_2^{\cdot-}$). Süperoksit radikali;

- a) Başta hem, flavin veya demir-sülfür merkezleri içeren proteinler olmak üzere pekçok enzimatik tepkimelerde,
- b) Bazı oksidaz ve hidroksilaz tepkimelerinde,
- c) Mitokondride elektron transportu sırasında,
- d) Çeşitli biyolojik moleküllerin otooksidasyonunda ve
- e) fagositozda olduğu gibi çeşitli hücrelerin özgün fonksiyonları sırasında üretilen bir oksijen metabolitidir. Süperoksit radikalinin amaçlı olarak üretildiği fagositozda (fagosit edilen partikülü parçalamak için), glukoz tüketimi (NADPH üretmek için) ve oksijen tüketimi (süperoksit üretmek için) artar. Fagositoz yapan hücrede normalin 10-15 katına çıkan oksijen tüketimi, oksijenin fagozom zarındaki NADPH oksidaz tarafından süperoksit üretiminde kullanılmasının sonucudur (12,13,14).

Hücrelerin normal koşullarda süperoksit üretmelerinin yanısıra, bazı çevresel etkenler de bu radikalın hücrede fazla miktarda yapımına neden olurlar. Bu etkenlerin başında bazı kimyasal bileşikler ve ilaçlar ile yüksek enerjili ışınlar (radyasyon) gelir (12).

Besinlerle alınan doğal bileşikler dışında kalan ve çeşitli yollardan organizmaya giren bu bileşikler ksenobiyotik olarak tanımlanmaktadır. Bu kimyasal bileşiklerin zararlarını azaltmak ve organizmayı onlara karşı korumak için, organizmada birçok enzim görev yapmaktadır. Ksenobiyotiklerin bu enzimler aracılığıyla kimyasal değişimlere uğraması biyotransformasyon olarak isimlendirilmektedir. Ksenobiyo-tikler biyotransformasyonla suda çözünürlüğü artan ve böylece organizmadan uzaklaştırılması kolaylaşan bazı ürünlere dönüşmektedir (15).

Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu iki farklı dönemde incelenmektedir. Birinci dönem, oksidasyon, redüksiyon ve hidroliz reaksiyonlarını içermektedir. Bunlardan oksidasyon diğer reaksiyonlara oranla daha önemli bir rol oynamaktadır. İkinci dönem reaksiyonları ise, glikuronidleşme, sülfatlaşma ve glutatyon ile bağlanma gibi değişik konjugasyon reaksiyonlarını kapsamaktadır (15,16). Ksenobiyotiklerden bazıları yalnız birinci dönem, bazıları ise ikinci dönem reaksiyonlarla, fakat büyük çoğunluğu hem birinci dönem, hem de onu izleyen ikinci dönem reaksiyonlarla biyotransformasyona uğramaktadır (15). Biyotransformasyon bazı koşullarda çok toksik bileşiklerin oluşumuna da neden olmaktadır. Kimyasal bileşiklerin bir kısmı doğrudan hasara neden olduğu halde, büyük bir çoğunluğu biyotransformasyon sonucu dönüştüğü ürünler aracılığıyla hasar yapmaktadır (17).

Organizmada ksenobiyotik transformasyonu sonucu oluşan zararlı ürünler üç ana grupta toplanmaktadır (15,17).

1-Serbest radikaller

2-Aldehid yapıllı bileşikler

3-Çeşitli elektrofil bileşikler

Bu zararlı bileşiklerin organizmaya zarar vermeden uzaklaştırılabilmesi için, organizmada güçlü savunma sistemleri bulunmaktadır. Bu bileşiklerin oluşum hızı ile

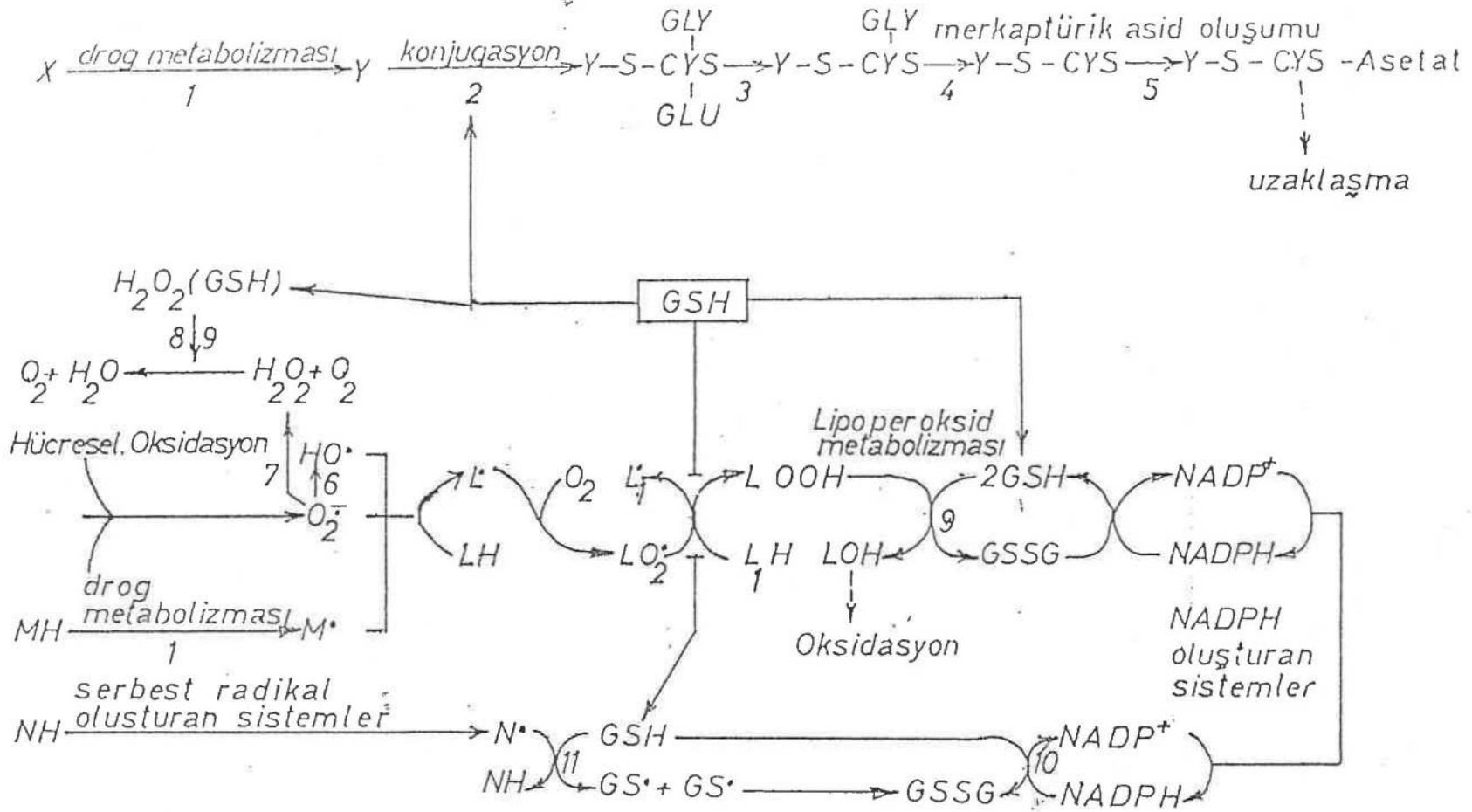
etkisiz kılınma hızı dengede olduğu sürece, organizma bu bileşiklerden zarar görmemektedir. Buna karşılık, savunma azalır, ya da bu zararlı ürünlerin oluşum hızı sistemin savunma gücünü aşarsa, bu denge bozulmakta ve hücre hasarına kadar varan zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır (18,19).

Glutasyon, biyotransformasyonla oluşan zararlı ürünlerin etkisizleştirilmesinde çok önemli rol oynayan bir tripeptiddir. Açık adı γ -glutamil-sisteinil-glisin olan glutasyonun etkin grubu sülfidril (-SH) grubudur. Glutasyon, organizma hücrelerinde bulunan ve hücrenin protein yapısı dışındaki tüm sülfidril grubu içeriğinin %90 kadarını oluşturan temel bir bileşiktir. Glutasyonun, zehirsizleştirmede oynadığı rolün çok yönlü olduğu ve bu işlevi farklı mekanizmalarla yaptığı saptanmıştır (Şekil 1) (5,9,18,20,21,22).

Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu sonucu oluşan serbest radikaller, tek sayıda elektron taşıyan, elektrik yüklü veya yüksüz olabilen çok aktif yapıdaki zararlı bileşiklerdir (18,23). Serbest radikal oluşumunda karaciğer mikrosomal karma fonksiyonlu oksidaz sistemi önemli bir rol oynamaktadır (18). Ksenobiyotiklerin bu sistemle etkileşmesi hidrojen peroksitin yanısıra, süperoksit anyonu, perferil iyonu, hidroksil radikali gibi oksijenle ilgili radikal niteliğinde bileşiklerin oluşumuna neden olmaktadır (18,24). Öte yandan, biyotransformasyonda görev alan enzimlerden aldehid oksidaz ve ksantin oksidaz da, H_2O_2 ve oksijen ile ilgili serbest radikal oluşumuna katkıda bulunmaktadır (18,24).

Serbest radikaller tüm hücre bileşikleriyle etkileşebilme özelliğine sahiptirler. Bunların protein, lipid ve nükleik asit gibi makromoleküllerle etkileşmesi, hücre yapı ve fonksiyonlarında önemli bozukluklara ve sonuçta hücre hasarına neden olmaktadır (17,25,26,27). Bu etkileşmeler arasında, serbest radikallerin hücre zar yapılarındaki çok doymamış yağ asitlerini etkileyerek, lipid peroksidasyonunu uyarması çok önemli bir yer tutmaktadır (17,18,25,26,27,28).

Lipid peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından başlatılan ve zar yapısındaki çok doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olay olarak tanımlanmaktadır (29,30). Bu olay, zincirleme bir reaksiyon olup başlama, ilerleme ve bitme dönemlerini kapsamaktadır (Şekil 2).



Kimyasal bileşiklere bağlı hücre hasarının önlenmesinde glutatyonun rolü

Şekil -1

KISALTMALAR

X, MH ve NH: Ksenobiyotikler

Y: Drog metaboliti

Y-S-CYS (GLU) (GLY): Glutasyonun drog metaboliti ile oluşturduğu konjugat

Y-S-CYS (GLY) ve Y-S-CYS ve Y-S-CYS-Asetat: Merkaptürük asid sentezindeki ara bileşikler

M: Drogdan türeyen serbest radikal

N: Serbest radikal

O₂^{·-}: Süperoksit radikali

HO: Hidroksil radikali

LH, L₁H: Çok doymamış yağ asidleri

L, L₁[·]: Yağ asidi radikalleri

LOOH : Lipid peroksid radikali

LOOH: Lipid hidroperoksid

• LOH: Hidroksil yağ asidi türevi

H₂O₂: Hidrojen peroksid

GSH: İndirgenmiş glutasyon

GSSG: Oksidlenmiş glutasyon

• GS : Glutasyonil radikali

REAKSİYONLAR

1-Drog metabolize edici enzim sistemi

2-Glutasyon S-Transferazlar aracılığı ile veya enzisel olmayan konjugasyon

3-γ-glutamil transpeptidaz

4-Sisteinil glisinaz

5-N-Asetilaz

6-Haber-Weiss ve (veya) Fenton reaksiyonları

7-Süperoksid dismutaz

8-Katalaz

9-Glutasyon peroksidaz

10-Glutasyon redüktaz

11-Glutasyonil radikali oluşumu

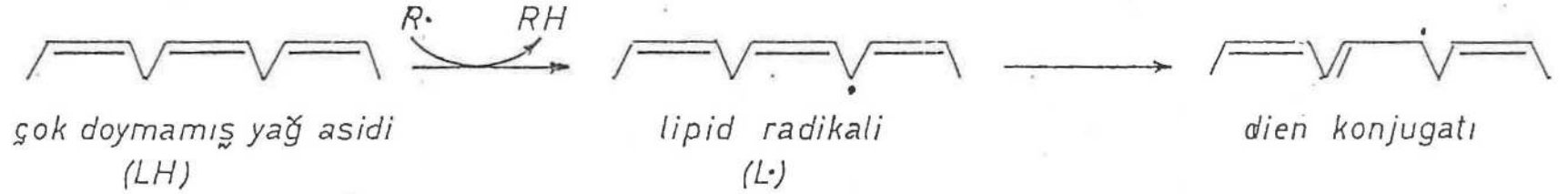
Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan kuvvetli oksidleyici bir radikalin zar yapısındaki çok doymamış yağ asidi zincirindeki β -metilen gruplarından hidrojen atomunu uzaklaştırması ile başlamaktadır. Biyolojik sistemlerde bu serbest radikalin süperoksid anyonu ve hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir (24,29,30,31). Bununla birlikte, süperoksid anyonunun da Haber-Weiss ve (veya) Fenton reaksiyonları ile hidroksil radikaline dönüşerek etkili olduğu ileri sürülmektedir (12,24,30,31). Aynı şekilde, H_2O_2 'in de benzer reaksiyonlarla hidroksil radikaline dönüştüğü bilinmektedir (24,31). Bu nedenle, lipid peroksidasyonunun başlamasını sağlayan başlıca radikalin hidroksil radikali olduğu benimsenmektedir (12,24,31).

Serbest radikal etkisiyle yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidi zincirinin radikal niteliği kazanmasına neden olmaktadır. Böylece oluşan lipid radikal ($L^\bullet$) dayanıksız bir bileşik olup, bir dizi değişikliğe uğramaktadır. Öncelikle molekül içi çift bağ aktarılması (rezonans) ile dien konjugatları oluşmaktadır. Daha sonra, lipid radikalin moleküler oksijenle reaksiyonlaşmasıyla lipid peroksid radikali ($LOO^\bullet$) meydana gelmektedir. Bu lipid peroksid radikalleri de zar yapısındaki çok doymamış yağ asidlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumunu sağlamakta, kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksidlerine ($LOOH$) dönüşmektedir. Böylece, reaksiyonun oto-katalitik bir biçimde yürümesi sağlanmaktadır (12,24,29).

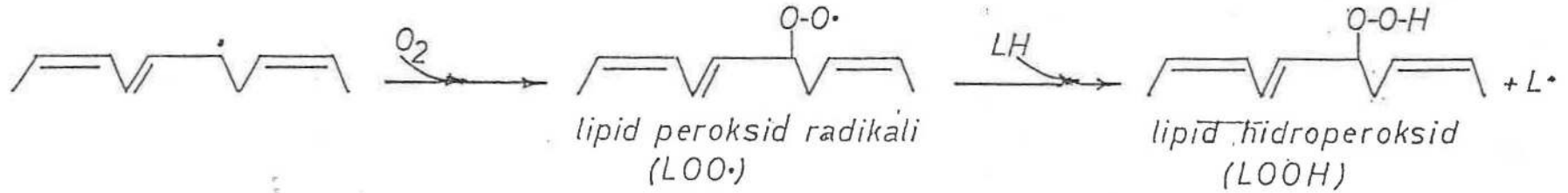
Lipid peroksidasyonu, lipid hidroperoksidlerinin aldehid ve diğer karbonil bileşiklere dönüşmesiyle sona ermektedir (29,30). Bu bileşiklerden biri olan malondialdehit (MDA) miktarı, tiyobarbitürik asid testi ile ölçülmekte ve bu yöntem lipid peroksid düzeylerinin saptanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Lipid hidroperoksidlerinin parçalanması ile oluşan etan ve pentan gibi gazların tayini de son yıllarda lipid peroksid düzeylerinin bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir (32).

Lipid peroksidasyonun üç farklı mekanizma ile hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir (31,33).

Başlama:



İlerleme:



↓
Parçalanma ürünleri
(aldehidler ve diğer karbonil
bileşikler, etan, pentan v. s.)

Şekil 2 - Çok doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu

- 1-Zarın lipid yapısındaki değişiklik sonucu zar fonksiyonunun bozulması,
- 2-Lipid peroksidasyon olayı sırasında oluşan serbest radikallerin, enzimleri ve diğer hücre bileşiklerini etkisizleştirmesi,
- 3-Lipid peroksidasyon olayının son ürünleri olan aldehidlerin sitotoksik etkileri.

Bu üç olayın eř öneme sahip olduğu, birlikte veya birbiri ardı sıra etkili oldukları ileri sürölmektedir (31,33). Bununla birlikte, aldehid yapılı bileşiklerin uzun yaşam süreli ve zarları geçebilme özelliğinde olması, lipid peroksidasyonunun uzak etkilerinden bu bileşiklerin sorumlu olduğunu düşöndörmektedir (33).

Organizmada sürekli bir biçimde serbest radikal niteliğinde bileşikler oluşmasına rağmen, güçlü savunma sistemlerinin varlığı, bunların lipid peroksidasyonunu uyarmasını önlemektedir. Bu savunma sistemlerini, serbest radikal tutucuları ve bazı enzimler oluşurmaktadır. Savunma işlevinde öncelikle enzim sistemi etkili olmaktadır (19,24,31).

Süperoksid dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz, serbest radikallerin birikerek lipid peroksidasyonunu başlatmasını önleyen enzim sistemleridir. Süperoksid dismutaz süperoksid anyonunu, katalaz ve glutatyon peroksidaz ise H_2O_2 'i metabolize etmekte ve böylece hidroksil radikalının oluşumunu engellemektedir (24,31).

Hücrede oksijenin reaktif ve toksik ürünlerine karşı doğrudan koruyucu fonksiyon gören tek enzim SOD enzimi olup, iki süperoksid radikali arasındaki dismutasyon tepkimesini katalizler (12).



Organizmada süperoksid radikalının dismutasyonu ile H_2O_2 oluştuğu gibi, çeşitli enzimler de H_2O_2 oluşumuna katkıda bulunmaktadır. H_2O_2 dayanıklı bir ara bileşik olup, zararlı etkilerini genellikle hidroksil radikale dönüşerek yapmaktadır. Katalaz ve glutatyon peroksidaz, H_2O_2 'i H_2O ve O_2 'e parçalayarak organizmada H_2O_2 birikimini önlemektedirler (24,31).



SOD bulunmayan bir ortamda süperoksit üretilirse, kısa süre de olsa süperoksit birikimi olur ve kendi dismutasyon ürünü olan H_2O_2 ile tepkimeye girerek hidroksil radikali ve singlet oksijenin üretimine neden olur (Haber-Weiss tepkimesi):



Hidroksil radikali, biyolojik sistemlerde oluşabilen en reaktif ve en toksik bileşiktir. 1978 yılında bu radikalin in vivo olarak da üretilebileceği gösterilmiştir (12). Ortamda süperoksit birikmesi durumunda kendiliğinden dismutasyonla oluşabilen bir diğer radikal ise singlet oksijendir (moleküler oksijende paylaşılmamış iki dış elektron ayrı orbitallerde ve spinleri aynı yöndedir. Singlet oksijende ise elektronların spinleri birbirine zıt yönde olup, delta veya sigma formuna göre aynı veya ayrı ayrı orbitallerde bulunurlar (12).

Singlet oksijen ve hidroksil radikali çok reaktif olduklarından, çok düşük derişimlerde bile bütün canlılar için toksik etkilidirler. Bu iki radikalin biyolojik moleküller ile tepkimeye girme hızları moleküllerin diffüzyonu limitine yakındır (tek hız kısıtlayıcı basamak moleküllerin diffüzyon hızıdır) (12). Süperoksit, genel olarak zincirleme radikalik tepkimeleri başlatır ve tepkimeler boyunca hidroksil radikali, singlet oksijen ve organik radikallerin oluşumuna neden olur. Bu nedenle oksijen radikallerine karşı tek enzimatik koruyucu mekanizmanın süperoksitlerin dismutasyonunu katalizlemek basamağında olması anlamlıdır. Böylece radikalik zincir tepkimelerinin başlaması ve tepkimeler boyunca süperoksitten çok daha reaktif ve toksik etkili radikallerin yapımı önlenir. Ancak şu noktaya dikkat edilmelidir: SOD, yalnızca süperoksit üretilen bir sistemde oksijenin toksik etkilerini önler. Radyasyonun etkisinde olduğu gibi, süperoksit radikalinin yanısıra diğer radikallerin de üretildiği bir ortamda, SOD, oksijenin toksik etkilerini tümüyle önleyemez, çünkü koruma basamağı aşılmıştır.

SOD enziminin bugüne kadar 3 formu (izozimi) tanımlanmıştır:

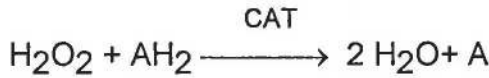
a) Bakır ve çinko içeren dismutaz (Cu-Zn-SOD), 32.000 dalton molekül ağırlığında olup, tek disülfid bağı ile birbirine bağlı aynı yapıdaki iki altbirimden oluşur. Altbirimi başına birer atom bakır ve çinko içerir. Dismutazların sitoplazmik formu olan bu izozim siyanid ile inhibe olur (siyanide duyarlı dismutaz) (12,34).

b) Mangan içeren dismutaz (Mn-SOD), enzimin bütün prokaryotlarda ve mitokondri matriksinde bulunan formudur (1). Prokaryotlarda 40.000 molekül ağırlığında dimer yapıda; mitokondride ise 80.000 molekül ağırlığında tetramer yapıdadır. Altbirimleri birbirinin aynısıdır ve enzim altbirim başına birer atom mangan içerir (12,34).

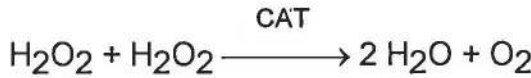
c) Demir içeren dismutaz (Fe-SOD), E.coli B'nin periplazmik bölgesinde bulunmuştur. Kofaktör olarak demir içermesi dışında Mn-SOD'a benzer (12).

Mikroorganizmalardan en yüksek yapıli canlılara kadar, aerobik koşullarda yaşayan canlıların bütün doku, hücre ve hücre organelleri SOD içerirler (12).

Katalaz (CAT), konsantrasyonu değışmekle birlikte bütün hücre tiplerinde bulunan bir hem-enzimdir. Sitozolda ve daha çok peroksizomlarda lokalizedir. CAT, düşük hızlarda H_2O_2 oluşumu durumunda veya yüksek elektron donörü konsantrasyonlarında peroksidatif reaksiyonla,



H_2O_2 oluşum hızının yüksek olduğu durumlarda katalitik reaksiyonla,

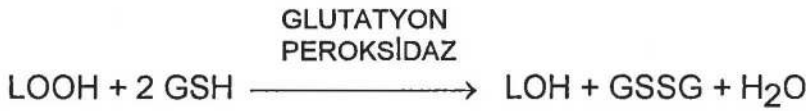


hidrojen peroksiti suya dönüştürerek temizler.

Katalaz ve GPx, her iki enzim de hücre içi H_2O_2 konsantrasyonu regülasyonunda önemli role sahiptirler. Ancak düşük düzeyde H_2O_2 'den hücrelerin korunmasında GPx, katalazdan daha büyük bir role sahiptir. Düşük H_2O_2 düzeylerinde GPx etkindir. Katalazın daha çok H_2O_2 oluşumunun arttığı durumlarda önemli etkinliğinin olduğu kabul edilmektedir. GSH yeterli düzeyde olduğu zaman her iki enzim de H_2O_2 'i benzer hızda redükte ederler. Katalazın daha çok peroksizomlarda, glutatyon peroksitin sitozol

ve mitokondride lokalize olması nedeniyle intrasellüler H_2O_2 konsantrasyonu regülasyonunda birlikte etkinlik gösterdikleri de ileri sürülmektedir (35).

Glutasyon peroksidazın görevi, sadece lipid peroksidasyonunun başlamasını değil, aynı zamanda peroksidasyon sonucu oluşan lipid hidroperoksidleri metabolize ederek, lipid peroksidasyonunun gelişmesini de önlemektir. Bu enzimin selenyuma bağımlı ve bağımsız olmak üzere iki farklı tipi olduğu ve bağımsız olanın sadece lipid hidroperoksidleri metabolize ettiği bildirilmiştir (24,31). Buna karşılık selenyuma bağımlı olan GSH-Px'ın gerek H_2O_2 'i ve gerekse lipid hidroperoksidleri metabolize ettiği saptanmıştır (12,34). Bu reaksiyonlarda glutasyon, hidrojen vericisi olarak görev yapmakta, H_2O_2 ve lipid hidroperoksidleri indirgenirken, kendisi oksidlenmiş şekline (GSSG) dönüşmektedir. Oksidlenmiş glutasyon ise, NADPH'a bağımlı glutasyon redüktaz tarafından tekrar glutatyona indirgenmektedir (24,31).



Son yıllarda glutasyonun serbest radikallerle birleşerek glutasyonil radikali oluşturduğu ve bu radikallerin kendi aralarında birleşerek oksidlenmiş glutatyona dönüştükleri bildirilmiştir. Glutasyonun bu yolla serbest radikal tutucusu olarak görev yaptığı ileri sürülmüştür (36).

İnsan ve birçok diğer türün hemen tüm hücrelerinde bulunan glutasyon metabolizmada önemli rol oynayan bir tripeptittir. Hücre içinde yer alan önemli fonksiyonları;

- Hücre zarlarından aminoasitlerin hücre içine taşınması,
- Koenzim olarak enzim yapısına katılmak,
- Proteinlerdeki sülfhidril gruplarını korumak,

Peroksit, serbest radikaller ve reaktif toksik ara maddelerin zehirsizleştirilmesi olarak sayılabilir (37,38).

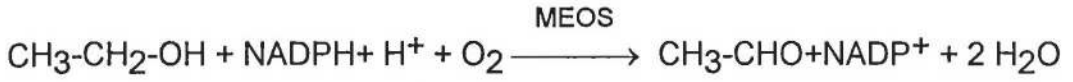
Enzimal savunma yeterli olmayıp, lipid yapılı serbest radikaller oluşursa, vitamin E ve karotenler gibi düşük molekül ağırlıklı serbest radikal tutucuları lipid peroksidasyonunu önlemeye çalışırlar. Askorbik asitte vitamin E'nin indirgenmiş aktif biçimde kalmasını sağlayarak serbest radikal tutucusu olarak görev yapmaktadır (36).

ETANOL-LİPİD PEROKSİDASYONU İLİŞKİSİ VE MİDE ÜZERİNE ETKİLERİ:

Alkol alımının birçok dokuda, özellikle karaciğer ve midede, metabolik değişikliklere ve patolojik bozukluklara yol açtığı bilinmektedir (25,39-45). Yapı bakımından farklı birçok kimyasal madde, insan ve deney hayvanlarının gastrik mukozasında hasar yapmakta ve midenin asit salgılayan bölgelerinin mukozal epitelinde nekroz ve hemoraji gibi ortak histopatolojik elemanlı lezyonlara sebep olmaktadır. Saf etanolün intragastrik verilmesinin, glandüler mide mukozasında lezyonlar oluşturduğu, makroskobik olarak lezyonların hemorajik çizgiler şeklinde olduğu, histolojik bakımdan ise, hemoraji ve submukozal ödemle çevrili farklı derinlikte ülser ve erozyonlu nekrotik alanlar içerdiği gözlenmiştir (1). Bu bozuklukların oluşumundan sorumlu faktörler tam olarak bilinmemekle birlikte, etanolün kendisinden çok metabolizma ürünleri aracılığı ile etkili olduğu benimsenmektedir (1,25,39-47).

Alkol esas olarak karaciğerde ve daha ufak ölçüde diğer dokularda metabolize edilir. Diğer dokular içinde alkolü en fazla metabolize edeni mide mukozasıdır.

Etanol metabolizmasında ilk ürün asetaldehiddir. Etanolün asetaldehide oksidlenmesinde en önemli rolü, karaciğer hücresinin sitozol fraksiyonunda bulunan ve kofaktör olarak NAD^+ kullanan alkol dehidrojenaz oynamaktadır. Ayrıca, bu oksidasyon mikrosomal etanol oksidleyici sistem (MEOS) ve katalaz tarafından da sağlanmaktadır (46-49). MEOS, $NADPH$ ve O_2 kullanan ve etanol oksidlenmesinde %25 kadar katkısı olan bir sistemdir. Bu sistem özellikle kronik alkol alımında önem kazanmaktadır. Buna karşın, katalazın etanol oksidasyonundaki katkısının çok az olduğu saptanmıştır (48,49).



Asetaldehid ise, karaciğer hücresinin mitokondri fraksiyonunda bulunan ve kofaktör olarak NAD^+ kullanan aldehid dehidrojenaz enzimi aracılığı ile asetata dönüşmektedir. Bununla birlikte, asetaldehidin bir bölümünün, sitozolde bulunan aldehid oksidaz ve ksantin oksidaz enzimleri aracılığı ile de asetata oksitlendiği saptanmıştır (48,49).

Etanol metabolizması sonucu oluşan asetaldehid hepatotoksik bir maddedir. Asetaldehid; protein yapısında bozukluğa, antikor oluşumuna, enzim inaktivasyonuna ve DNA onarımında azalmaya neden olur; mikrotübüler, plazma membranları ve mitokondride oksijen kullanımını bozar, lipid peroksidasyona ve hepatik kollajen sentezini artırarak fibrozisin ilerlemesine neden olur (50). Diğer taraftan etanol, ilaç metabolize eden enzim sistemlerini aktive ederek hepatotoksik ajanların aktif metabolitlere biyotransformasyonunu hızlandırır (51,52).

Hem insanlar hem de sıçanlarda, düşük dozda ve normal dozda oral yoldan alkol alındığında, alkolün sistemik dolaşıma geçmeden önce önemli düzeyde metabolize olduğunu bilmekteyiz (53). Etanol oksidasyonu (temel olarak midedeki) bu etkinin büyüklüğünün nedenini izah etmektedir. Bu, "ilk geçiş metabolizması" (FPM= first pass metabolism) etanolün sistemik toksisitesine karşı koruyucu bir bariyer olarak düşünülebilir. Bu bariyer, yüksek doz etanolle yıkılabilir. Bunun etkisi, kronik alkol tüketimine bağlı sekonder olarak gelişen gastrik alkol dehidrojenaz (ADH) aktivitesindeki düşmeyle azalmaktadır. Etanolün, gastrointestinal bölgeden nonmetabolize formuyla istekle ve tamamen absorbe edildiği geniş ölçüde kabul edilmiştir (41,53). Bu yüzden etanolün farklı yollarla alınımıyla biyoyararlanımının

değişmemesi gerekir. Gastrointestinal bölgede ADH bulunduğu ve etanolün bir kısım lokal metabolizmasında rol aldığı rapor edildiği halde, daha sonra bunun ihmal edilebilir nicel düzeyde bir anlamı olduğuna inanılmıştır (53).

Bu sonucun, daha çok aşırı alkol tüketimine bağlı yüksek doz etanol kullanımıyla (3g/kg vücut ağırlığı) ilgili olabileceği öne sürülmüştür.

Intragastrik uygulamadan sonraki periferik kan etanol konsantrasyonunun, intravenöz uygulamadan sonraki periferik kan etanol konsantrasyonundan daha düşük olduğu bulunmuştur (53). Bu yüzden, intragastrik uygulanan etanolün çok az bir bölümü periferik sirkülasyonda tesbit edilmiştir. Gastrointestinal bölgede yavaş bir şekilde absorbe olduğu için, bekleme ihtimali olan dozun bir bölümünü araştırmak için, etanol kan konsantrasyonunun sıfıra ulaştığı sürede, mide ve barsaklardaki etanol konsantrasyonu ölçülmüştür. İnce barsakta 60. dakikada az miktarda etanol saptanmış, bu da, intragastrik uygulamadan sonra etanol dozunun, intravenöz uygulamadan sonraki etanol dozundan daha hızlı elimine edildiğine dair bulguları desteklemiştir. Kan etanol seviyesinin daha yavaş yükselmesine karşılık, intragastrik uygulamadan sonra oluşan asetat (etanol oksidasyon ürünü), periferik sirkülasyonda, intravenöz etanol uygulamasından sonra oluşan asetattan daha çabuk belirmiş, bunun azalmış absorpsiyonla ilgili olmadığı, daha çok artmış oksidasyon sonucu olduğu bulgularını desteklemiştir (54). Kan etanol konsantrasyonlarına zıt olarak, kan asetat düzeyleri intragastrik uygulamadan sonra, intravenöz uygulama sonrasında daha hızlı yükselmiştir. Bu bulgular, intragastrik uygulandığında etanolün daha büyük bir FPM'le açıklanabilir. Etanolla beslenmiş sıçanlarda, intragastrik etanol verildikten sonra ulaşılan daha yüksek kan etanol konsantrasyonları, kronik etanol tüketiminden sonra FPM'de meydana gelen azalmayı desteklemektedir. Böylece, sürekli etanolla beslenme, azalmış bir FPM'le sonuçlanır. Bu sıçanların, mide ve barsaklarında 10.saatte intragastrik verilen etanolün %0.02'inden azı, intravenöz verilen etanolün %0.7'inden azı bulunmuştur (53). Bir çalışmada, kronik alkol tüketiminin FPM'in etkisini azalttığı mekanizmayı araştırmak için, sıçanların gastrointestinal bölgelerindeki ADH aktivitesi ölçülmüştür.

Daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak, midedeki ADH aktivitesinin barsaktaki ADH aktivitesinden daha fazla olduğu bulunmuştur. Midenin korpusunda da daha yüksek aktivite bulunmuştur ve bu aktivitenin kronik olarak alkol içeren dietle beslenen ratlarda anlamlı olarak azaldığı bulunmuştur (53).

Gastrik ADH aktivitesindeki düşüş, etanol FPM'in azalmasına katkıda bulunabilir. Azalmış FPM, etanolle beslenmiş sıçanlarda gastrik boşalım değişikliğinden kaynaklanabilir (53).

Bulgular, etanolün FPM'inin, mideye geçen alkol dozunun önemli bir bölümünü temsil ettiğini göstermektedir. Bu FPM'in büyüklüğü, alkolün biyoyararlanımını, böylece de potansiyel toksisitesini göstermektedir. Uzun süreli alkol kullanımı, koruyucu gastrointestinal bariyere zarar vererek, alkoliklerde etanolün çeşitli toksik belirtilerini ve santral sinir sistemi etkilerini arttırarak, etanolün biyoyararlanım oranını arttırır (53).

Yeni yapılan çalışmalar, mideye geçen etanolün bir bölümünün sistemik sirkülasyona katılmadığını ve gastrointestinal bölgede tutulmadığını göstermektedir. Bu yüzden etanolün gastrointestinal bölgenin daha üst kısımlarında okside olduğu tahmin edilmektedir. Diğer taraftan midenin boşalımında etanolün inhibitör bir etkisi olduğu, bu etkilerin sebebi olarak gösterilmektedir. Gastrik mukozada hem alkol dehidrojenazın varlığı, hem de sıçanların midelerinde in vivo şartlarda etanol okside olma kapasitesi iyi araştırılmıştır. Fakat genellikle bu aktivitelerin minimal kantitatif önemi olduğuna inanılmıştır (54).

Kan etanolünün (infüzyonun 3. ve 5.saatleri arasında) sabit durumda olduğu periyod esnasında hem konsantrasyon ve hem de gastrointestinal bölgedeki etanol içeriğinin değişmeden kaldığı, barsaktaki ortalama etanol konsantrasyonunun kandaki ile orantılı iken midedeki konsantrasyonunun 5 kat fazla olduğu gözlenmiştir-tir. Ayrıca intravenöz infüzyondan sonra etanol konsantrasyonunun hem mide ve hem de barsaktaki konsantrasyonlarının kandakine eşdeğer olduğu bulunmuştur (54).

Hepatik ve gastrik mukozada sitozolik ADH aktivitelerinin, etanole affiniteleri bakımından belirgin olarak farklı olduğu gösterilmiştir (54). Etanolün Km'i hepatic enzim için 0.2 mM iken maksimal etanol konsantrasyonuna kadar gastrik aktivitenin azalmış

gerçek saturasyon kinetikleri kullanılmıştır (1.3 M). NAD'ın Km'i hepatic aktivite için 0.2 mM, gastrik aktivite için 1 mM olduğu, her ikisinin aktivitelerinin pH:7.4'te çok az aktivite gösterirken optimal pH:10.5'te aktiviteleri bakımından birbirlerine benzerlik gösterdikleri bulunmuştur. Her iki enzimin fizyolojik pH'ta düşük aktivite gösterdikleri, hepatic aktiviteyle karşılaştırıldığında gastrik aktivitenin minimal olduğu gözlenmiştir (54). Üst gastrointestinal bölgenin lümeninde etanol konsantrasyonlarındaki benzerliklere zıt olarak hepatic aktivitenin belirgin olarak yüksek etanol konsantrasyonlarında düşerken; gastrik aktivitenin total ADH aktivitesinin önemli bir fraksiyonu haline geldiği ileri sürülmüştür (54).

Sonuçlar, sıçanların üst gastrointestinal bölgelerindeki etanol oksidasyonunun etanol eliminasyonunun total oranının önemli bir fraksiyonu olduğunu gösterir. İntragastrik infüzyonun %19.3 kadar, intravenöz infüzyondan daha hızlı olduğu, böyle bir artışın hem etanolün hızlı eliminasyonuna hem de gastrointestinal bölgedeki etanol retansiyonuna bağlı olduğu bulunmuştur. Bununla beraber her iki uygulama şeklinde de, hem barsak hem de midedeki total etanol konsantrasyonlarının başlangıç ve periyod sonundaki kan seviyeleriyle benzer olduğu, ancak her iki yolla da idrarla etanol eliminasyonunun çok düşük olduğu (total eliminasyonun %0.6'sı) gözlenmiştir. Yine her iki uygulama şeklinde de kandaki etanol konsantrasyonları benzerdir. İntragastrik uygulamadan sonraki etanol eliminasyon oranındaki artış, mide ve barsağın kandakinden yüksek etanol konsantrasyonlarına maruz kalmasına bağlanabilir (54).

Önceki çalışmalarda, sıçan gastrik ADH aktivitesinin hem saturasyon kinetiğini azalttığını hem de etanol için çok yüksek Km değerine sahip olduğu, oysa hepatic ADH aktivitesinin yüksek etanol konsantrasyonlarında inhibe olduğu bildirilmiştir. Sonraki çalışmalarda gastrointestinal bölge mukozasında en yüksek ADH aktivitesinin midede olduğunu göstermiştir. Alkol alımından sonra gastrik ADH aktivite ölçüldüğünde hepatic ADH aktivitenin aşağı yukarı üçte biri kadardır. Buna rağmen NADH ve asetaldehidin in vivo oksidasyon hızları hakkında bilgi azlığı nedeniyle invitrodan invivo'ya kadar aktiviteler hakkında yorum yapmak risklidir. Ancak alınan etanolün azalmış biyoyararlanımında gastrik ADH'nın muhtemel bir rolü olduğunu bazı çalışmalar

desteklemektedir. Bazı araştırmacılar, gastrik ve daha az kapsamda hepatik ADH aktivitelerinin, akut etanol alımından sonra hızla artabileceğini rapor etmişlerdir (54).

Üst gastrointestinal bölgede etanol oksidasyonu, alımdan sonraki kan düzeylerinin ve sistemik etkilerinin araştırılmasında önemli bir faktör olabilir. Gastrik boşaltım hızı, mukozanın yüksek etanol konsantrasyonlarına maruz kaldığı sürenin araştırılmasıyla yardımcı bir rol oynayabilir. Alkol tüketimi sırasında gastrik etanol oksidasyonu, etanolün hepatik ve sistemik biyoyararlanımına etki eder ve bunun da sonuçları toksik olabilir (54).

Öte yandan, son yıllarda gerek eroziv gastritin ve gerekse uzun süre, aşırı alkol alınması sonucu oluşan gastrik mukozanın hemorajik bozukluklarının meydana gelmesinde lipid peroksidasyonunun da sorumlu olabileceği bazı araştırmacılar tarafından ileri sürülmüştür (5,25,43,44,55-58). Etanolün lipid peroksidasyonunu uyarıcı etkisini ya pro-oksidan etkiyle, ya da hücrenin antioksidan kapasitesini düşürerek yaptığı, bu bulgulara dayanarak diğer oksidan ajanlar gibi etanolün de, lipid peroksidasyonunu uyardığı, ancak bu uyarıların hücrenin farklı fraksiyonlarında belirginleştiği bildirilmiştir. Ancak, etanol uygulanmasından sonra lipid peroksidasyonu uyarısının varlığını kabul eden araştırmacılar arasında da bu olayın hücrenin hangi fraksiyonunda başladığı ve başlatıcı faktörün ne olduğu konusunda bir birlik sağlanamamıştır (5,25,43,44,55-59).

Etanolla oluşan gastrik mukozal hasarda, serbest radikal reaksiyonlarının, mikrosirkülasyonu sınırlandırabileceği ve kapiller endotelyumu hasara uğratıp, erken mikrovasküler hasara sebep olduğu birçok araştırmacının gözlemlerinden ortaya çıkan ilginç bir bulgudur. Etanolden sonra gastrik mukozada gözlenen mikrovasküler değişiklikler (permeabilite artışı ve staz); deneysel koşullar altında kontrol edilen serbest radikallerle oluşan değişikliklerle, veya serbest radikallerin katılımının ispatlandığı patolojik olaylarla benzer özellikler göstermektedir (5).

Etanol intoksikasyonunda radikal oluşum mekanizması tam olarak aydınlatılmamışsa da muhtemelen etanolün asetaldehide dönüşümü sırasında veya

doğrudan hipoksantin ve ksantin oksidaz reaksiyonlarıyla olmaktadır. Akut ve kronik alkol, hücre membranında lipid peroksidasyonunu artırır (60).

Kronik alkolizmde mikrozomal süperoksid ($O_2^{\cdot-}$) oluşumu artar. Süperoksid ve hidrojen peroksid reaksiyonu demir ile etkileşerek çok daha güçlü bir radikal olan hidroksilin oluşumuna neden olabilir. Bu da lipid peroksidasyonun serbest radikal oluşum işlemini başlatır (61). Mikrozomal serbest oksijen radikallerinin artışı NADPH'nin mikrozomal elektron transfer zincirinde redüktan rolü vardır. NADPH ve NADH arasında elektron transferi süresince, lipid peroksidasyon, süperoksid ve hidroksil benzeri radikaller oluşur. NADH, reaktif oksijen türevlerinin oluşumunda en az NADPH kadar hatta daha fazla etkilidir. Alkol dehidrojenaz ile etanolün oksidasyonunun bir sonucu olarak NADH artar (62).

Günümüzde serbest radikallerin kanser ve yaşlanma dahil pekçok patolojik olayın ortaya çıkışında rolleri olduğuna dair kanıtlar mevcuttur. İskemi/reperfüzyon, stress, etanol ve nonsteroidal antienflamatuar ilaçlara bağlı gastrik mukoza hasarındaki rolleri ise kesinleşmiştir. Günümüzde, stres ülserlerinin gelişiminde çeşitli faktörlerin rol oynadığına dair pekçok kanıt mevcuttur. Bunlar arasında, mide asit ve pepsin salınımında artma, mukus salınımında azalma, adrenal steroid ve katekolamin düzeylerindeki değişimler, mide mukoza iskemisi ve prostaglandin sentezindeki değişimler sayılabilir. Etanole bağlı ülserlerde lipid peroksidasyonda artma olduğu ancak ülser gelişimi ile glutatyon düzeyleri arasında herhangi bir ilişki olmadığı ortaya konmuştur. Pekçok farklı ülser modelleri ile mide dokusu lipid peroksidasyon ve glutatyon arasındaki ilişkiler yoğun bir şekilde araştırılmaktadır (63).

Lipid peroksidasyonunun yıkım ürünlerinden olan MDA, amino grubu içeren zar komponentleri arasında çapraz bağlantılar meydana getirmektedir. Ayrıca MDA'den başka diğer yıkım ürünleri de proteinler ve lipitler ile reaksiyona girerek çapraz bağlar meydana getirebilmektedir. Bu yapılar hem elektroforez hem de kromatografi yöntemleriyle incelenebilmektedir (64).

ETANOL - LİPİD PEROKSİDASYONU VE GLUTATYON

Akut etanol uygulamasından sonra, karaciğer ve mide glutatyon düzeylerinde azalma olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (5,9,20,21,28,57,65-67). Bununla birlikte, bu azalmanın geçici olduğu ve uygulanan etanol dozuna bağlı olarak 9-12 saat içinde normal düzeylere döndüğü saptanmıştır (21,57,66). Yaygın araştırmalara rağmen, akut etanol uygulamasından sonra K.C. ve mide glutatyon düzeylerinde gözlenen azalmada hangi faktörlerin rol oynadığı aydınlatılamamıştır (5,9,20,21,36,48). Benzer bulgular, CCl_4 , bromobenzen, parasetamol gibi birçok ksenobiyotik için de bildirilmiştir. Buna dayanarak, K.C. glutatyon düzeylerinin normal sınırlarda bulunmasının, ksenobiyotik toksisitesinin önlenmesi yönünden önemli bir faktör olduğu ileri sürülmüştür (68,69).

Akut etanol uygulamasından sonra, K.C. ve mide glutatyon düzeylerinin azalmasının (Şekil 3); a) Lipid peroksidasyon uyarısına, b) Asetaldehid ile glutatyon arasındaki konjugasyona bağlı olduğu düşünülmektedir (36,46,65). Bununla birlikte, her iki faktörün ayrı ayrı veya birlikte ne ölçüde etkili olduğu bilinmemektedir. Bazı araştırmacılar, glutatyon ile asetaldehid arasında bir konjugasyon oluştuğunu ileri sürerlerken (65,70), bazıları ise böyle bir konjugasyonun oluşmadığını bildirmişlerdir (71). Öte yandan, asetaldehidin sistein, metiyonin, penisilamin ve merkaptopro-piyonil glisin gibi bazı sülfidril grubu içeren bileşiklerle konjugatlar oluşturduğu saptanmıştır. Bunlardan özellikle sistein ile aktif bir biçimde etkileştiği bildirilmiştir (9,65). Bununla birlikte akut etanol uygulamasından sonra, K.C. sistein düzeylerinde bir değişiklik bulunamamıştır. Bu nedenle, akut etanol uygulamasından sonra oluşan glutatyon tüketiminde, glutatyonun sisteine yıkımındaki bir artışın rolü olamayacağı ileri sürülmüştür (36).

Akut etanol uygulamasından sonra, K.C. oksidlenmiş glutatyon (GSSG) düzeylerinin arttığı, ayrıca K.C.'den plazma ve safraya GSSG geçişinde bir artış olduğu bildirilmiştir (72,73). Kronik etanol uygulamasından sonra da, safra GSSG düzeylerinin arttığı bulunmuştur. Bu değişikliklerde, etanol uygulamasından sonra K.C. lipid peroksid düzeylerindeki artışın, sorumlu bir faktör olabileceği ileri sürülmüştür (72,73).

Gerçekten, perfüze K.C. hücrelerinde yapılan çalışmalarda, H_2O_2 veya organik hidroperoksidlerin, glutatyon düzeylerini azalttığı, buna karşılık hücreden GSSG atılışını arttırdığı saptanmıştır. Bu GSSG atılışının kullanılan hidroperoksid düzeyleri ile ilişkili olduğu ve bu nedenle K.C. hücrelerini etkileyen peroksidatif bir yüklenmenin sonucu olarak meydana geldiği bildirilmiştir (74).

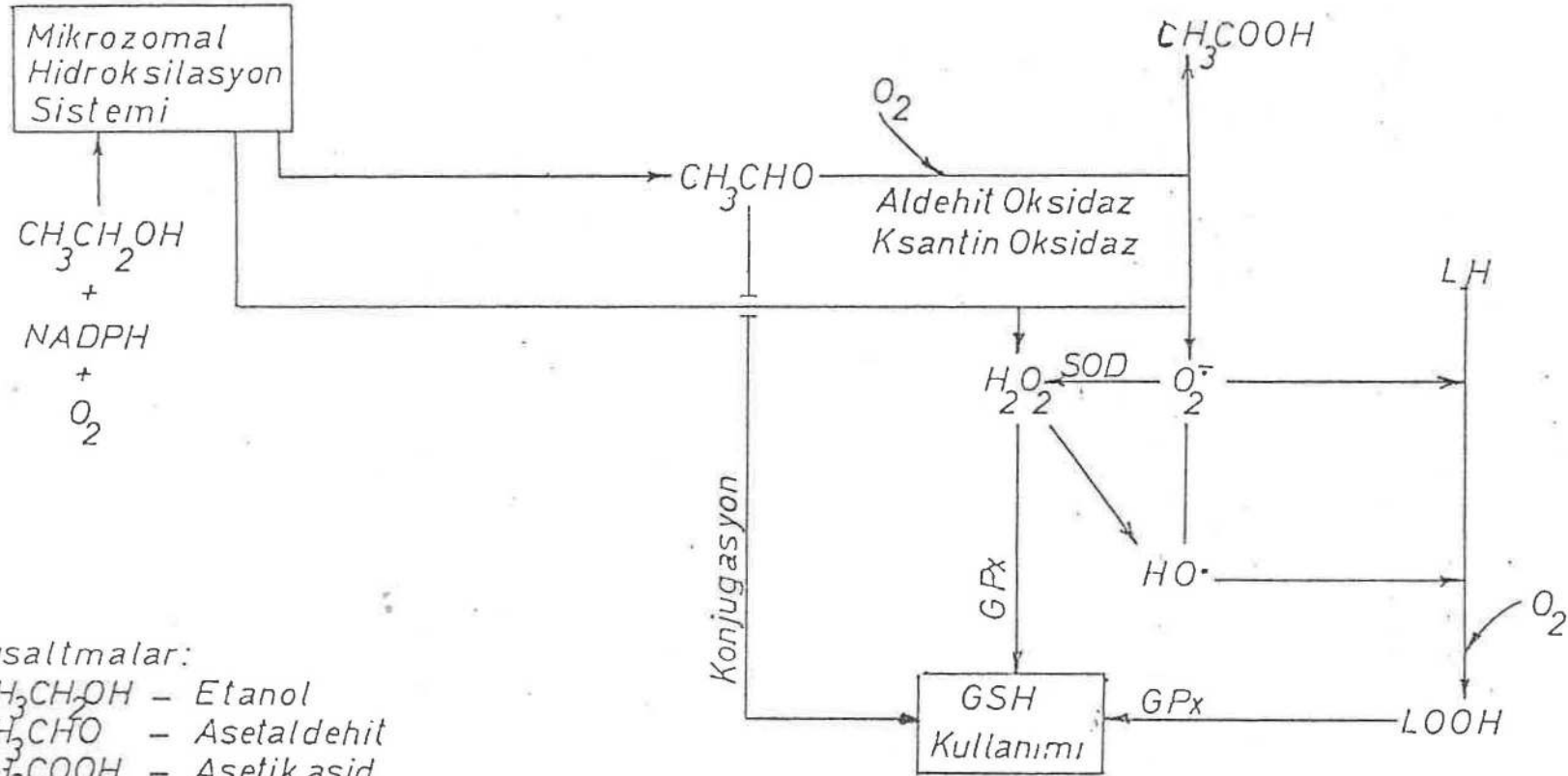
SUKRALFAT

Sukralfat, akut gastrik mukozal korumayı sağlayan ve gastrik asit sekresyonunu inhibe etmeksizin ya da intralüminal asiti nötralize etmeksizin kronik gastrit ve duodenal ülserlerin iyileşmesini hızlandıran olağandışı birkaç ilaçtan biridir (11). Bu beklenmeyen geniş spektrumlu etki, kısmen endojen prostaglandin (PG) sentezinin stimülasyonuna, bikarbonat sekresyonunu arttırmasına, vasküler hasar ve kan akımının sürdürülmesiyle kısmen ilişkili olabilen mukozal proliferatif zonun korunmasına bağlıdır (11).

Sukralfat, endojen proteinleri ve protein olmayan alt gruplarını etkileyebilen alüminyum ve sekiz molekül sülfatla birlikte sukrozdan oluşmuştur. Gastrik erozyonlara karşı sukralfatın etkinliği hakkında yapılan çalışmalar, etanolla oluşturulan hasara karşı özofagus mukozasını korumada sülfatın, sukralfatın aktif bir ingradiendi olduğunu göstermiştir (75).

Sukralfat midede etanolla oluşturulan vasküler hasara ve daha sonra gelişen hemorajik erozyonlara karşı koruma görevi üstlenir. Böylece her ne kadar mukozal korunmanın sukralfatla sağlandığına dair örnekler mevcutsa da, sülfatın direkt olarak faydalı etkilerinden ya da protein SH ile olan etkileşimden sorumlu olduğu ancak bunun tam olarak açık olmadığı bildirilmektedir (bilinmeyen). Özellikle ağır metaller, bakır ve alüminyumla yapılan diğer iyon çalışmaları, etkileşimin protein SH ile olduğunu göstermiştir (76,77).

Etanol ve asetaldehit oksidasyonu sırasında oksijenle ilişkili serbest radikallerin ve bunlar aracılığı ile lipid hidroperoksidlerin oluşumu ve glutatyon ile olan ilişkisi



Kısaltmalar:

CH₃CH₂OH - Etanol

CH₃CHO - Asetaldehit

CH₃COOH - Asetik asid

SOD - Süperoksid dismutaz

O₂⁻ - Süperoksid radikali

HO• - Hidroksil radikali

LH - Çok doymamış yağ asidi

LOOH - Lipid hidroperoksidi

GPx - Glutatyon peroksidaz

GSH - İndirgenmiş glutatyon

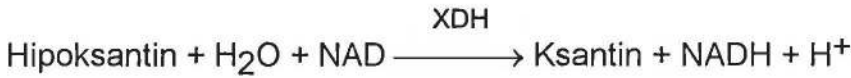
Şekil-3

Gastrik SH, sukralfatın diğeri bir endojen mediatörü olabilir. Endojen SH, prostaglandinlerin etki mekanizmasından sorumlu tutulmuştur.

Başlangıç dozuna karşı oluşan cevapları inceleyen çalışmalar, 10 ve 50 mg/100 g sukralfatın 1 mg/100 g'dan farklı olarak hemorajik mukozal lezyonları önemli derecede azalttığını ortaya çıkarmışlardır. Sukralfatın etkinlik açısından kendi komponentlerinden en az iki kat daha güçlü olduğu yapılan karşılaştırmalarda ortaya çıkmıştır (11).

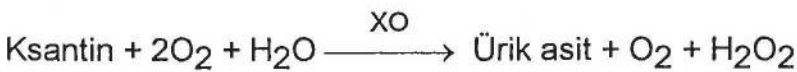
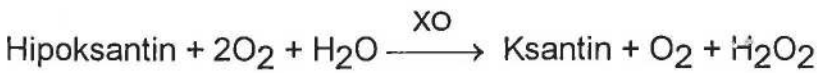
ALLOPURİNOL

Hücre içindeki metabolizmadan sorumlu olan ATP, iskemik ortamda AMP, adenozin ve inozin üzerinden parçalanarak hipoksantin meydana gelir. Hipoksantin, sağlıklı hücrelerde NAD'a bağımlı ksantin dehidrojenaz (XDH) enzimi vasıtasıyla suyu alarak ksantin, NADH ve hidrojen iyonuna dönüşürken (3,78)



doku iskemisi meydana geldiğinde, iskemideki kalsiyum yüklenmesi nedeniyle XDH, oksidan üreten XO haline dönüşür (79).

Gözlemler, oksijenlenmiş kanın iskemik dokuya ulaştığında, hipoksantin ortamdaki moleküler oksijen ve suyu alarak, ksantin oksidaz enzimi vasıtasıyla ksantin, süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit'e dönüştüğünü ve doku yıkımını başlattığını düşündürür. Açığa çıkan ksantin ise, aynı şartlarda ürik aside dönüşürken, yine ortama SOR'i salar (3,78,79).



Aerobik hücreler kendilerini bu yıkımdan korumak için, kompleks bir arıtma sistemine sahiptirler. Serbest radikal temizleyicisi olan bu sistem, bazı biyokimyasal reaksiyonlar sonucu, toksik etkili bazı maddeleri, toksik olmayan maddelere çevirerek, organizmayı zararlı etkilere korur (3,80).

Ksantin oksidaz enziminin de spesifik inhibitörü Allopurinol'dur. XO, iskemik ortamda hipoksantinden ksantin ortaya çıkarken, SOR'ini meydana getirme özelliğinde bir enzimdir. Allopurinol, xoypurinol ve pterin aldehit gibi XO inhibitörleri XO'ın oluşumunu azaltarak, hem epitelyal hücre nekrozunu, hem de artmış olan mikrovasküler permeabiliteyi azaltırlar. Böylece reperfüzyondan sonraki hasarı bir dereceye kadar önlerler. Allopurinolün sadece XO'ın inhibisyonu değil, aynı zamanda süperoksid radikallerini temizleyici bir rolünün de olduğu ve intestinal iskeminin neden olduğu hücresel ATP düşüşünü engellediği de gösterilmiştir (3,78).

E VİTAMİNİ (TOKOFEROL'LER)

Vitamin E aktivitesine sahip olan bileşikler, kimyasal olarak tokoferoller olarak bilinirler. 7 farklı tür E vitamini izole edilmiştir. En yaygın şekli ve biyolojik olarak en aktif şekli dl-alfa-tokoferoldür;

Tokoferol	Ekleri	Gereksinim
Alfa α	5,7,8-Trimetil tokol	Çocuk: 4-5 (IU)
Beta β	5,8-Dimetil tokol	Yetişkin: 12 (IU)
Gamma γ	7,8-Dimetil tokol	Hamilelik: 15 (IU)
Delta δ	8-Metil tokol	
Eta	7-Metil tokol	
Zeta	5,7-Dimetil tokol	

En yaygın sentetik şekli dl-alfa tokoferil asetatıdır. E vitamini, doğada yaygın olarak bulunan, biyolojik aktivitesi yüksek olan, yağda çözünen lipofilik bir antioksidandır (81,82).

Aktif yağ emilimi vitamin E'nin emilimini uyarır. Kusurlu yağ emilimi vitamin E yetmezliğine yol açar. Çünkü tokoferol diyetle yağda çözünmüş olarak bulunmakta, yağ sindirimi esnasında açığa çıkmakta ve emilime uğramaktadır. Bunun ötesinde vitamin, önce kendisinin lipoprotein lipaz içeren dokulara ve şilomikron kalıntılarındaki karaciğere dağılımını sağlayan şilomikron yapısına dahil olarak ve ikincisi çok düşük dansiteli

lipoproteinler tarafından karaciğerden uzaklaştırılarak lipoproteinler aracılığı ile dolaşımda taşınır. Adipoz dokuda depolanır.

Vitamin E çok önemli doğal bir antioksidandır. Vitamin E, sellüler ve subsellüler membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asidlerinin peroksidasyonuna karşı ilk savunma hattını oluşturuyor gibi gözükmektedir. Mitokondri, endoplazmik retikulum ve plazma membran fosfolipidlerinin α -tokoferole karşı affiniteleri vardır ve vitaminin bu konumlarda yoğunlaştığı zannedilmektedir. Tokoferoller, fenolik bir hidrojeni, peroksidasyona uğramış bir poliansatüre yağ asidindeki serbest peroksit radikaline aktarabilmelerinin sonucu serbest radikal zincir reaksiyonlarını kırarak antioksidan bir davranış ortaya koymaktadırlar. Oluşan serbest fenoksi radikali bundan sonra yeni bir serbest peroksit radikali ile reaksiyonlaşır. Böylece α -tokoferol kolay kolay reversibl oksidasyona uğramaz; kroman halkası ve yan zincir, serbest olmayan radikal ürününe okside olurlar. Bu oksidasyon ürünü, ikinci konumdaki hidroksil grubu üzerinden glukuronik asit ile konjugasyona uğrayarak safra yolu ile atılır. Diğer bazı vitaminlerden, örneğin, niyasin, B₁₂ ve folattan farklı olarak, tokoferol görevini tamamladıktan sonra yeniden devreye dahil olmadığından, hücredeki biyolojik rolünü sürdürmek için tümü ile yenilenmelidir. Tokoferolün antioksidan etkisi yüksek oksijen konsantrasyonlarında etkilidir ve bundan dolayı en yüksek oksijen kısmi basınçlarına maruz kalan lipid yapılarında, örneğin, eritrosit membranları ve solunum sistemi membranlarında yoğunlaşma eğilimi hiç de şaşırtıcı değildir (81).

Yapısında tamamlayıcı bir komponent olarak selenyumun yer aldığı glutatyon peroksidaz, membran ve diğer hücre komponentlerinin hasarına yol açan zincir reaksiyonlarındaki çoğalmalarından önce, peroksitlere karşı ikinci bir savunma hattı oluşturur. Böylelikle tokoferol ve selenyum birbirine duyulan gereksinimi indirgemekte veya lipid peroksitlerine karşı olan reaksiyonlarında birbirlerini desteklemektedirler. İlave olarak selenyum, vitamin E dahil, lipidlerin sindirim ve emilimlerinde gerekli olan pankreasın normal işlevi için de gereklidir. Diğer bir yandan vitamin E, vücuttan kaybını engellemek veya aktif formdaki devamlılığını sağlamak yolu ile organizmanın selenyum gereksinimini azaltmaktadır.

Vitamin E gereksinimi, poliansatüre yağların artan alınımı ile birlikte çoğalır. Mineral yağların alınımı, O₂ ile temas (oksijen çadırlarındaki gibi) veya yetersiz lipid emilimine yol açan hastalıklar bu vitaminin nörolojik bozukluklar ile seyreden yetersizliklerine neden olurlar.

Vitamin E, ticari pişirme ve derin dondurma dahil gıda ile ilgili tüm işlemlerde harabiyete uğrar. Buğday tohumu, ayçiçeği tohumu, yalancı susam tohumu, mısır ve soya fasülyesi yağları tümü vitaminin zengin kaynaklarıdır. Balık yağları da vitamin A ve D'nin zengin kaynakları olmakla beraber önemsiz miktarlarda E vitamini de içerirler (81).

Her ne kadar E vitamini fazlalığına bağlı belirgin klinik şikayetler yoksa da hafif kreatinüri ve serum kreatin kinaz (CK) da yükselme dikkati çeker. E vitamini eksikliğinde ise en belirgin klinik bulgular nörolojik disfonksiyon ve kas halsizliğidir (81,82).

MATERYAL ve METOD

A) AKUT ETANOL UYGULAMASINDAN SONRA MİDEDE YAPILAN İNCELEMELER

Akut etanol uygulamasından sonra sıçanların mide dokularında lipid peroksid ve glutatyon düzeyleri incelendi. İncelemeler DÜSAM (Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma Merkezi)'nden sağlanan ağırlıkları 180 ile 250 gr. arasında değişen erkek Wistar albino türü sıçanlarda yapıldı. Hayvanlar 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık ortamda ve optimal ısıda barındırıldı. Deney süresince hayvanların beslenmesinde bir sınırlamaya gidilmedi. Her grupta 9'ar tane olmak üzere toplam 45 sıçan 5 gruba ayrıldı. Bir hafta süre ile her gruba kendi ilacı olmak üzere 160 mg/kg sukralfat, 50 mg/kg Allopurinol, 100 mg/kg vitamin E verildi. Bütün gruplar laparotomi öncesi 24 saat süreyle sadece su alacak şekilde aç tutuldu. Sukralfat distile suda, Allopurinol 0.1M NaOH'de ve vitamin E ise zeytinyağında çözüldü.

- 1) KONTROL GRUBU: Bu gruptaki sıçanlara hiçbir girişim yapılmaksızın eter anestezisi altında laparotomi yapıldı.
- 2) ETANOL GRUBU: Bu grubu oluşturan sıçanlara 24 saatlik açlığı takiben orogastrik yoldan 1 ml etanol verildi. 90 dakika sonra eter anestezisi altında laparotomi uygulandı.
- 3) VİTAMİN E + ETANOL GRUBU: Bu gruptakilere 1 hafta orogastrik yoldan E vitamini verildikten sonra 24 saatlik açlığı takiben yine E vitamini verip 120 dakika sonra da orogastrik yoldan Absolü etanolden 1 ml verip 90 dakika sonra laparotomi yapıldı.
- 4) ALLOPURINOL + ETANOL GRUBU: Bu gruptakilere 3.gruptaki sıçanlara uygulanan işlemlerin aynısı allopurinol için yapıldı.
- 5) SUKRALFAT + ETANOL GRUBU: Bu gruptaki sıçanlar 24 saatlik açlık sonrası orogastrik yoldan 160 mg/kg sukralfat uygulamasını takiben 120 dakika sonra 1 ml absolü etanol yine orogastrik yoldan uygulandı. 90 dk. sonra sıçanlara eter anestezisi altında laparotomi yapıldı.

Laparotomi yapıldığında mide gastroözofagial bileşke ve pilor hizasından olacak şekilde çıkarıldı ve sıçanlar sakrifiye edildi. Mide dokusu, %0.9 NaCl ile yıkandı, filtre kağıdı ile kurutuldu ve kuru bir cam şişede çalışma gününe kadar -20°C'de deepfrez de saklandı. Mide lipid peroksid ve glutatyon düzeyleri 1 hafta içerisinde incelendi. İncelemeler için sıçanlardan venöz kan örnekleri de alındı. Heparinli kan örneklerinden eritrosit paketi hazırlandı. Düz kan örneklerinden de serum ayrıldı. Eritrosit paketlerinde glutatyon, SOD ve katalaz aktiviteleri, serumda ise lipid peroksid düzeyleri incelendi.

1-MİDE LİPİD PEROKSİD DÜZEYLERİNİN SAPTANMASI (83)

500 mg mide dokusu alındı ve Ultra-Turrax T 25 (Janke ve Kunkel) homojenizatöründe 4.5 ml %1.15 KCl ile soğukta homojenize edildi. Bu homojenat 4000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi. Üstteki homojenattan 0.2 ml alındı ve üzerine 0.2 ml %8.1'lik sodyum dodesil sülfat (SDS), 1.5 ml %20'lik asetik asit (pH:3.5), 1.5 ml %0.8 tiyobarbitürik asit ve 0.6 ml distile su ilave edildi, karıştırıldı ve kaynar su banyosunda 60 dakika inkübe edildi. Buzla soğutulduktan sonra, 1 ml distile su + 5 ml bütanol + piridin karışımı (15 ml n-Bütanol + 1 ml piridin) ilave edilerek lipid peroksidleri ekstre edildi. Kuvvetle çalkalanarak 4000 rpm'de 10 dk. santrifüj edildi. Organik tabakanın absorbansı 532 nm'de okundu.

Çözeltiler:

- a) %1.5 KCl
- b) %8.1 SDS
- c) %20 Asetik asit (pH:3.5)
- d) %0.8 TBA
- e) 15 ml n-Bütanol + 1 ml piridin

Hesap: Doku lipid peroksid düzeyleri, extinksiyon katsayısı

($e=1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar nmol malondialdehid/g yağ doku olarak belirtildi.

$$\text{MDA} = \frac{\text{O.D} \times 100 \times 4.2 \times 10}{1.56 \times 0.2} = \text{----- nmol/g doku}$$

2- MİDE GLUTATYON DÜZEYLERİNİN SAPTANMASI (84)

0.1 M fosfat tamponunda (pH:7.4) hazırlanmış %10'luk mide homojenatından 1 ml alındı. Üzerine 1 ml %10'luk triklorasetik asid (TCA) eklendi, karıştırıldı ve 3000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatant'dan 0.5 ml alındı ve üzerine 4.5 ml fosfat tamponunda hazırlanmış Ellman renk ayıracı eklendi. 5 dakika sonra homojenat içermeyen bir ayıraç körüne karşı 412 nm'de absorbans okundu.

Çözeltiler:

a) %10'luk TCA çözeltisi,

b) Ellman renk ayıracı: 4 mg 5.5'-ditiyobis - (2-nitrobenzoik asid) (DTNB), 100 ml 0.1 M fosfat tamponunda (pH:8) eritildi.

Hesap: Mide glutatyon düzeyleri extinksiyon katsayısı ($\epsilon=13.1 \text{ mM}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar $\mu\text{mol/g}$ mide dokusu olarak belirtildi.

B-AKUT ETANOL UYGULAMASINDAN SONRA SERUMDA YAPILAN İNCELEMELER

Akut etanol uygulamasından sonra, sıçanların serumlarında lipid peroksid düzeyleri incelendi.

SERUM LİPİD PEROKSİD DÜZEYLERİNİN SAPTANMASI (85)

0.1 ml serum üzerine 0.1 ml FeCl_3 , 0.1 ml BHT solüsyonları, 1.5 ml Buffer ve 1.5 ml Tiyobarbitürik asit (TBA) ilave edildi, karıştırıldı. Kaynar su banyosunda 15 dk. inkübe edildi. Tüpler, buzlu suda soğutulduktan sonra lipid peroksitleri 1 ml glasiyal asetik asid, 2 ml kloroform ile ekstre edildi. Karışım çalkalanarak 4000 rpm'de 5 dk. santrifüj edildi. Süpernatantın optik dansitesi 532 nm.de distile su körüne karşı okundu.

Çözeltiler:

a) FeCl_3 solüsyonu; 270 mg $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 100 ml distile suda çözöldü.

b) BHT solüsyonu; 220 mg BHT 100 ml etanolde çözöldü.

c) TBA; 0.5 g TBA + 0.3 g SDS, 100 ml distile suda çözöldü.

d) Glisin + HCl Buffer (pH:3.6); 19 ml 1 N HCl + 1.5 g Glisin, 100 ml.ye distile suyla tamamlandı.

e) Glasiyal asetik asid

f) Kloroform

g) 1 N HCl; 8.3 ml HCl 100 ml.ye tamamlanır.

Hesap: Serum lipid peroksid düzeyleri, extinksiyon katsayısı ($1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar nmol malondialdehid/ml serum olarak belirtildi.

$$\text{MDA} = \frac{\text{O.D} \times 100 \times 4.2}{1.56} = \text{----- nmol/ml}$$

C- AKUT ETANOL UYGULAMASINDAN SONRA ERİTROSİTLERDE YAPILAN İNCELEMELER

Akut etanol uygulamasından sonra, sıçan eritrositlerinde Glutasyon düzeyleri ile SOD ve Katalaz aktiviteleri incelendi.

Laparotomi yapılan sıçanların kalplerinden heparinlenmiş enjektörle kan alındı, soğukta 2000 rpm'de santrifüj edildi. Plazma ayrıldı ve dipteki eritrosit çözeltisi %0.9'luk NaCl ile 3 kez yıkandı, santrifüj edildi ve her seferinde üstteki süpernatant ayrılarak eritrosit paketi hazırlandı. Numuneler bekletilmeden incelemeye alındı.

1-ERİTROSİT GLUTATYON DÜZEYLERİNİN SAPTANMASI (86)

* 0.2 ml eritrosit 1.8 ml soğuk bidistile su ile hemoliz edildi. Bu hemolizat üzerine 3 ml 0.7 M perklorik asid eklendi, 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatantdan 1 ml alındı ve üzerine 4 ml 0.3 M Na_2HPO_4 çözeltisi ve 0.5 ml Ellman renk ayırıcı eklendi, 412 nm.de ayıraç körüne karşı absorbans okundu.

Çözeltiler:

a) 0.7 M perklorik asid,

b) 0.3 M Na_2HPO_4 çözeltisi: 4.26 g anhidr Na_2HPO_4 tartıldı ve 100 ml.ye distile su ile çözüldü.

c) Ellman renk ayırıcı: 4 mg DTNB, 10 ml %1'lik sodyum sitrat çözeltisinde çözüldü.

Hesap: Eritrosit glutatyon düzeyleri ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon: 13.1 \text{ mM}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$) kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar mgGSH/100 ml eritrosit olarak belirtildi.

2-ERİTROSİT KATALAZ AKTİVİTESİNİN SAPTANMASI (87)

Eritrosit katalaz aktivitesinin ölçümünde kullanılan metod UV spektrofotometrik bir metod olup, H_2O_2 'in enzimatik (örnekteki katalaz etkisiyle) dekompozisyonuna bağlı olarak H_2O_2 optik dansitesinin değişmesi prensibine dayanır.

5 ml heparinize venöz kan alındı, 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek plazma ve lökositleri uzaklaştırıldı. Elde edilen hemolizatın hemoglobin konsantrasyonu 5 g/dl'ye ayarlandı. Daha sonra bu konsentre hemolizat 1/1000 oranında 50 mM fosfat tamponuyla (pH:7) dilüe edilerek hemolizat ve solüsyonlar aşağıdaki şekilde 2 kuarz küvete konuldu.

A küveti (Kör)

2 ml fosfat tamponu

1 ml hemolizat

B küveti (Örnek)

1 ml fosfat tamponu

1 ml hemolizat

1 ml H_2O_2 (30 mM)

Reaksiyon B küvetinde H_2O_2 ilavesiyle başlatıldı ve 240 nm.de H_2O_2 'in absorbasındaki azalma standart olarak 0.450 değerinden itibaren 15 sn. süreyle izlendi. Deney koşullarında olduğu gibi düşük H_2O_2 konsantrasyonlarında (10-50 mM) H_2O_2 dekompozisyonu, primer enzim-substrat kombinasyonunun olduğu ilk basamak reaksiyonu izler ve bu reaksiyon basamağına ait hız sabiti (k) aşağıda verilen formülle hesaplanabilir. Katalaz aktivitesi, sıklıkla uygun bir referansla (g Hb) ilişkili olarak verilen hız sabiti (k) ile ifade edilir.

$$k = 2.3 / (t_2 - t_1) \times \log E_1 / E_2$$

$E_1 = t_1$ anındaki (0.saniye) H_2O_2 optik dansitesi

$E_2 = t_2$ anındaki (15.saniye) H_2O_2 optik dansitesi

3-ERİTROSİT SOD AKTİVİTESİNİN SAPTANMASI (88)

Yöntemin prensibi, fotoredükte riboflavin-oksijen reaksiyonuyla açığa çıkan süperoksid radikalının ($O_2^{\cdot-}$) neden olduğu nitroblue tetrazolium (NBT) redüksiyonunun süperoksid dismutaz tarafından inhibisyonuna dayanır.

Gerekli stok solüsyonlar:

- a) 1/15 M fosfat tamponu (pH:7.8)
- b) 100 ml.de 1.5 mg sodyum siyanid içeren 0.1M EDTA
- c) 0.12 mM riboflavin (4.5 mg/100 ml, soğukta ve koyu bir şişede saklandı)
- d) 1.5 mM NBT (12.3 mg/10 ml, soğukta saklandı)
- e) Kloroform
- f) Etanol

Deneyin Yapılışı: Heparinize tüpe alınan yaklaşık 5 ml venöz kan santrifüj edilerek plazma ve lökositleri uzaklaştırıldı. Eritrositler serum fizyolojik ile 2 kez yıkandı ve 1.5 hacim soğuk deiyonize su ile hemolize edildi. Elde edilen hemolizatin hemoglobin konsantrasyonu ölçülerek, konsantrasyon 10 g/dl'ye ayarlandı. Daha sonra kloroform-etanol ekstraksiyonu işlemine geçildi. Bunun için 0.5 ml hemolizata önce 3.5 ml soğuk deiyonize su, takiben 1 ml etanol ve 0.6 ml kloroform eklenerek karışım her ilavede ve en son olarak en az bir dakika şiddetle karıştırıldı. Tüpler 3000 rpm'de 10 dk. süreyle santrifüj edilerek enzim berrak üst tabakada elde edildi.

Çalışılacak her örnek için 10 μ l, 20 μ l, 40 μ l, 60 μ l, 80 μ l ve 500 μ l eritrosit ekstresi içeren 6 tüp ve ekstre içermeyen 3 tüp hazırlandı. Bütün tüplere 0.2 ml EDTA/NaCl, 0.1 ml NBT, 0.05 ml riboflavin ve 3 ml.lik total hacim verecek kadar fosfat tamponu eklendi. Riboflavinin en son olarak, tüpler standart bir sıcaklığa (20-22°C) geldikten sonra eklenmesine dikkat edildi. Daha sonra, duvarları beyaza boyanmış ve kapağının iç tarafına 15 W'luk floresan ampül monte edilmiş bir metal kutu içine iyice karıştırılarak yerleştirilen solüsyonlar 15 dakika süreyle üniform bir şekilde illüminasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda her bir solüsyonun optik dansitesi spektrofotometrede 560 nm dalga boyunda ölçüldü.

Hesaplama: Enzim aktivitesi 1g hemoglobine karşılık gelen SOD ünitesi olarak ifade edilir. Enzimin 1 ünitesi ise maksimum NBT redüksiyonunun yarısına yol açan ekstre miktarı olarak tanımlanmıştır. Önce değişik miktarlarda enzim içeren solüsyonlardaki % inhibisyonlar hesaplandı. Bunun için hiç enzim içermeyen (kör) ve değişik miktarda enzim içeren solüsyonların absorbanları kullanıldı.

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 \times (\text{Abs}_{\text{kör}} - \text{Abs}_{\text{örnek}}) / \text{Abs}_{\text{kör}}$$

Daha sonra her bir örnek için apsis eritrosit ekstre hacmini, ordinat NBT redüksiyonunun inhibisyon yüzdesini gösterecek şekilde grafik çizildi. 500 µl ekstre içeren tüpün maksimum inhibisyonu verdiği bu eğriler üzerinde, maksimum inhibisyonun yarısına karşılık gelen ekstre miktarı (V) enzimin 1 ünitesi olarak alındı.

Ölçüm yapılan eritrosit ekstresi desilitresinde 10 g hemoglobin içerdiğinden eritrosit SOD enzim aktivitesi 100.000/V'den ünite/g Hb olarak hesaplandı. İstatistiksel değerlendirilmede student-t testi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı.

BULGULAR

A-ABSOLÜ ETANOL UYGULAMASINDAN SONRA MİDEDE YAPILAN İNCELEMELERDEN ELDE EDİLEN SONUÇLAR (Tablo 1,2)

1-ABSOLÜ ETANOL UYGULAMASININ MİDE LİPİD PEROKSİD DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİ GÖSTEREN BULGULAR (Şekil 4)

a) Kontrol grubuna göre değerlendirildiğinde; etanol ve sukralfat + Etanol gruplarında mide lipid peroksid düzeylerinde anlamlı artışlar gözlenirken ($p<0.001$), Allopurinol + Etanol ve E vitamini + etanol gruplarında istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmedi ($p>0.05$).

b) Etanol grubuna göre değerlendirildiğinde; tüm deney gruplarındaki mide MDA düzeylerinde anlamlı artışlar bulundu ($p<0.001$).

c) Allopurinol grubuna göre değerlendirildiğinde; E vitamini + etanol grubunda bir değişiklik bulunmazken ($p>0.05$), sukralfat + etanol grubunun anlamlı düzeyde arttığı saptandı ($p<0.001$).

d) Vitamin E grubuna göre değerlendirildiğinde ise sukralfat + etanol grubunda önemli düzeyde artışlar gözlemlendi ($p<0.001$).

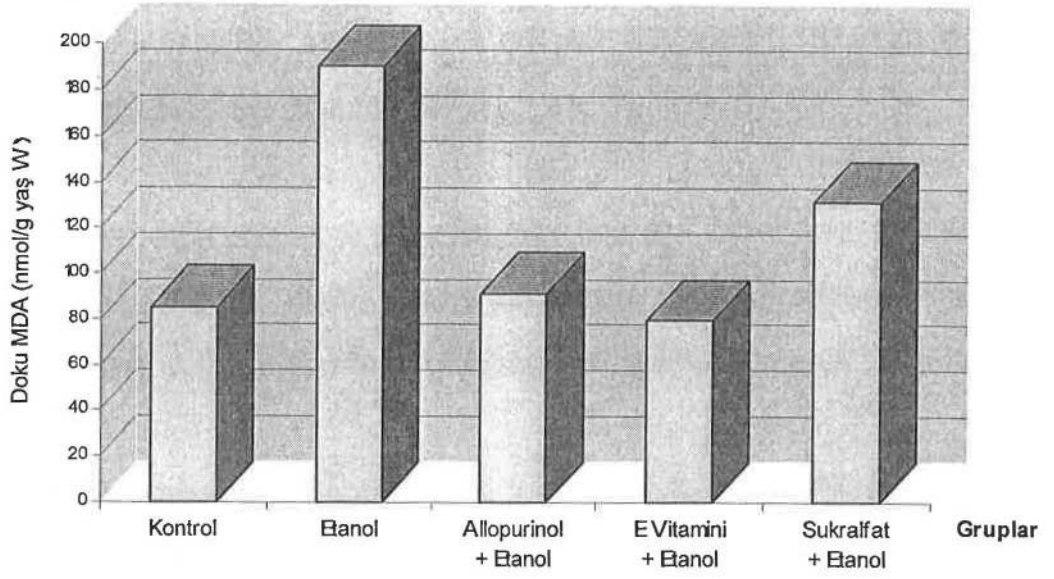
2-ABSOLÜ ETANOL UYGULAMASININ MİDE GLUTATYON DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİ GÖSTEREN BULGULAR (Şekil 5)

a) Kontrol grubuna göre, etanol grubunun GSH düzeyleri düşük ($p<0.05$) bulunurken diğer tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmadı ($p>0.05$).

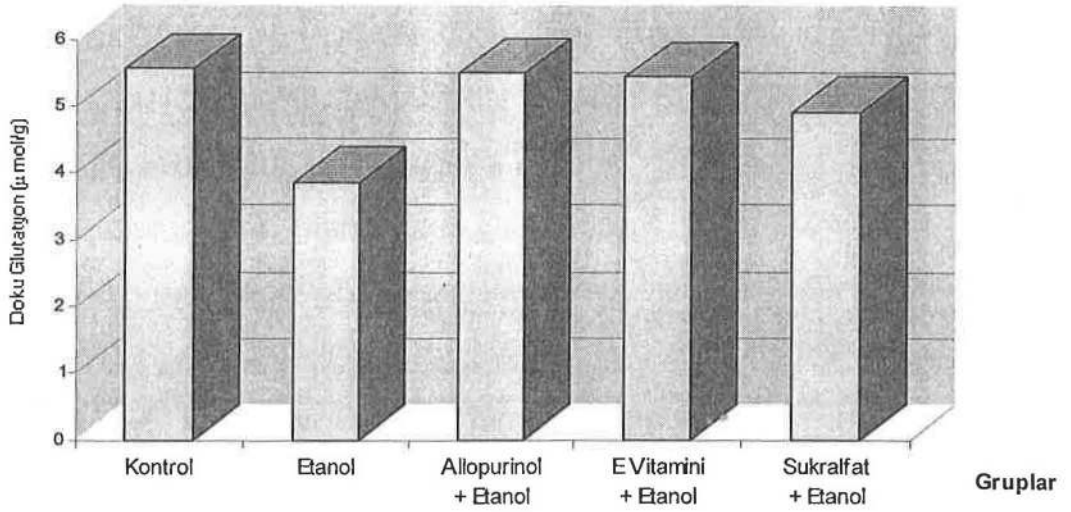
b) Etanol grubuna göre karşılaştırıldığında; Allopurinol + etanol ve E vitamini + Etanol gruplarında GSH düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ($p<0.05$) bulunurken, sukralfat + etanol grubunda herhangi bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

c) Allopurinol grubuna göre karşılaştırıldığında; E vitamini + etanol ve sukralfat + etanol gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik bulunmadı ($p>0.05$).

d) Vitamin E grubuna göre karşılaştırıldığında; sukralfat + etanol grubunda da anlamlı bir değişiklik bulunmadı ($p>0.05$).



Şekil 4. Kontrol ve Deney Gruplarının mide MDA düzeyleri



Şekil 5. Kontrol ve Deney Gruplarının Doku Glutasyon (GSH) düzeyleri

B-ABSOLÜ ETANOL UYGULAMASINDAN SONRA SERUMDA YAPILAN İNCELEMELERDEN ELDE EDİLEN SONUÇLAR (Tablo 1,2).

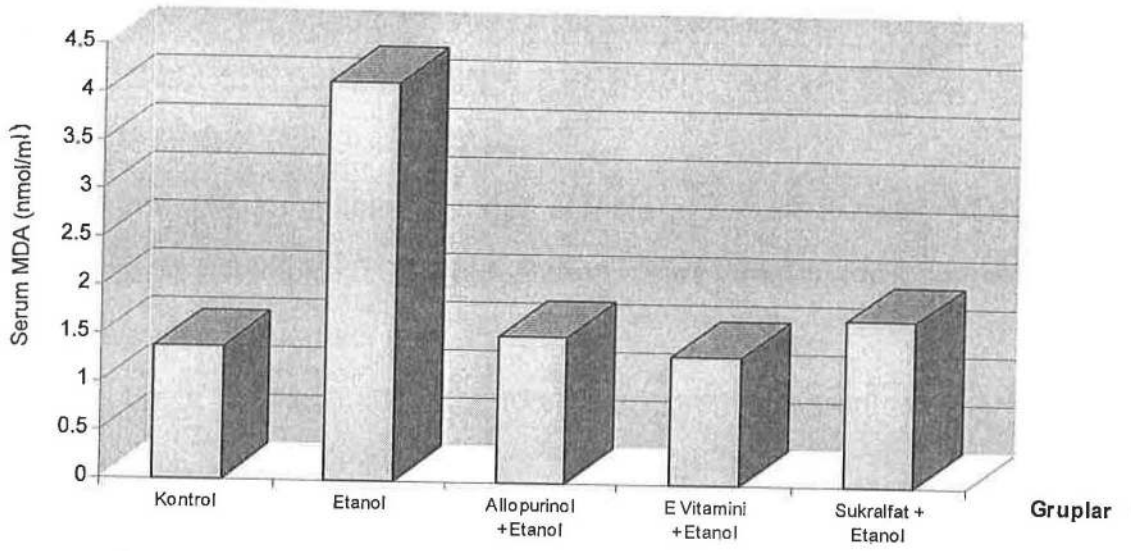
1-ABSOLÜ ETANOL UYGULAMASININ SERUM LİPİD PEROKSİD DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİ GÖSTEREN BULGULAR (Şekil 6)

- a) Kontrol grubuna göre; etanol grubunun serum MDA düzeyleri önemli derecede yüksek ($p<0.001$) iken, diğer tüm gruplarda istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).
- b) Etanol grubuna göre; tüm deney gruplarının serum MDA düzeyleri istatistiksel olarak önemli derecede artmış bulundu ($p<0.001$).
- c) Allopurinol grubuna göre; E vitamini + etanol ve sukralfat + etanol gruplarında anlamlı düzeyde bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).
- d) Vitamin E grubuna göre; Sukralfat + etanol grubunda da anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

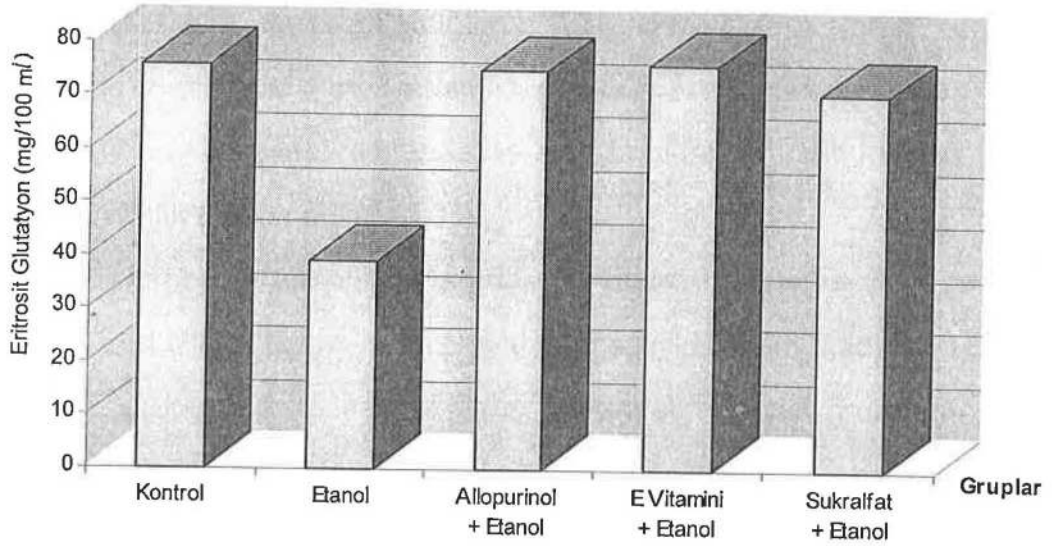
C-ABSOLÜ ETANOL UYGULAMASINDAN SONRA ERİTROSİTLERDE YAPILAN İNCELEMELERDEN ELDE EDİLEN SONUÇLAR (Tablo 1,2)

1-ABSOLÜ ETANOL UYGULAMASININ ERİTROSİT GSH DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİ GÖSTEREN BULGULAR (Şekil 7)

- a) Kontrol grubuna göre; etanol grubunda eritrosit GSH düzeyleri anlamlı derecede düşük ($p<0.001$) iken, diğer gruplarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).
- b) Etanol grubuyla karşılaştırıldığında; tüm grupların eritrosit GSH düzeyleri istatistiksel olarak önemli derecede yüksek bulundu ($p<0.001$).
- c) Allopurinol grubuna göre; E vitamini + etanol ve sukralfat + etanol gruplarında istatistiksel olarak bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).
- d) Vitamin E grubuna göre; Sukralfat + etanol grubunda da istatistiksel olarak herhangi bir değişiklik bulunmadı ($p>0.05$).



Şekil 6. Kontrol ve Deney Gruplarının Serum MDA düzeyleri



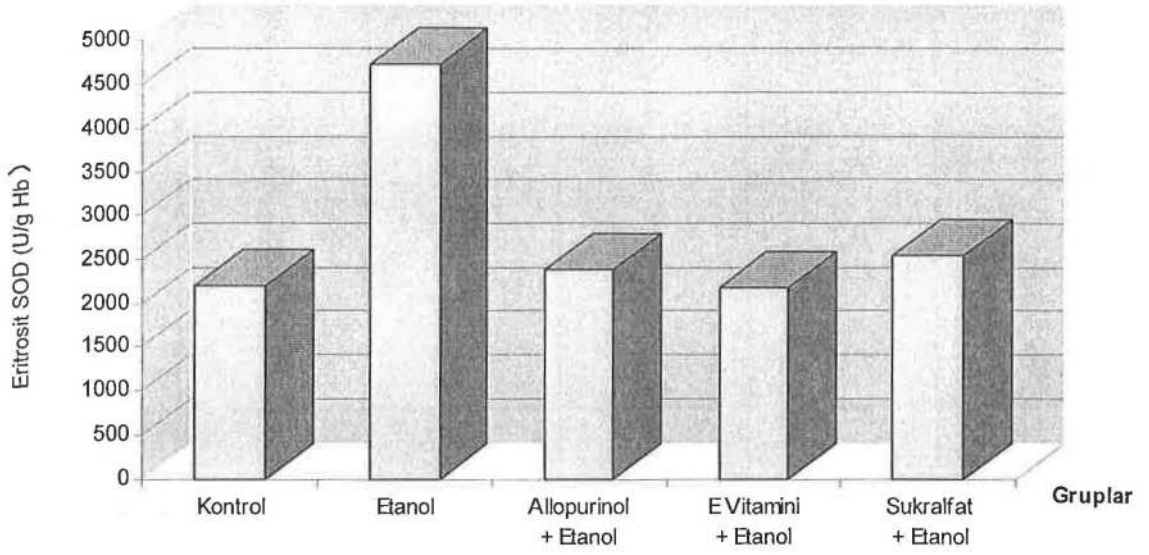
Şekil 7. Kontrol ve Deney Gruplarının Eritrosit Glutasyon (GSH) düzeyleri

2-ABSOLÜ ETANOL UYGULAMASININ ERİTROSİT SOD AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİ GÖSTEREN BULGULAR (Şekil 8)

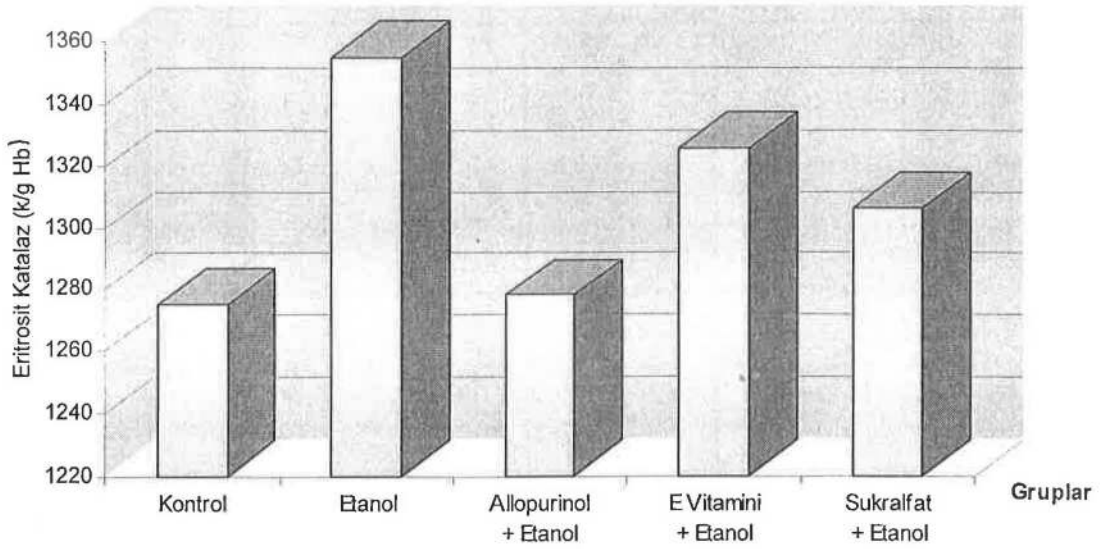
- a) Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; etanol grubunun eritrosit SOD aktiviteleri anlamlı derecede yüksek ($p<0.001$) bulunurken, diğer tüm gruplarda istatistiksel olarak önemli bir değişiklik bulunmadı ($p>0.05$).
- b) Etanol grubuyla karşılaştırıldığında; tüm deney gruplarının eritrosit SOD aktiviteleri istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0.001$).
- c) Allopurinol grubuyla karşılaştırıldığında; E vitamini + etanol ve sukralfat + etanol gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).
- d) Vitamin E grubuyla karşılaştırıldığında; Sukralfat + etanol grubunda da anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

3-ABSOLÜ ETANOL UYGULAMASININ ERİTROSİT KATALAZ AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİ GÖSTEREN BULGULAR (Şekil 9)

- a) Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; tüm deney gruplarının eritrosit katalaz aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).
- b) Etanol grubuyla karşılaştırıldığında da tüm grupların eritrosit katalaz aktivitelerinde anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).
- c) Allopurinol grubuyla karşılaştırıldığında; E vitamini + etanol ve sukralfat + etanol gruplarında istatistiksel bakımından önemli bir değişiklik bulunmadı ($p>0.05$).
- d) Vitamin E grubuyla karşılaştırıldığında; Sukralfat + etanol grubunda da önemli bir değişiklik bulunmadı ($p>0.05$).



Şekil 8. Kontrol ve Deney Gruplarının Eritrosit SOD düzeyleri



Şekil 9. Kontrol ve Deney Gruplarının Eritrosit Katalaz düzeyleri

Tablo I:Tüm grupların mide MDA, glutatyon, serum MDA düzeyleri ile eritrosit glutatyon, SOD ve Katalaz Aktiviteleri

GRUPLAR	Doku MDA (nmol MDA/g yaş w) X ± SD	Doku GLUTATYON (μmol/g) X ± SD	Serum MDA (nmol MDA/ml) X ± SD	Eritrosit GLUTATYON (mg/100 ml) X ± SD	Eritrosit SOD (U/g Hb) X ± SD	Eritrosit KATALAZ (k/g Hb) X ± SD
KONTROL	85.41 ± 17.707	5.5667±1.2845	1.3756±0.3395	76.000±8.5060	2207.45±447.45	1274.96±205.09
ETANOL	190.67±16.745	3.8700±0.8364	4.1289±0.9790	39.341±6.5764	4732.96±926.29	1354.82±256.39
ALLOPURİ- NOL+ETANOL	91.81±15.724	5.5111±1.1720	1.5300±0.2952	74.967±8.7778	2387.42±378.58	1278.04±184.95
E VİTAMİNİ +ETANOL	79.56±15.432	5.4444±1.3839	1.3444±0.3713	76.211±8.5525	2175.04±428.59	1325.95±204.80
SUKRALFAT +ETANOL	131.81±16.393	4.9222±1.2998	1.7233±0.3679	70.826±10.546	2554.22±452.32	1306.08±193.70

Tablo II: Tüm grupların mide MDA, glutatyon, serum MDA düzeyleri ile eritrosit glutatyon, SOD ve Katalaz Aktivitelerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi

Değişkenler	Kontrol (Median)	Etanol (Median)	Allopurinol+Etanol (Median)	Vit E + Etanol (Median)	Sukralfat + Etanol (Median)
Eritrosit Katalaz (k/g Hb)	1302.6	1303.9	1230.4	1306.3	1303.1
Eritrosit SOD U/g Hb)	2300.1	4803.1 ^a	2205.4 ^b	2106.2 ^b	2800.2 ^b
Serum MDA nmol/ml)	1.460	4.120 ^a	1.590 ^b	1.420 ^b	1.780 ^b
Doku MDA (nmol/g yaş w)	92.30	187.1 ^a	95.10 ^b	83.40 ^b	135.5 ^{a,b,c,d}
Doku GSH (μmol/g)	5.800	3.900 ^{aa}	5.900 ^{bb}	5.900 ^{bb}	5.200
Eritrosit GSH (mg/100 ml)	75.00	38.13 ^a	73.90 ^b	75.90 ^b	72.50 ^b

-Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında farkın istatistiksel önemi;

(p<0.001)^a

(p<0.05)^{aa}

-Etanol grubu ile;

(p<0.001)^b

(p<0.05)^{bb}

-Allopurinol grubu ile;

(p<0.001)^c

-Vit E grubu ile;

(p<0.001)^d

TARTIŞMA

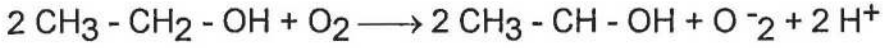
Akut etanol uygulamasından sonra, oksijenle ilgili serbest radikal oluşumunda artışlar olduğu ileri sürülmektedir (5,28,36,43,44,55,56,89). Lipid peroksidasyonunu başlatıcı özellikte olabilen bu radikallerin, etanol ve asetaldehidin metabolizması sırasında olduğu bildirilmiştir (2-5,36,65). Etanolün lipid peroksidasyonunu uyarmasının hidroksil radikalının artışına bağlı olduğu, akut etanol uygulamasından sonra NADPH oksidaz aktivitesinin de arttığı ve bunun da süperoksid radikali aracılığı ile hidroksil radikali oluşumuna katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür (2,14,28,35,36,55). Kronik etanol uygulamasından sonra, MEOS ve NADPH oksidaz (46) aktivitelerindeki artışların daha belirgin olduğu saptanmış ve bu aktivasyonun daha şiddetli lipid peroksidasyon uyarısına neden olabileceği bildirilmiştir (36,62). Bu nedenle etanol toksisitesi, bazı araştırmacılar tarafından oksidatif stresle açıklanmaya çalışılmıştır (3,5,25,41,43,44,56,58-61). Çeşitli yollarla oluşturulan stresin ve alkolün insanlarda ve deney hayvanlarında akut eroziv gastritlerin oluşumunda rol aldığı ve irritatif etki yaptığı, gastrik mukozada erozyona kadar varan lezyonlar oluşturduğu yapılan çeşitli araştırmalardan anlaşılmıştır (3,5,45,53-58,76).

Oksijen radikallerin salınımı, akut gastrik mukozal hasarın oluşumunda patogenetik bir faktör olarak sunulmaktadır. Ancak gastrik mukozal hasarın patogenezi hala tam olarak bilinmemektedir (4,5,21,26,27,42,90).

Etanol ve lipid peroksidasyonu arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalar da farklı sonuçlar vermiştir. Bazı araştırmacılar, malondialdehid ve dien konjugatları, solunum havasında etan ve pentan gazları ölçümü gibi değişik göstergeler kullanarak, akut etanol uygulamasının lipid peroksid düzeylerini arttırdığını bildirdiler (91,92). Aynı şekilde, kronik etanol uygulamasının da MDA düzeylerinde ve dien konjugatlarında artışa neden olduğu saptanmıştır (93). Buna karşılık, bazı araştırmacılar gerek akut ve gerekse kronik etanol uygulamasının lipid peroksid düzeylerini etkilemediğini ileri sürmüşlerdir (94). Yaygın araştırmalara rağmen,

akut etanol uygulamasının mide ve karaciğer lipid peroksid düzeylerini etkileyip etkilemediği kesinlik kazanmamıştır (4,5,46).

Etanol alınımından sonra midede serbest oksijen radikallerinin oluşumunun gerçek mekanizması hala bilinmemektedir (95). Adams, Wilson ve arkadaşları (96) tarafından tanımlandığı gibi, ekstrasellüler olarak etanol, oksijen varlığında metanol reaksiyonuna benzer bir biçimde reaktif radikaller oluşturabilir:



Oksijenli ortamda, etanolün ultraviyole ışığıyla iridasyonu $\text{CH}_3 - \dot{\text{C}}\text{H} - \text{OH}$ oluşumunu ve böylece süperoksid radikallerinin gelişimini kolaylaştırabilir. Son zamanlarda mukozal bariyerin gastrik mukozada etanol diffüzyonunu engellemediği gösterilmiştir. Bundan dolayı lipofilik etanolün rölatif olarak hücreler tarafından tutulabileceği de kabul edilebilir. Bu nedenle etanolün oksidatif metabolizması sitokrom P-450 içeren mikrozomlar tarafından oluşturulan hidroksil radikalleriyle etkileşebilir. Sonuç olarak, sıçanın gastrik mukozasında etanole bağlı oluşan hemorajik lezyonlar ile inflamatuvar reaksiyonlarda gözlemlenen belli olaylar arasında bir benzerlik çizilebilir. Flohe ve ark (97) makrofaj ve polimorfonükleer lökositlerin ekstrasvazasyon ve kanamayla sonuçlanan serbest radikal gelişimi sonucu endotelyuma yapıştıklarını bildirmişlerdir.

Ekstra veya intrasellüler olarak oluşan serbest oksijen radikallerinin oluşumunda etanolün yer aldığı aşıkardır (97). Yüksek reaktiviteleri dolayısıyla, serbest radikaller herhangi bir biyomolekülle etkileşime girebilir ve onu değiştirebilir. Serbest radikallerin kısa-sürelili hasar yapma etkisinin geleneksel olarak doymamış yağ asitlerinin membran organizasyon bozukluğuna ve başlıca onlarla etkileşimine bağlı olduğu düşünülmüştür. Son zamanlarda serbest radikal hasarının enzimler başta olmak üzere proteinlerdeki değişikliklere ve lipid peroksidasyonunun yüksek derecede toksik ürünlerinin çözünerek belli bir mesafede fonksiyonel hasara neden olduğuna dikkat çekilmiştir (5). Gastrik mukozada etanolden sonra gözlenen mikrovasküler değişikliklerin (artmış permeabilite, staz) serbest radikal katılımının gösterildiği patolojik olaylarla benzer olduğu görülmektedir (5).

Etanol, gastrik mukozada mast hücrelerinin degranülasyonu ve lezyonlarına sebep olur. Etanole bağlı mukozal hasar peptik ülserlere karşı koruyucu mekanizmaları araştırmak için standart bir model olarak kullanılmaktadır. Çeşitli faktörlerin sebep olduğu peptik ülserlerin patogenezi, artmış lümen asiditesi, azalmış mukozal kan akımı ve gastrik mukozal bariyerin yıkımını içeren benzer mekanizmalar içerirler. Gastrik motor aktivitenin önemi de vurgulanmaktadır. Kolinerjik sistem keza etanolle oluşmuş gastrik hasara katkıda bulunur. Bazı çalışmalar etanolün mide duvarı ganglionik nikotonik reseptörlerini stimüle ettiğini desteklemektedir (45,98).

Böylece, postganglionik lifler aktive edilir ve midede ülserojenik mekanizma-ların bir kısmını başlatır. %14 konsantrasyonun üzerindeki etanolün mukozal bariyeri kırdığı ve %25 etanolün gastrik mukozada hasarı başlattığı gösterilmektedir (98). Ancak, Mizui ve Doteucki (99) tipik gastrik lezyonların %40'ın üzerindeki etanolle oluşabildiğini rapor etmişlerdir. Vasküler lezyonların oldukça erken dönemde oluştuğu bilinmektedir, ancak Galli ve ark (100) lezyonların tam bir saatte maksimuma ulaştığını bildirmişlerdir.

Araştırmacılar tüm deney gruplarında, çoğu histopatolojik olarak, submukozal ödem, hiperemi, inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonu ve mukozal erozyonlar gibi bulgular gözlemişlerdir (3-6,9,11,20,25,26,28,41-44,98). Çalışmalar hasarın şiddeti ve etanol konsantrasyonu arasında direkt bir ilişki göstermişlerdir (45,98).

Etanolün neden olduğu hasarın gelişme mekanizması hala açık değildir. Olayın vasküler permeabilite artışıyla başladığı sanılmaktadır. Vasküler hasar, etanolün neden olduğu gastrik hemorajik erozyonların gelişiminde erken patogenetik bir faktördür (45,98) Vasküler lezyonun patogenezi bilinmiyor, fakat etanolün ve endotelyal hücrelerde metabolitlerinin direkt etkisiyle bir miktar ilişkili olabilir (98). Andersson ve ark. (101) etanolün neden olduğu gastrik lezyonların gelişiminde mukozal mast hücre histamininin önemli bir rol oynadığını göstermişlerdir. Histaminin önemli bir miktarının etanolle hasardan sonra gastrik mukozada salındığı gösterilmiştir (98).

Etanol alımına bağlı gastritin, besinlerin malabsorbsiyonu sonucu olduğu da ileri sürülmektedir (102). Bununla birlikte, kısmen genetik faktörler ve etanol

metabolizmasındaki bireysel farklılıklardan dolayı etanolün neden olduğu hasar kişiye göre değişebilmektedir (50,103-105).

Süperoksit anyonu ve hidroksil radikali gibi serbest oksijen radikallerinin, intrasellüler birtakım içeriğin dışarı salınımına yol açacak şekilde hücre membran zedelenmesine yol açar. Aynı zamanda bu radikaller epitel bazal membranının esas parçası olan hiyalüronik asit yıkımına yol açarak mukozal yaralanmaya neden olduğu bildirilmiştir (106). Bununla birlikte, etanolün lipid peroksidasyonunu artırma mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bazı araştırmacılar lipid peroksitlerindeki artışların, etanol metabolizması sırasında oluşan serbest radikal nitelikli bileşiklere bağlı olduğunu ileri sürerken (26,44,46,106-108), diğerleri, bu artışların, GSH düzeylerindeki azalmanın bir sonucu olduğu görüşünü benimsemektedirler (20,21,28).

Sıçanlarda yapılan in vitro deneylerde, GSH tüketiminin en yoğun olduğu saatlerde, lipid peroksid düzeylerinin en yüksek düzeylere ulaştığı bulunmuştur (109).

Çalışmamızda, taze mide homojenatlarında malondialdehid ölçümüne dayanan bir yöntemle, absolü etanol uygulamasının lipid peroksid düzeyleri üzerine etkisi incelendi. Etanol ve Etanol + Sukralfat uygulanan grupta kontrol grubu ile karşılaştırıldığında mide mukoza erozyonlarının ve lipid peroksid düzeylerinin anlamlı derecede arttığı gözlemlendi. Bulgularımız, absolü etanol uygulamasının mide lipid peroksid düzeylerini arttırdığını belirgin bir biçimde göstermektedir. Lipid peroksid düzeylerindeki bu artışın, uygulanan etanol dozu ile ilişkili olduğu ve etanol dozu arttıkça şiddetlendiği görülmektedir. Serbest oksijen radikal giderici ajanlar rejenerasyon sureti ile etanolün oluşturduğu hasara karşı doza ve zamana bağlı olarak uyarmaktadır (26,106). Çalışmamızda bu serbest radikalleri çeşitli serbest radikal temizleyiciler ve antioksidan ajanlar ile elimine etmeyi düşündük. Özellikle vitamin E, allopurinol ve sukralfat ile profilaksi yapılan gruplar sadece etanol verilen grup ile karşılaştırıldığında radikal giderici ajanların hem makroskopik hem histolojik düzeyde hem de lipid peroksidasyonu yönünden koruyucu oldukları gözlemlendi.

Özellikle allopurinol ve E vitamini gruplarında dokuda lipid peroksidasyonu göstergesi olan MDA sonuçları kontrol grubu olarak kullanılan etanol uygulanmayan

grubunkine yakın bulunmuştur. Burada serbest radikal temizleyicilerin etanol ile oluşturulan hemorajik gastritte mide mukoza düzeyinde oluşan serbest oksijen radikallerini kısmen elimine edebildiği gözlemlendi. Bu sonuçlar, literatür bulguları ile uyumludur (27,44,55,58,106,110-116).

Bu ajanlar sukralfat ile karşılaştırıldığında sukralfat grubunda hem histolojik değişiklikler hem de lipid peroksidasyon değerleri yönünden daha az yararlı olduğu gözlemlendi. Bazı araştırmacılar sukralfatın yararlı etkileri olduğunu bildirirken (111,112,114-119), kimileri fazla etkili olmadığını ileri sürmektedirler (120,121). Ancak bu ilacın etki mekanizması hala bilinmemektedir (106,122-124). Biz de sonuç olarak, lipid peroksidasyonunu önlemek yönünden sukralfatın en az etkili ajan olduğunu saptadık.

Lipid peroksidasyonunun son ürünleri olan aldehidlerin uzun yaşam süreli ve membranları geçebilme özelliğinde bileşikler olduğu ve lipid peroksidasyonunun oluşum yerinden uzaktaki etkilerinden bu bileşiklerin sorumlu oldukları bildirilmiştir. Uzun süre veya yüksek dozda etanol uygulanan sıçanlarda serum lipid peroksid düzeylerinde bir artış olduğu saptanmıştır (43,44,58,89,90,95,106). Çalışmamızda da etanol uygulanan grupta kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serum lipid peroksid düzeylerinin önemli düzeyde arttığını, diğer tüm gruplarda ise önemli bir değişiklik olmadığını saptadık. Bu sonuçlar, midede oluşan lipid peroksidasyon uyarısının plazmaya da yansıdığını belirgin biçimde göstermektedir. Etanol grubu ile karşılaştırıldığında da tüm grupların serum MDA düzeylerinin anlamlı derecede düşük olduğu gözlemlendi. Allopurinol ve E vitamini uygulanan gruplara göre sukralfat uygulanan grubun serum MDA düzeyleri daha yüksekti. Bu da mide MDA sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Böylece allopurinol ve E vitaminine göre sukralfatın daha az etkili olduğu sonucuna varıldı.

Bugüne kadar yapılan çeşitli araştırmalarda vitamin E'nin kuvvetli antioksidan özelliği ortaya konmuştur (10,27,106,113,127,128). Vitamin E, kalsiyum bağlı fosfolipaz A₂ enzimini aktive ve lipooksijenaz enzimini inhibe ederek prostaglandinlerin sentezini stimüle ederler. Birçok araştırmacı, diette E vitamini yetersizliğinin arteriyel PGI₂

sentezini önemli derecede azalttığını belirlemişlerdir. Böylece hayvanların vitamin E ile ön tedavisi doku prostaglandin düzeylerini arttırabilir ve gastrik hücre hasarını önleyebilir. Ayrıca, vitamin E'nin direkt bir mekanizma ile ülserojenik ilaçlara karşı gastrik mukozal rezistansı arttırdığı ve Vit. E'nin hücre hasarına karşı önemli bir rol oynadığını bildirmişlerdir (27,106,113,126-128)

Vitamin E önemli miktarda, etanol, HCl ve sodyum klorür içeren çeşitli nekrotize edici ajanlara karşı gastrik mukozayı korumaktadır (113). Bulgularımız, etanol sitotoksitesine karşı Vit. E'nin koruyucu aktivitelerini incelemiş olan araştırmacıların bulgularıyla uyum içindedir (27,106,113,126-128). Glutasyonun hücre hasarı proçesinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. Hem GSH peroksidaz hem de GSH-S-transferaz karakteristik olarak gastrik mukozaya yerleştirmişlerdir (126). Szabo ve ark. (129) gastrik mukozal nonprotein sülfhidrillerinin, ülseratif dozlarda nekrotize edici ajanların verilmesinden hemen sonra hızlı bir şekilde azaldığını bulmuşlardır. Vit. E'nin antioksidan etkisi, glutasyonun doku tarafından tüketilmesini önlemek şeklindedir. Ayrıca α -tokeferol'ün antioksidan özelliğiyle ilişkili olmayacak şekilde biyolojik membranların stabilize olmasını sağladığı da gösterilmiştir (126). Ayrıca Vit E'nin peptik ülser profilaksisi, gastrik kanser ve tedavisindeki rolünü gösteren çalışmalar yapılmıştır (113,126,127).

Vitami E, dokularda olduğu gibi hem depolama sürecinde besinlerde hem de gastrointestinal kanal içindeki poliansatüre yağ asidlerinin peroksidasyonu süresince ortaya çıkan lipid peroksidasyon ara ürünlerini temizler (10,128).

Allopurinol ise ksantin oksidaz enzimini inhibe eder. Bu enzim, hipoksantinin ksantin'e ve ksantin'in ürik aside okside olmasını sağlar. İnhibe edilince ürik asid sentezi azalır. Allopurinol alanların hem kanında, hem idrarında ürik asid azalır, idrarda ksantin ve hipoksantin artar. Ürat taşı oluşmaz. Böbrek yetersizliğinde bile etkilidir (130).

Allopurinol'ün intravenöz veya intragastrik kullanımından sonra etanole bağlı hasara karşı koruma sağladığı gösterilmiştir (3,106,110,131-134).

Sukralfatla oluşturulan akut gastroproteksiyon mekanizmasında, alüminyum ve bikarbonat sekresyonunun rolü olduğu tesbit edilmiştir (11). Elde edilen sonuçlarda, sukralfat ve komponentlerinin, çeşitli mukozal hasarlanma ve protektif ajanların etkileşiminde hedef olabilen vasküler hasara karşı koruma sağladığı ortaya çıkarılmıştır (11). Mukozal kapillerlerde etanolle oluşturulan endotelial hasarın önlenmesi yada azaltılması kan akımının devamını sağlayabilir. Gastrik mukozada proliferatif zonun korunmasının gastrik sitoproteksiyon için can alıcı olduğu gösterilmiştir. Hücre proliferasyonu ve hızlı onarım, kanın oksijen tedariği için gerekli olan bir enerji depolama sürecidir. Vasküler hasarın önlenmesi ve mukozal kan akımının devamı, mukozal protektif ajanların ortaya atılan aksiyon mekanizmasında yaygın bir halka olabilir (11).

Eksojen veya endojen prostaglandinlerin (PG) çeşitli tiplerinin, absölü etanol gibi nekroz yapan ajanlara karşı gastrik mukozayı korudukları gösterilmiştir (99,136,137). Ancak bu mekanizma birçok hipotez sunulmasına rağmen tam olarak aydınlatılmamıştır (99,136,137). Fakat lipid peroksidasyonunun inhibisyonu prostaglandinlerin yararlı etkilerinden birisi olabilir (Diğerleri, mukus salgısının stimülasyonu, bikarbonat sekresyonu, vasküler proteksiyon olabilir) (99). Son zamanlarda nonprotein sülfhidril bileşikleri (başlıca redükte glutatyon), gastrik protektif mekanizmada rol sahibi olarak gösterilmektedir (99,129). GSH, oksijen kaynaklı serbest radikalleri içeren zararlı birkaç reaktana karşı hücrel koruma mekanizmasında önemlidir. Dokularda lipid peroksidasyonu olduğunda sellüler GSH miktarının azaldığı gözlenmiştir. Szabo ve ark. (129) gastrik mukozal nonprotein sülfhidrillerinin, "ülseratif dozlarda etanol verilmesinden sonra hızla azaldığını bulmuşlardır. PGE₂ ve spermin gibi sitoprotektif ajanlarla yapılan pretedavi, nonprotein sülfhidril azalışını önleyebilir. Etanol verilmesinden sonra gastrik mukozada nonprotein sülfhidrillerin azalması, dokuda lipid peroksidasyonunun artmasından ileri gelebilir (99,129).

Yeni bir çalışmada, gastrik mukozadaki vasküler hasarın ülseratif dozlarda verilen etanolü takiben hemen oluştuğunu, prostaglandinlerle yapılan pretedavinin bu hasarı önleyebildiğini rapor etmişlerdir (136,137).

Öte yandan, uzun süre alkol alımından sonra, eritrositlerin zar yapı ve fonksiyonlarında belirgin bozukluklar olduğu, eritrosit osmotik fragilitesinin ve hemolize duyarlılığının arttığı saptanmıştır. Bu bozuklukların oluşumundan sorumlu faktörler tam olarak aydınlatılamamasına karşın, eritrosit zarının çok doymamış yağ asitlerince zengin olması ve moleküler oksijenle doğrudan temasda bulunması nedeniyle, bu bozukluklarda lipid peroksidasyon olayının da sorumlu bir faktör olabileceği ileri sürülmüştür (138,139).

Çalışmamızda, mide ve lipid peroksid düzeylerinde önemli artışlar oluşturan absolü etanol uygulamasından sonra, eritrositlerin de etkilenip etkilenmediği incelendi.

Kontrol grubuna göre, etanol grubunun mide ve eritrosit GSH düzeylerinin azaldığını, diğer gruplarda ise önemli bir değişiklik olmadığını gözledik. Etanol grubuna göre karşılaştırdığımızda sukralfat grubunda bir değişiklik olmazken, Allopurinol ve E vitamini gruplarında mide GSH düzeylerinde artış olduğu gözlemlendi. Etanol grubuna göre eritrosit GSH düzeyleri ise tüm gruplarda artmıştı. Gruplar birbirleri arasında karşılaştırıldığında da mide ve eritrosit GSH düzeylerinde önemli bir değişiklik bulunmadı.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, etanolü de kapsayan belli kimyasallar tarafından oluşturulan gastrik mukozal lezyonların, gastrik glutatyon tüketimiyle bağlantılı olduğunu göstermiştir (137,139). Glutatyonun hepatositlerde tüketimi, sitozolik serbest kalsiyum konsantrasyonunda bir artışa yol açar. Gastrik mukozada da glutatyon tüketimi, oxyntic hücrelerde intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunu artırdığı için indirekt olarak gastrik mukozal lezyonlara neden olabilir.(137,139).

Akut etanol uygulanan sıçanlarda mide glutatyon düzeylerinin, uygulanan etanol dozuna bağlı olarak, anlamlı azalmalar gösterdiği birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (20,28,44,95). Bununla birlikte, akut etanol uygulanmasından sonra lipid peroksid düzeyleri ile glutatyon düzeyleri arasında ne tür bir ilişki bulunduğu aydınlatılamamıştır (20,44,73). Bazı araştırmacılar akut etanol uygulamasından sonra mide lipid peroksid düzeylerinde saptadıkları artışın mide glutatyon düzeylerindeki tüketimin bir sonucu olduğunu bildirmişlerdir (20,28,73,95). Gerçekten, allopurinol, E

vitamini, daha az olmak üzere sukralfat gibi, mide glutatyon düzeylerinde önemli derecede azalma oluşturan bileşiklerin deney hayvanlarına uygulanması sonucunda, mide lipid peroksid düzeylerinde önemli artışlar saptanmış ve lipid peroksidasyon uyarısında glutatyon düzeylerinin çok önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (20,28,44,95). Etanol metabolizması sırasında ortaya çıkan reaktif bileşiklerin detoksifikasyonunda glutatyonun rolü vardır. Bazı çalışmalarda, akut etanol uygulamasından sonra karaciğer ve mide homojenatlarının glutatyon içeriğinin azaldığı ve lipid peroksidasyonun artışı ile glutatyon düzeylerinin azalması arasında bir ilişki olabileceği ileri sürülmüştür (20,28,44,73,95).

GSH'un hücreleri koruma mekanizması henüz tam olarak bilinmemesine rağmen serbest radikallerin direkt olarak inaktivasyonunda ve oluşan DNA bozukluğunun giderilmesinde rol oynadığı gösterilmiştir (140). GSH'ın çeşitli hücre-lerde bazı enzimleri, proteinleri ve hücre zarındaki lipoproteinlerin sülfhidril (-SH) gruplarını oksidatif streslere karşı koruyarak hücre içi savunma mekanizmalarında önemli fonksiyon gösterdiği anlaşılmıştır (12,21,22,140).

Sonuçlarımız, etanol grubu dışında diğer tüm gruplarda GSH düzeylerinin değişmemesi, eritrosit ve mide glutatyon düzeylerinin lipid peroksidasyon olayının başlama ve gelişmesine karşı güçlü serbest radikal tutucusu ve antioksidanların önceden uygulanmasıyla önlenmesinden ve uygulamamızın akut olarak yapılmasından ileri gelebilir. Bu da birçok literatürle uyumludur (20,28,44,73,95).

Öte yandan, akut etanol uygulanan sıçanların karaciğer ve mide homojenatlarında SOD aktivitesinin arttığı saptanmıştır (92,125) Bu artışın etanol veya asetaldehid oksidasyonu sırasında süperoksid anyonunun birikimine karşı bir savunma olduğu ileri sürülmüştür (92). Buna karşılık, süperoksid anyonunun dismutasyonunu ile oluşan H_2O_2 'i metabolize eden katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerinde bir değişiklik bulunmamıştır (92,141). Szelenyi ve ark.(56) ne glutatyon Px'ın, katalazın ne de seruloplazminin mukozal hasarın gelişimini inhibe etme yeteneğinde olmadıklarını göstermişlerdir. Buna dayanarak etanolün lipid peroksidasyonunu uyarmasının hidroksil radikalının artışına bağlı olduğu bildirilmiştir (36,92).

Bazı araştırmacılar ise, etanol alınımından sonraki ilk saatlerde total SOD aktivitesinin hızla düştüğünü, etanolün lipid peroksidasyonunu arttırırken serbest radikal tutucuların (GSH ve SOD gibi) aktivitelerinde azalmaya neden olduğunu ileri sürmüşlerdir (44,95,110).

Yapılan çalışmalarda çeşitli dokuların iskemi-reperfüzyon ve gastrik mukozal hasarı önlemede, allopurinol, GSH, SOD, katalaz ve diğer antioksidanların verilmesinin yararlı etkileri gözlenmiştir (22,26,28,42,89,106,127,137).

Pasechnikov ve ark. (28) peptik ülserlilerin gastrik mukozasında yaptıkları çalışmada artmış SOD aktivitesi, deprese olmuş GSH-Px ve GSH-redüktaz, redükte ve okside GSH düzeylerinde azalma, lipid peroksidasyonda artma gözlemlemişlerdir. Bu olayların patogenezinde de lipid peroksid artışının olduğunu belirlemişlerdir.

Çalışmamızda, kontrol grubuna göre etanol grubunun eritrosit SOD aktivitelerinin arttığı, diğer tüm gruplarda ise herhangi bir değişiklik olmadığı gözlemlendi. Etanol grubuna göre ise diğer tüm grupların eritrosit SOD aktivitelerinin düşük olduğu bulundu. Allopurinol, E vitamini ve sukralfat grupları eritrosit SOD aktiviteleri bakımından birbirleri ile karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik bulunmadı. Çalışmamızda elde ettiğimiz SOD düzeylerine ait veriler hem ortalamalar açısından hem de istatistiksel değerlendirme açısından diğer araştırma sonuçları ile uyum göstermektedir (92,125).

Bazı araştırmacılar eritrosit katalaz aktivitesinin arttığını (44,53), bazıları ise katalaz aktivitelerinde herhangi bir değişiklik görülmediğini bildirmişlerdir (43,95).

Yaptığımız çalışmada kontrol grubuna ve etanol grubuna göre eritrosit katalaz aktiviteleri değerlendirildiğinde etanol grubu dahil olmak üzere tüm gruplarda herhangi bir farklılık olmadığı saptandı. Allopurinol, E vitamini ve sukralfat grupları da eritrosit katalaz değerleri yönünden birbirleri arasında karşılaştırıldığında önemli bir farklılık bulunmadı. Bu enzimlerin katalitik etki tarzının farklı oluşu spesifik olduğundan, bu sonuçlar, serbest oksijen radikallerinin akut gastrik mukozal hasarın gelişiminde, major primer ve bağımsız patogenetik bir faktör olduğu yönündeki düşünceleri desteklemektedir (41,43,95).

Sonuç olarak;

- a) Absolü etanol uygulamasının sıçanların mide ve serum lipid peroksit düzeylerini arttırmada, etanol metabolizması sonucu oluşan metabolitlerin ve asetaldehidin, lipid peroksidasyonunun uyarılmasında önemli bir rol oynadığı,
- b) Antiperoksidatif enzimlerin inhibisyonunda da lipid peroksidasyonu stimülasyonunun önemli bir faktör olduğu,
- c) Serbest radikal temizleyici ajan allopurinol ve antioksidan alfa tokoferol'ün etanolla oluşturulan hemorajik gastritte lezyon oluşumunu azalttığı ve lipid peroksidasyonu oluşumunu bloke ettiklerini saptadık. Bunlara göre sukralfatın fazla etkili olmadığını gözledik. Böylece serbest radikallerin etanolla oluşturulan hemorajik gastrit etiopatogenezinde tek başına değilse de rol oynadıklarını ve bir kısım serbest radikal giderici ve antioksidan ajanın hemorajik gastrit tedavisinde kullanılabileceği görüşüne ulaştık. Ancak etanolla oluşturulan gastrik mukozal hasarın oluşumunda serbest oksijen radikallerinin kesin rolünü değerlendirmek için daha ileri çalışmalara gereksinim olduğunu düşünmekteyiz.

ÖZET

Çalışmamızda, yüksek dozlarda mide hasarı oluşturan absolü etanolün, sıçanların mide ve serumlarında lipid peroksit düzeyleri, mide ve eritrosit GSH, eritrosit SOD ve katalaz enzim aktiviteleri üzerindeki rolü ve serbest radikal temizleyici allopurinol, sukralfat ve antioksidan E vitamininin etanolle oluşturulan hasara karşı etkinliği incelendi.

Gastrik lezyonlar 1 ml etanol alınımıyla sıçanlarda indüklenir. Biz de etanol ve etanol + sukralfat uyguladığımız sıçanlarda lipid peroksid düzeylerinin arttığını, vitamin E ve allopurinol verdiğimiz gruplarda bir değişiklik olmadığını saptadık. Etanol intragastrik yolla uygulandı ve mide lipid peroksid düzeyleri mide homojenatlarında TBA testi ile saptandı. İncelemelerimiz sonucunda etanol metabolizması sonucunda indüklenen lipid peroksidasyonunun mukozal hasara yol açtığını, serbest radikal temizleyici ajan allopurinol ve antioksidan vitamin E'nin lezyon oluşumunu azalttıklarını ve lipid peroksidasyonu oluşumunu bloke ettiklerini saptadık. Sukralfat'ın ise fazla etkili olmadığını gözledik.

Etanol uygulanan sıçanların mide ve eritrositlerinde GSH düzeylerinin azaldığını diğer gruplarda ise bir değişiklik olmadığını gözlemledik. Bu da lipid peroksidasyonunun artması sonucu GSH tüketiminin artmasından ileri gelebilir.

Bununla birlikte, absolü etanol uygulamasından sonra lipid peroksid düzeyleri ile glutatyon düzeyleri arasında ne tür bir ilişki bulunduğu tam olarak bilinmemektedir. Etanol uygulanan sıçanların eritrosit SOD aktivitelerinin arttığını diğer gruplarda ise bir değişiklik olmadığını saptadık. Bu artışın etanol veya asetaldehid oksidasyonu sırasında süperoksit anyonunun birikimine karşı bir savunma olduğu düşünülmüştür.

Eritrosit katalaz düzeylerinin ise etanol grubu dahil tüm gruplarda kontrollere göre değişmediğini saptadık. Bunu da lipid peroksidasyon olayının başlama ve gelişmesine karşı güçlü serbest radikal tutucusu ve antioksidanların önceden uygulanmasıyla önlenmesinden ve uygulamamızın akut olarak yapılmasından ileri gelebilir.

Sonuç olarak, serbest radikallerin etanolle oluşturulan hemorajik gastrik etyopatogenezinde tek başına değilse de rol oynadıklarını ve bir kısım serbest radikal giderici ve antioksidan ajanın hemorajik gastrik tedavisinde kullanılabileceği görüşüne ulaştık. Ancak etanolle oluşturulan gastrik mukozal hasarın oluşumunda serbest oksijen radikallerinin kesin rolünü değerlendirmek için daha ileri alışmalara gereksinim olduğunu dşnmekteyiz.

SUMMARY

In our study, we investigated the role of absolute ethanol leading to gastric injury in high doses on the levels of lipid peroxide in stomach and serum of rats, enzyme activities of gastric and erythrocyte GSH, erythrocyte SOD and catalase, and the effectiveness of free radical scavenger allopurinol, sucralfate and antioxidant vitamin E against ethanol-induced gastric injury.

Gastric lesions are induced in rats by 1 ml of ethanol administration. We determined that lipid peroxide levels increased on rats treated with ethanol and ethanol-sucralfate, but did not change in vitamin E and allopurinol administered groups.

Ethanol was intragastrically administered and gastric lipid peroxide levels were determined by TBA test in gastric homogenates. According to our observations, we determined that lipid peroxidation which is induced as a result of ethanol metabolism led to mucosal injury, and that allopurinol, a free radical scavenger agent and vitamin E reduced lesion formation and blocked lipid peroxidation formation. We also observed that sucralfate was not effective enough.

We observed in stomach and erythrocytes of rats treated with ethanol, that GSH levels decreased, except rat in the other groups. This may be due to increase in GSH consumption. However, after absolute ethanol administration, the interaction between lipid peroxide and glutathione levels are not exactly known. We determined an increase in erythrocyte SOD activities of ethanol loaded rats, and no alterations in other groups. This increase was thought as a defense against accumulation of superoxide anion during oxidation of ethanol or acetaldehyde.

We determined that erythrocyte catalase levels did not change in all groups including ethanol group compared to those of controls. This may result from prevention of lipid peroxidation by administration of powerful free radical scavengers and antioxidants prior. It may also be caused from application performed acutely.

As a result, we are of the opinion that free radicals not alone, may have a role in etiopathogenesis of ethanol-induced hemorrhagic gastritis, and certain free radical scavengers and antioxidant agents may be used in treatment of hemorrhagic gastritis, and that further studies are needed to evaluate the final role of free oxygen radicals on ethanol-induced gastric mucosal injury.

KAYNAKLAR

- 1- Epstein FH. Mechanisms of disease. The New England Journal of Medicine. 319 (25):1639-1650,1988.
- 2- Julkunen RJ, Di Padova C, Lieber CS. First pass metabolism of ethanol a gastroin-testinal barrier against the systemic toxicity of ethanol. Life Sci. 37:567-73, 1985.
- 3- Salim AS. Removing oxygen-derived free radicals stimulates healing of Ethanol-Induced Erosive Gastritis in the Rat. Digestion 47:24-28,1990.
- 4- Stein HJ, Esplugues J, Whittle BJR, Bauerfeind P, Hinder RA and Blum ALB. Direct cytotoxic effect of oxygen radicals on the gastric mucosa. Surgery 106: 2,318-324, 1989.
- 5- Pihan G, Regillo C, Szabo S. Free radicals and lipid peroxidation in ethanol-or aspirin-induced gastric mucosal injury. Dig.Dis.Sci. 32 (12):1395-1401,1987.
- 6- Smith SM, Holm-Rutilli L, Perry MA, Grisham MB, Arfors KE, Granger DN, Kvietys PR. Role of neutrophils in hemorrhagic shock-induced gastric mucosal injury in the rat. Gastroenterology 93:466-71,1987.
- 7- Sözmen EY, Tanyalçın T, Onat T, Erilaçın S. Eritrositer antioksidan enzimlerde yaşa bağlı değişiklikler. Biyokimya Dergisi, XVIII (3):83-89, 1993.
- 8- Dingiloğlu N, Özmen D, Bayındır O, Kutay F, Yılmaz C. Diabetiklerde eritrosit ve plazma lipid peroksidleri, eritrosit GSH ve G-6-PD düzeyleri. Biyokimya Dergisi, XVIII (3):13-18, 1993.
- 9- Stein HJ, Hinder RA and Oosthuizen MJ. Gastric mucosal injury caused by hemorrhagic shock and reperfusion: Protective role of the antioxidant glutathione. Surgery 108:467-74,1990.
- 10- Özcan O, Karaöz E, Sarsılmaz M, Ozan H, Sınav A, Oba G. Sıçanlarda karbontetraklorür hepatotoksitesine karşı E vitamininin etkisi. Doğa-Tr J of Medical Science. 16:45-54, 1992.

- 11- Szabo S and Brown A. Prevention of ethanol-induced vascular injury and gastric mucosal lesions by sucralfate and its components: Possible role of endogenous sulfhydryls. *Society for Experimental Biology and Medicine* 185:493-497, 1987.
- 12- Kılınç K. Kanserde oksijen radikalleri ve süperoksit dismutaz. *Biyokimya dergisi*, XI (3):59-76, 1986.
- 13- Lehninger A. Principles of biochemistry. Worth Publishers, Inc. New York, pp.46 and 220, 1982.
- 14- Vladimirov YU, Olenov VF, Suslova TB, Cheremisina ZP. Lipid peroxidation in mitochondrial membranes. *Advances in lipid research* 17:173-249, 1980.
- 15- Neal RA. Metabolism of toxic substances, "Toxicology", The Basic Science of Poisons, 2nd Ed., Eds.: J.Doull, C.D. Klaassen and M.O. Amdur, p.56-69, Macmillan Publishing Co., New York (1982) "kitabından.
- 16- Hodgson E and Dauterman WC. Metabolism of toxicants, phase I reactions "Introduction to Biochemical Toxicology, Eds: E. Hodgson and FE Guthrie, p.67-91, Blackwell Scientific Pub., Oxford (1980) "kitabından.
- 17- Torrielli MV. Pathobiological aspects of liver injury produced by drugs, "Biochemical Mechanisms of Liver Injury, Ed: T.F. Slater, p.623-668, Academic Press, New York (1987)" kitabından.
- 18- Chance B, Sies H and Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol.Rev.* 59:527-605, 1979.
- 19- Trush MA, Mimnaugh EG and Gram TE. Activation of pharmacologic agents to radical intermediates. *Biochem.Pharmacol.* 31:3335-3346, 1982.
- 20- Tornwall MS, Smith GS, Barreto JC, Lopez RA, Henagan JM, Miller TA. Adverse effects of vagotomy on ethanol-induced gastric injury in the rat. Absence of a role for glutathione redox cycle. *Dig.Dis.Sci.* 38 (12):2294-8, 1993.
- 21- Mutoh H, Ota S, Hiraishi H, Ivey KJ, Terano A, Sugimoto T. Reduced glutathione cultured gastric mucosal cells from suckling rats against acid. *Am.J.Physiol.* 261 (1): 65-70, 1991.

- 22- Hiraishi H, Terano A, Ota S, Mutoh H, Sugimoto T, Razandi M, Ivey KJ. Antioxidant defenses of cultured gastric cells againsts oxygen metabolites: role of GSH redox cycle and endogenous catalase. *Am.J.Physiol.* 261 (6): 921-6, 1991.
- 23- Mason RP and Chignell CF. Free radicals in pharmacology and toxicology- selected topics. *Pharmacol.Rev.* 33:189-211, 1982.
- 24- Fridovich I. Oxygen radicals, hydrogen peroxide, and oxygen toxicity, "Free radicals in biology, Vol. 1, Ed: W.A. Pryor, p.239-277, Academic Press, New York (1976)" kitabindan.
- 25- Mutoh H,Hiraishi H, Ota S,Terano A, Ogura K, Ivey KJ,Sugimoto T.Relationships between metal ions and oxygen free radicals in ethanol-induced damage to cultured rat gastric mucosal cells. *Dig.Dis.Sci.* 40 (12):2704-11, 1995.
- 26- Yoshikawa T, Naito Y, Ueda S, Oyamada H, Takemura T, Yoshida N, Sugino S, Kondo M. Role of oxygen-derived free radicals in the pathogenesis of gastric mucosal lesions in rats. *J.Clin.Gastroenterol.* 12 (1):65-71, 1990.
- 27- Javor T, Past T, Nagy L, Mozsik G, Wittmann I. Free radicals and their interpretations. *Acta.Physiol.Hung.* 73 (2-3):323-30, 1989.
- 28- Pasechnikov VD, Mosin VI, Vigranskii AO. Lipid peroxidation and the antioxidant enzyme system of the gastric mucosa in peptic ulcer: *Ter.Arkh. (USSR)* 60 (2): 30-3, 1988.
- 29- Slater TF. Lipid peroxidation. *Biochem.Soc.Trans.* 10:70-71, 1982.
- 30- Horton AA, Fairhurst S. Lipid peroxidation and mechanisms of toxicity. *Crit.Rev. Toxicol.* 18 (1):27-66, 1987.
- 31- Chance B, Sies H and Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol.Rev.* 59:527-605, 1979.
- 32- Tappel AL. Measurement of and protection from in vivo lipid peroxidation, "Free Radicals in Biology, Vol.4, Ed: W.A. Pryor, p.1-47, Academic Press, New York (1980)" kitabindan.

- 33- Esterbauer H. Aldehydic products of lipid peroxidation, "Free Radicals, Lipid Peroxidation and Cancer Eds: D.C.H. Mc Brien and T.F. Slater, p.101-128, Academic Press, London (1982)" kitabından.
- 34- Fridowich I. Superoxide dismutases. *Ann.Rev.Biochem.* 44:147-159, 1975.
- 35- Farber CM, Kanganis DN, Liebes LF, Silber R. Antioxidant enzymes in lymphocytes from normal subjects and patients with chronic lymphocytic leukaemia: increased glutathione peroxidase activity in CLLB lymphocytes. *Br.J.Haematol.* 72:32-35, 1989.
- 36- Videla LA and Valenzuela A. Alcohol ingestion, liver glutathione and lipoperoxidation: Metabolic interrelations and pathological implications. *Life.Sci.* 31:2395-2407, 1982.
- 37- Meister A and Anderson ME. Glutathione. *Ann.Rev.Biochem.* 52:711-60, 1983.
- 38- Orrenius S and Moldeus P. The multiple roles of glutathione in drug metabolism. *Trends. Pharmacol.Sci.* 5:432-435, 1984.
- 39- Miller TA. Protective effects of prostaglandins against gastric mucosal damage: current knowledge and proposed mechanisms. *Am.J.Physiol.* 245 (Gastrointest. Liver Physiol-8): G601-G623, 1983.
- 40- Reinke LA, Lai EK, Dubose CM and Mc Cay PB. Reactive free radical generation in vivo in heart and liver of ethanol-fed rats: Correlation with radical formation in vitro. *Proc.Natl.Acad.Sci.* 84:9223-9227, 1987.
- 41- Batra SC, Haber PS, Mirmiran-Yazdy FS, Korsten MA, Gentry RT, Lieber CS. Gastric metabolism of ethanol in Syrian golden hamster. *Dig.Dis.Sci.* 40 (12): 2712-6, 1995.
- 42- Rachmilewitz D, Karmeli F, Okon E, Samuni A. A novel antiulcerogenic stable radical prevents gastric mucosal lesions in rats. *Gut* 35 (9):1181-8, 1994.
- 43- Kvietys PR, Twohig B, Danzell J, Specian RD. Ethanol-induced injury to the rat gastric mucosa. Role of neutrophils and xanthine oxidase-derived radicals. *Gastroenterology* 98 (4):909-20, 1990.

- 44- Lutnicki K, Wrobel J, Ledwozyw A, Trebas-Pietras E. The effect of calcium ions on the intensity of peroxidation processes and the severity of ethanol-induced injury to the rat's gastric mucosa. *Arch.Vet.Pol.* 32 (1-2):125-32, 1992.
- 45- Masuda E, Kawano S, Nagano K, Ogihara T, Tsuji S et al. Role of blood ethanol on gastric mucosal injury and gastric hemodynamics. *Alcohol.Alcohol.Suppl.* 1:335-8, 1991.
- 46- Lieber CS. Metabolism and metabolic effects of alcohol. *Semin.Hematol.* 17:85-99, 1980.
- 47- Lieber CS. Alcohol, protein metabolism, and liver injury. *Gastroenterology* 79: 373-390, 1980.
- 48- Comporti M. Ethanol-induced liver injury, "Biochemical Mechanisms of liver Injury, Ed: T.F. Slater, p.469-516, Academic Press, New York (1978)" kitabından.
- 49- Teschke R, Hasumura Y and Lieber CS. Hepatic pathways of ethanol and acetaldehyde metabolism and their role in the pathogenesis of alcohol-induced liver injury. *Nutr.Metab.* 21:144-147, 1977.
- 50- Lieber CS, De Carli LM. Hepatotoxicity of ethanol. *J.Hepatol.* 12:394-401, 1991.
- 51- Paul V, Balasubramaniam E, Muthu P, Krishnamoorthy MS. Evidence for a hazardous interaction between ethanol and the insecticide endosulfan in rats. *Pharmacol.Toxicol.* 70:268-270, 1992.
- 52- Strubelt O, Obermeier F, Siegers CP. The influence of ethanol pretreatment on the effects of nine hepatotoxic agents. *Acta.Pharm.Toxicol.* 43:211-218, 1978.
- 53- Julkunen RJK, Padova C and Lieber CS. First Pass Metabolism of Ethanol - A Gastrointestinal Barrier Against the Systemic Toxicity of Ethanol. *Life Sci.* 37 (6): 567-573, 1985.
- 54- Caballeria J, Baraona E and Lieber SC. The contribution of the stomach to Ethanol Oxidation in the Rat. *Life Sciences* 41:1021-1027, 1987.
- 55- Kohut A, Mojzis J. Effect of allopurinol and superoxide dismutase on indomethacin-induced gastric lesions in the rat. *Physiol.Res.* 42 (4):273-6, 1993.

- 56- Szelenyi I, Brune K. Possible role of oxygen free radicals in ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. *Dig.Dis.Sci.* 33 (7):865-71, 1988.
- 57- Mutoh H, Hiraishi H, Ota S, Yoshida H, Ivey KJ, Teraro A, Sugimoto T. Protective role of intracellular glutathione against ethanol-induced damage in cultured rat gastric mucosal cells. *Gastroenterology* 98 (6):1452-9, 1990.
- 58- Matsumoto T, Moriguchi R, Yamada H. Role of polymorphonuclear leucocytes and oxygen-derived free radicals in the formation of gastric lesions induced by HCl/ethanol, and a possible mechanism of protection by anti-ulcer polysaccharide. *J. Pharm. Pharmacol.* 45 (6):535-9, 1993.
- 59- Comporti M, Benedetti A and Chieli E. Studies on in vitro peroxidation of liver lipids in ethanol-treated rats. *Lipids* 8:498-502, 1973.
- 60- Bautista AP, Spitzer JJ. Acute ethanol intoxication stimulates superoxide anion production by in situ perfused rat liver. *Hepatology* 15 (5):892-898, 1992.
- 61- Koch OR, Galeotti T, Bartoli GM, Boveris A. Alcohol-induced oxidative stress in rat liver. *Xenobiotica* 21(8):1077-1084, 1991.
- 62- Kukielka E, Cederbaum AI. The effect of chronic ethanol consumption on NADH - and NADPH - dependent generation of reactive oxygen intermediates by isolated rat liver nuclei. *Alcohol Alcohol* 27 (3):233-239, 1992.
- 63- Masotti L, Casali E, Gesmundo N, Sartor G. Lipid peroxidation in cancer cell: Chemical and physical studies. *Annals New York Academy of Sciences* 551: 47-58, 1988.
- 64- Tappel AL. Measurement of and protection from in vivo lipid peroxidation, "Free Radicals in Biology, Vol.4, Ed: W.A. Pryor, p.1-47, Academic Press, New York (1980)" kitabından.
- 65- Fernandez V and Videla LA. Effect of acute and chronic ethanol ingestion on the content of reduced glutathione of various tissues of the rat. *Experientia* 37:392-394, 1981.

- 66- Mac Donald CM, Dow J and Moore MR. A possible protective role for sulphhydryl compounds in acute alcoholic liver injury. *Biochem.Pharmacol.*26:1529-1531, 1977.
- 67- Shaw S, Jayatilleke E, Ross WA, Gordon ER and Lieber CS. Ethanol-induced lipid peroxidation: Potentiation by longterm alcohol feeding and attenuation by methionine. *J. Lab. Clin. Med.* 98:417-424, 1981.
- 68- Ketterer B, Beale D and Meyer D. The structure and multiple functions of glutathione transferases. *Biochem.Soc.Trans.* 10: 82-84, 1982.
- 69- Meister A. Glutathione, "The Liver: Biology and Pathology, Eds: I. Arias, H.Popper, D.Schachter and D.A. Shafritz, p.297-308, Raven Press, New York (1982)".
- 70- Vina J, Estrela VM, Guerri C, Romero FJ. Effect of ethanol on glutathione concentration in isolated hepatocytes. *Biochem.J.* 188:549-552, 1980.
- 71- Hemminki K. Urinary sulfur containing metabolites after administration of ethanol, acetaldehyde and formaldehyde to rats. *Toxicol. Lett.* 11:1-6, 1982.
- 72- Videla LA, Fernandez V, Fernandez N and Valenzuela A. On the mechanism of the glutathione depletion induced in the liver by acute ethanol ingestion. *Subs. Alcohol. Actions.* 2:153-160, 1981.
- 73- Videla LA, Fernandez V, Valenzuela A and Ugarte G. Effect of (+) - cyanidanol -3 on the changes in liver glutathione content and lipoperoxidation induced by acute ethanol administration in the rat. *Pharmacology* 22:343-348, 1981.
- 74- Sies H, Akerboom TPM and Cadenas E. The role of glutathione in hepatic hydroperoxide metabolism. *Biochem.Soc.Trans.*10:79-80, 1982.
- 75- Tobey NA, Orlando RC, Schreiner VJ, Powers DW. Cytoprotective effect of sulfate ions in acid-exposed rabbit esophagus. *Am.J.Physiol.* 251:G866-G869, 1986.
- 76- Dupuy D, Szabo S. Protection by metals against ethanol-induced gastric mucosal injury in the rat: comparative biochemical and pharmacologic studies implicate protein sulfhydryls. *Gastroenterology* 91:966-974, 1986.

- 77- Szelenyi I, Brune K. Possible role of sulfhydryls in mucosal protection induced by aluminum hydroxide. *Dig. Dis. Sci.* 31:1207-1210, 1986.
- 78- Beckman JS, Freeman BA. Antioxidant enzymes as mechanistic probes of oxygen dependent toxicity in physiology of oxygen radicals, Edited by, TAYLOR AS, MATALON S, WARD P, Bethesda. *Am. Physiol. Soc.* 39-53, 1986.
- 79- Sugawara M et al. Deficiency of Superoxide Dismutase in Endemic Goiter Tissue. *J. Clin. Endocrin. Metaboli* 67 (6):1156-61, 1988.
- 80- Jaya DS, Augustine J, Menon VP. Role of lipid peroxides, glutathione and antiperoxidative enzymes in alcohol and drug toxicity. *Indian Journal of Experimental Biology* 31:453-459, 1993.
- 81- Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW. Harper'in Biyokimyası. Barış kitabevi 710-713, 1993.
- 82- Yenson M. İnsan Biyokimyası. 7. Baskı, Güneş kitabevi, 665-668, 1995.
- 83- Ohkawa H, Ohishi N and Yagi N. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Analytical Biochem.* 95:351-358, 1979.
- 84- Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 82:70-77, 1959.
- 85- Asakawa T, Matsushita S. Coloring conditions of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids* 15 (3):137-140, 1979.
- 86- Beutler E, Duron O and Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. Clin. Med.* 61(5):882-888, 1963.
- 87- Aebi H. Catalase in vitro. *Methods in enzymology* 105:121, 1984.
- 88- Winterbourn CC, Hawkins RE, Brian M, Carrell RW. The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J. Lab. Clin. Med.* 85 (2):337, 1975.
- 89- Ito H, Asahi H, Horiuchi S. Role of oxygen radicals in the pathogenesis of acute gastric mucosal lesion under obstructive jaundice. *Nippon Geka Gakkai Zasshi* 94 (3):225-33, 1993.
- 90- Stein HJ, Esplugues J, Whittle BJ, Bauerfeind P, Hinder RA, Blum AL. Direct cytotoxic effect of oxygen radicals on the gastric mucosa. *Surgery* 106 (2):318-23, 1989.

- 91- Videla LA, Fernandez V, Ugarte G and Valenzuela A. Effect of acute ethanol intoxication on the content of reduced glutathione of the liver in relation to its lipoperoxidative capacity in the rat. *FEBS Lett.* 111:6-10, 1980.
- 92- Valenzuela A, Fernandez N, Fernandez V, Ugarte G and Videla LA. Effect of acute ethanol ingestion on lipoperoxidation and on the activity of the enzymes related to peroxide metabolism in rat liver. *FEBS Lett.* 111:11-13, 1980.
- 93- Shaw S, Jayatilleke E, Ross WA, Gordon ER and Lieber CS. Ethanol-Induced Lipid Peroxidation: Potentiation by longterm alcohol feeding and attenuation by methionine. *J. Lab. Clin. Med.* 98:417-424, 1981.
- 94- Litov RE, Gee DL, Downey JE and Tappel AL. The role of lipid peroxidation during chronic and acute exposure to ethanol as determined by pentane expiration in the rat. *Lipids* 16:52-57, 1981.
- 95- Szelenyi I and Brune K. Possible role of oxygen free radicals in ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. *Dig. Dis. Sci.* 33 (7):865-871, 1988.
- 96- Adams GE, Wilson RL. Pulse radiolysis studies on the oxidation of organic radicals in aqueous solution. *Trans Faraday Soc.* 65:2981-2987, 1969.
- 97- Flohe L, Giertz H, Beckmann R. Free radical scavengers as antiinflammatory drugs? In *Handbook of Inflammation, Vol 5: The Pharmacology of Inflammation*. II Bonta, MA Bray, MJ Parnham (eds). Amsterdam, Elsevier, pp.255-281, 1985.
- 98- Yüncü M, Kalkan S, Çerçi M, Duman S, Aktan M, Cüce H. The Effect of Acute Ethanol Intake on Gastric Mast Cells of Rats. *Türkiye Tıp Dergisi* 3 (4):213-220, 1996.
- 99- Mizui T and Doteuchi M. Lipid Peroxidation: A possible role in gastric damage induced by ethanol in rats. *Life Sci.* 33:2163-2167, 1986.
- 100- Galli SJ, Wershil BK, Bose R, Walker PA, Szabo S. Ethanol-Induced acute gastric injury in mast cell-deficient and congenic normal mice. *Am.J. Pathol.* 128:131-140 1987.

- 101- Andersson K, Mattsson H, Larsson H. The role of gastric mucosal histamine in acid secretion and experimentally induced lesions in the rat. *Digestion* 46:1-9,1990.
- 102- Paul V, Balasubramaniam E, Muthu P, Krishnamoorthy MS. Evidence for a hazardous interaction between ethanol and the insecticide endosulfan in rats. *Pharmacol.Toxicol.* 70:268-270, 1992.
- 103- Kamimura S, Gaal K, Britton RS, Bacon BR, Triadafilopoulos G, Tsukamoto H. Increased 4-hydroxynonenal levels in experimental alcoholic liver disease: Association of lipid peroxidation with liver fibrogenesis. *Hepatology* 16 (2):448-453, 1992.
- 104- Baraona E, Gentry RT, Lieber CS. Bioavailability of alcohol: role of gastric metabolism and its interaction with other drugs. *Dig.Dis.* 12 (6):351-67, 1994.
- 105- Peskar BM, Lambrecht N, Stroff T, Respondek M, Muller KM. Functional ablation of sensory neurons impairs healing of acute gastric mucosal damage in rats. *Dig.Dis. Sci.* 40 (11):2460-4, 1995.
- 106- Utkan NZ, Cantürk NZ, Candan F, Düzcan E, Yıldırım C, Dülger M, Göz Ş. Sıçanlarda Absolü Etanol ile Oluşturulan Gastrik Mukozal Tahribata Karşı Serbest Oksijen Radikallerinin ve Radikal Temizleyicilerin Rolü. *Ulusal Cerrahi Dergisi* 10 (6):336-340, 1994.
- 107- Goebel KM and Schneider J. Erythrocyte membrane fluidity, lipid peroxidation and lysis in alcoholic liver disease. *Acta Biol.Med.Germ.* 40:571-576, 1981.
- 108- Shaw S, Jayatilleke E, Ross WA, Gordon ER and Lieber CS. Ethanol-induced lipid peroxidation: Potentiation by longterm alcohol feeding and attenuation by methionine. *J.Lab.Clin.Med.* 98:417-424, 1981.
- 109- Anundi I, Högberg J and Stead AH. Glutathione depletion in isolated hepatocytes: Its relation to lipid peroxidation and cell damage. *Acta Pharmacol Toxicol* 45:45-51, 1979.

- 110- Tanaka J, Yuda Y. Role of lipid peroxidation in gastric mucosal lesions induced by ischemia-reperfusion in the pylorus-ligated rat. *Biol.Pharm.Bull.* 16 (1):29-32, 1993.
- 111- Payno A, Lopez-Novoa JM, Rodriguez-Puyol D. Prostanoid production in post-gastrectomy gastritis. Influence of sucralfate. *Am.J.Med.* 86 (6A):17-20, 1989.
- 112- Morris GP, Keenan CM, MacNaughton WK, Wallace JC, Williamson TE. Protection of rat gastric mucosa by sucralfate. Effects of luminal stasis and of inhibition of prostaglandins synthesis. *Am.J.Med.* 86 (6A):10-6, 1989.
- 113- Zarror-Behrens G, Mueller R, Greselin E, Behrens WA. Lack of vitamin E cytoprotective effects on indomethacin-induced gastric lesions. *Res. Commun. Chem.Pathol.Pharmacol.* 72 (3):327-35, 1991.
- 114- Chen BW, Hiu WM, Lam SK, Cho CH, Ng MM, Luk CT. Effect of sucralfate on gastric mucosal blood flow in rats. *Gut* 30 (11):1455-51, 1989.
- 115- Laudanno OM, Bedini OA, Cesolari JA, San Miguel P. Evidence of anti-oxidant role of sucralfate in gastric mucosal protection. *Ital.J.Gastroenterol.* 22 (1):19-21, 1990.
- 116- Rees WD. Mechanisms of gastroduodenal protection by sucralfate. *Am.J.Med.* 91 (2A):58S-63S, 1991.
- 117- Alhan E, Kucuktulu U, Calik A, Cinel A. Effect of sucralfate on gastric emptying and mucus under stress in rats. *Isr.J.Med.Sci.* 31 (6):356-9, 1995.
- 118- Slomiany BL, Murty VL, Piotrowski E, Morita M, Piotrowski J, Slomiany A. Activation of arachidonoyl phospholipase A₂ in prostaglandin-mediated action of sucralfate. *Gen Pharmacol* 25 (2):261-6, 1994.
- 119- Kinoshita M, Yamasaki K, Kokusenya Y, Yamaki H. Relationship between gastroprotective effect of locally acting antiulcer agent ecabet sodium and its binding to gastric mucosa in rats. *Dig.Dis.Sci.* 40 (3):661-7, 1995.
- 120- Ogihara Y, Okabe S. Effect and mechanism of sucralfate on healing of acetic acid-induced gastric ulcers in rats. *J.Physiol.Pharmacol.* 44 (2):109-18, 1993.

- 121- Konturek SJ, Brzozowski T, Majka J, Szlachcic A, Czarnobilski K. Nitric oxide in gastroprotection by sucralfate, mild irritant, and nocloprost. Role of mucosal blood flow. *Dig.Dic.Sci.* 39 (3):593-600, 1994.
- 122- Singh K, Nain CK, Singh V, Ganguly NK. Effect of sucralfate on gastric bicarbonate secretion in patients with duodenal ulcer. *Indian J.Gastroenterol* 14 (2):48-50, 1995.
- 123- Quadros E, Ramsamooj E, Wilson DE. Role of mucus and prostaglandins in the gastric mucosal protective actions of sucralfate against ethanol-induced injury in the rat. *Am.J.Med.* 83 (3B):19-23, 1987.
- 124- Mobarok Ali AT. Natural honey exerts its protective effects against ethanol-induced gastric lesions in rats by preventing depletion of glandular nonprotein sulfhydryls. *Trop Gastroenterol* 16 (1):18-26, 1995.
- 125- Lutnicki K, Wrobel J, Ledwozyw A, Trebas-Pietras E. The effect of ethyl alcohol on peroxidation processes and activity of antioxidant enzymes in rat's gastric mucosa. *Arch Vet.Pol.* 32 (1-2):117-23, 1992.
- 126- Tariq M. Gastric anti-ulcer and cytoprotective effect of vitamin E in rats. *Res. Com. Chem. Pharm.* 60 (1):87-96, 1988.
- 127- Beno I, Volkovova K, Staruchova M. Gastric mucosal antioxidant activity in patients at increased risk of gastric cancer. *Neoplasma (Czech Republic)* 40 (5):315-9, 1993.
- 128- Yoshikawa T, Yasuda M, Ueda S, Naito Y, Tanigawa T, Oyamada H, Kondo M. Vitamin E in gastric mucosal injury induced by ischemia-reperfusion.
- 129- Szabo S, Trier JS, Frank PW. Sulfhydryl compounds may mediate gastric cytoprotection. *Science* 214:200-202, 1981.
- 130- Aleksanyan V. Teşhisten tedaviye. 8.Baskı, Filiz kitabevi, 839-840, 1981.
- 131- Mizui T, Sato H, Hirose F, Doteucki M. Effect of antiperoxidative drugs on gastric damage induced by ethanol in rats. *Life Sci.* 41 (6):755-63, 1987.

- 132- Caldwell MT, Stuart RC, Byrne PJ, Gorey TF, Hennessy TP. Microvascular changes
in experimental gastric stress ulceration: the influence of allopurinol, cimetidine,
and misoprostol. *J.Surg. Res.* 55 (2):135-9, 1993.
- 133- Tarnasky PR, Livingston EH, Jacobs KM, Zimmerman BJ, Guth PH, Garrick TR.
Role of oxyradicals in cold water immersion restraint-induced gastric mucosal
injury in the rat. *Dig.Dis.Sci.*35 (2):173-7, 1990.
- 134- Zollei I, Asakawa H, Karacsonyi S. Histamine release and SOD, allopurinol and
ranitidine pretreatment in haemorrhagic shock in the rat. *Acta Physiol.Hung.* 80
(1-4): 303-9, 1992.
- 135- Bidder TG and Jaeger PD. Malondialdehyde production by erythrocytes from
alcoholic and non-alcoholic subjects. *Life Sci.* 30:1021-1027, 1982.
- * 136- Malcontenti-Wilson C, Andrews FJ, Silen W, O'Brien PE. The role of luminal
factors in prostaglandin protection against ethanol-induced gastric mucosal
injury. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 8 (2):123-7, 1993.
- 137- Perez Guerrero C, Martin MJ, Marhuenda E. Prevention by rutin of gastric
lesions induced by ethanol in rats. role of endogenous prostaglandins.
Gen.Pharmacol. 25 (3):575-80, 1994.
- 138- Rubin E and Rottenberg H. Ethanol-induced injury and adaptation in biological
membranes. *Fed. Proc.* 41:2465-2471, 1982.
- 139- Ghanayem BI, Matthews HB and Maronpot RR. Calcium channel blockers protect
against ethanol and indomethacin-induced gastric lesions in rats. *Gastroente-
rology* 92:106-11, 1987.
- 140- Çolak Ö, Erden M, Ünver Y. Mide ve kolorektal kanserli hastaların normal ve
tümörlü dokularında redükte glutatyon seviyeleri ve glutatyon redüktaz
aktiviteleri. *Doğa-Tr.J. of Medical Science* 16:919-923, 1992.
- 141- Cho CH, Pfeiffer CJ, Misra HP. Ethanol and the antioxidant defence in the
gastrointestinal tract. *Acta Physiol. Hung.* 80 (1-4):99-105, 1992.