

SEROTONİNİN ÜLSEROJENİK ETKİSİNDE SİRKADİAN RİTMİN ROLÜ

Sedef GİDENER*, Ayşe GELAL*, Meral KOYUNCUOĞLU**, Mukaddes GÜMÜŞTEKİN*,
Hülya GÜVEN*, Arda BÖKESÖY***, Ataman GÜRE****

D.E.Ü.Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı*
D.E.Ü.Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı**
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı***
D.E.Ü.Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı****

ÖZET

Amacımız, sıçan modelinde oluşturulan 5-HT (serotonin) bağımlı mide mukozası hasarında sirkadian ritim olup olmadığının araştırılmasıdır. Wistar tipi sıçanlara (12 saat aydınlık-12 saat karanlık siklusuna alıştırmış), 20 mg/kg subkutan (sc) 5-HT uygulanarak mide mukozasında hasar oluşturuldu. Midedeki ülserler 0-4 arasında derecelendirildi ve serum kortikosteron düzeyleri ölçüldü. Sonuç olarak, 5-HT ile oluşan mide mukozası akut hasarının derecesinin gün içinde değişiklik gösterdiği ve bu hasarda serum kortikosteron düzeylerindeki artışın da rolü olabileceği düşünüldü.
Anahtar sözcükler: Sıçan, serotonin, mukozal hasar, sirkadian ritim, kortikosteron

SUMMARY

The purpose of this study was to evaluate whether serotonin (5-HT)-induced gastric mucosal injury is produced in a circadian fashion in a rat model. In Wistar rats (adapted to 12-hr light-dark cycle), 20mg/kg 5-HT administered subcutaneously (sc) produced gastric mucosal injury. The gastric ulcers were scored 0-4 and serum corticosterone levels were measured. These results suggested that the extent of acute 5-HT-induced gastric mucosal injury varies with the time of day and elevations in corticosterone concentrations might be responsible for these mucosal injury.

Key words: Rat, serotonin, mucosal injury, circadian rhythmicity, corticosterone

Deney hayvanları ve insanda yapılan çalışmalarda, mide asid düzeyleri de dahil olmak üzere gastrointestinal fonksiyonlarda biyolojik ritme bağlı değişimler olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (1). Mukozal kan akımı ve mukus sekresyonu gibi mide mukozal savunma sistemlerinin (2) yanı sıra, stres (3) ve kimyasallar (4, 5, 6) gibi ülserojenik uyarılara da sıçan mide mukozası duyarlılığının zamana bağlı değişim gösterdiği bildirilmiştir.

5-HT'nin, mide asit salgısı inhibisyonu (7) ve mukozal kan akımında değişiklikler (8) gibi çeşitli mide fonksiyon parametrelerinde değişiklikler yaptığı bilinmektedir. Ekzojen uygulanan 5-HT'nin de mide erozyonuna neden olduğu gösterilmiştir (9,10,11). Ancak 5-HT ile midede oluşan mukozal hasarın patogenezi tam

olarak anlaşılmış değildir. Bunun yanı sıra, mide ülserasyonundaki diurnal ritmin mekanizması da bilinmemektedir.

Bu çalışmanın amacı, sıçan modelinde oluşturulan 5-HT bağımlı mide mukozası hasarında sirkadian ritim olup olmadığını ve glukokortikoidlerle ilişkisini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hayvanlar

Çalışmamızda ağırlıkları 210-310gr (249.2±28.7gr) arasında olan, 66 sıçan kullanıldı. Sıçanlar (Wistar tipi), ortam sıcaklığının 20±2°C olduğu koşullarda bulunduruldu. Aydınlık-karanlık siklusu, deney başlamadan en az 3 hafta önce başlatıldı. Aydınlık dönemi, 7⁰⁰-19⁰⁰ saatleri arasındaydı.

Beslenmeleri ve kafes temizlikleri, haftada 2 kez ve karanlık dönemin ikinci ve üçüncü saatlerinde kırmızı ışık altında ve sessiz bir ortamda yapıldı. Deneklerden histolojik inceleme için mide ve glukokortikoid düzey ölçümü için kan örnek alma zamanları; 01⁰⁰, 05⁰⁰, 09⁰⁰, 13⁰⁰, 17⁰⁰, 21⁰⁰ HALO (Hours After Light On) olarak düzenlendi. Her bir zaman diliminde kontrol grubunda 5, deney grubunda ise 6 sıçan bulunmaktadır.

Sıçanlar 18 saat aç bırakıldıktan sonra ilk gruba (Kontrol grubu; n=30) 0.5 ml/kg, %0.9 NaCl (serum fizyolojik solüsyonu)SC; ikinci gruba (5-HT grubu; n=36), 20 mg/kg 5-HT, SC uygulandı. Bütün çalışma aydınlık dönemde yürütüldü.

Midenin Mikroskopik İncelenmesi:

Her bir çalışma saatinde, sıçanlar servikal dislokasyon (boyunları kırılarak) ile öldürüldüler. Mideler çıkarılarak büyük kurvatur boyunca açıldı. Örnekler %10'luk formalin solüsyonu ile fikse edildi. Mide erozyon varlığı, histolojik olarak tayin edildi. 5 mm'lik kesitler, hematoxilen-eozin boyası ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. 1 cm uzunluğundaki histolojik kesitler, 3 sahaya ayrıldı. Her saha 'histolojik ülser indeksi' (HUI) ne göre 0 ile 4 arasında skorlandı (12).

Mide erozyonu skorlaması:

0. Normal
1. Epitelyal hücre hasarı
2. Glandüler dağılım, üst mukozada vazokonjesyon veya ödem
3. Mukozal dağılım, orta-alt mukozada vazokonjesyon veya ödem
4. Tüm mukozayı tutan yaygın mukozal dağılım

Sıçan Kortikosteron Düzeyleri:

Kanlar, sıçanların abdominal aortalarından, 01⁰⁰, 05⁰⁰, 09⁰⁰, 13⁰⁰, 17⁰⁰, 21⁰⁰ HALO zamanlarında alındı. Santrifüj edilen kanlardan ayrılan serumlar -70°C 'de saklandı ve kortikosteron düzeyi bakılmadan önce oda sıcaklığında bekletildi. Ölçümler, radyoaktif I¹²⁵ sıçan kortikosteron kiti (DPC® Diagnostic Products Corporation, Los Angeles) kullanılarak, Gamma Counter (PACKARD®) ile yapıldı. Kitin kortikosteron tayin etme limiti ≈ 5.7 ng/ml idi.

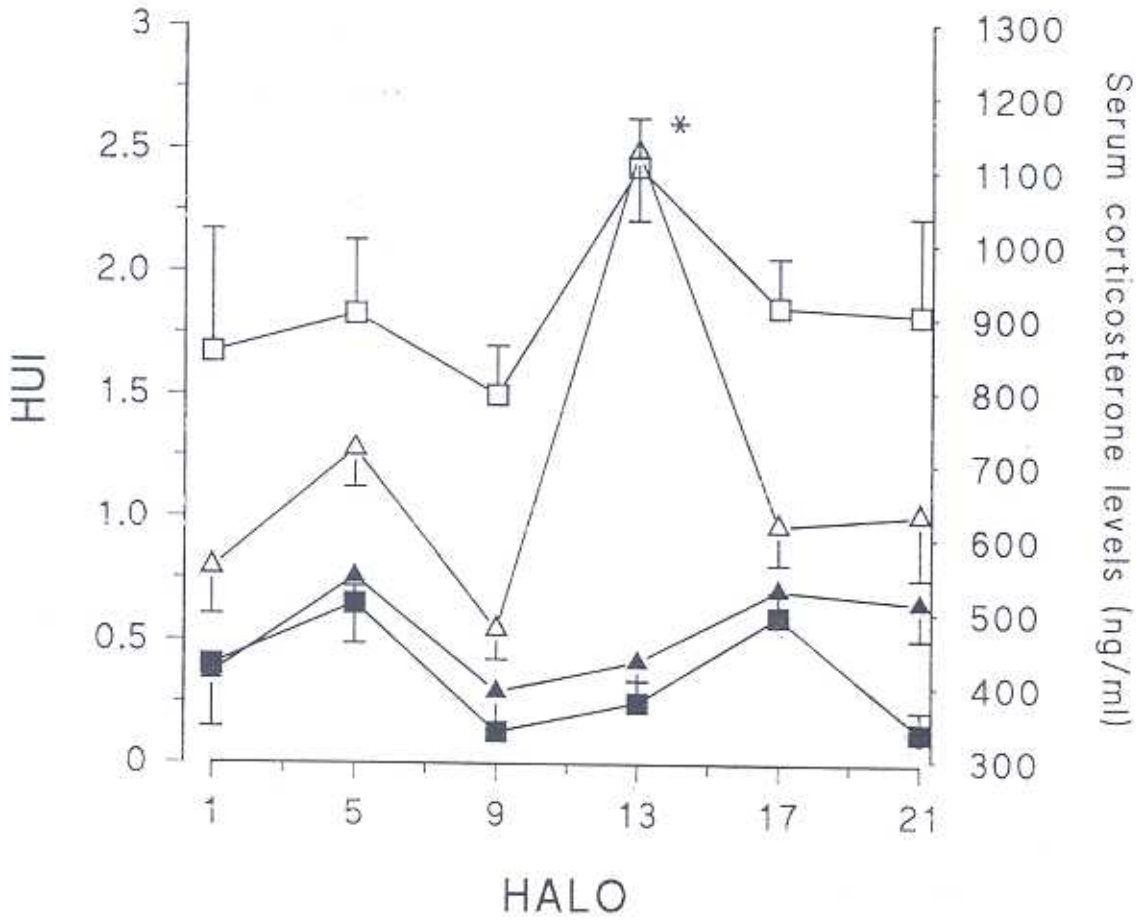
İstatistiksel Analiz:

Bütün veriler, aritmetik ortalama ve standart hata olarak verildi. Gruplar arasındaki geçgündüz farkı ve kontrol ile 5-HT grupları arasında fark olup olmadığı Mann-Whitney U testi ile her bir grubun 24 saatlik ritmi ise Kruskal Wallis nonparametrik ANOVA testi ile değerlendirildi ve $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Ortalama HUI, kontrol grubunda 0.36 ± 0.09 , 5-HT grubunda ise 1.86 ± 0.81 bulundu ($p < 0.01$). Ortalama serum kortikosteron düzeyleri, kontrol grubunda 471.4 ± 26.9 ng/ml, serotonin grubunda ise 687.3 ± 93.4 ng/ml bulundu ($p < 0.01$).

Serum kortikosteron düzeyleri, 5-HT uygulanan grupta 09⁰⁰ HALO döneminde 475.5 ng/ml iken, 13⁰⁰ HALO (20⁰⁰) döneminde 1124.3 ng/ml 'dir (Şekil 1, $p = 0.0002$). Kontrol grubunda da karanlık dönemde kortikosteron düzeyleri, aydınlık döneme göre yüksek olmasına karşın aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$).



Şekil 1. Kontrol grubu (dolmuş) ve 5-HT uygulanan deney grubunda (açık) 24 saatlik HUI () ve kortikosteron (Δ) düzeyleri. Kontrol grubu ile 5-HT grubunun tüm saatlerdeki HUI ve serum kortikosteron düzeyleri arasında istatistiksel farklılık ($p < 0.01$) mevcuttur. 5-HT grubunda 13⁰⁰ HALO zamanındaki HUI ve serum kortikosteron düzeyi diğer saatlere göre istatistiksel olarak anlamlı olarak ($p < 0.01$) yüksek bulundu.

5-HT uygulanan grupta, en fazla mide hasar ve yüksek kortikosteron düzeyleri, 13⁰⁰ HALO döneminde saptandı. Yüksek HUI ve yüksek serum kortikosteron düzeyleri, ışık kapatıldıktan sonraki erken saatlerde, düşük değerler ise ışık kapanmadan 3 saat önce belirlendi. 13⁰⁰ HALO, sıçanların aktif periyodlarının başladığı karanlık dönemin erken saatlerine rastlamaktadır. Kortikosteron düzeyleri, HUI'nin hala yüksek olduğu 21⁰⁰ HALO döneminde düşük bulundu.

TARTIŞMA

Sıçan modelinde, ışıkların kapalı olduğu aktif dönem boyunca mide mukozasının hasara karşı duyarlılığının ve dolayısıyla mukozal hasarın arttığı ve ışıkların açık olduğu inaktif dönemde ise daha az hasar görüldüğü bildirilmiştir (6). Bizim sonuçlarımız da bu hipotezi destekler niteliktedir. Mide mukozası aktif dönemde eroziv faktörlere daha az dirençliydi ve 5-HT uygulanan grupta, en fazla mide mukozası hasarı

karanlık dönemin erken saatlerine rastlayan 13⁰⁰ HALO döneminde gözlemlendi.

Mide mukozal kan akımı, midenin başlıca savunma mekanizmalarından birisidir (10, 13) ve sirkadian ritm gösterdiği bildirilmiştir (14). Hemorajik mide erozyonu patogeneğinde glukokortikoidlerin önemli rolü olduğu ileri sürülmektedir (15). Adrenokortikal ve medüller hormonların gastrointestinal fonksiyonlardaki rolü ayrıntılı olarak tanımlanmış (16,17), hayvanlarda ve insanlarda mide erozyonlarının, serum glukokortikoid ve katekolamin düzeyine bağlı olarak değiştiği gösterilmiştir (17,18,19,20). Glukokortikoid düzeyinin artması mide harabiyetini artırabilmektedir. 5-HT'nin akut mide mukozası hasarına neden olduğu ve bu etkiden yoğun vazokonstriksiyonun sorumlu olduğu ileri sürülmüştür. Öte yandan, sistemik 5-HT'nin sıçanlarda serum kortikosteron düzeyini arttırdığı da gösterilmiştir (21,22) ve son yıllarda yapılan araştırmalarda, serum kortikosteron düzeyinin 5-HT_{2A} ve 5HT_{2C} reseptörleri aracılığı ile arttığı ortaya

çıkarılmıştır (23). Bu nedenle her iki mekanizma nedeni ile de 5-HT'nin ülser oluşumuna neden olabileceği düşünülmektedir. Bulgularımızda HUI'nin en yüksek değerinde olduğu 13⁰⁰ HALO saatinde kortikosteron düzeyinin de yüksek olması, 5-HT ile oluşan ülserde glukokortikoidlerin katkısının olabileceğini göstermektedir. Yine daha sonraki saatlerde HUI'nin yüksek değerlerde kalıp, kortikosteron düzeyinin düşük olması, 5-HT'nin farklı bir mekanizma olasılıkla da mukozal damarlarda neden olduğu vazokonstriksiyonla etki oluşturduğunu desteklemektedir.

Sonuç olarak, verilerimiz 5-HT'ye bağımlı olarak gelişen mide erozyonlarının gün içi ritm gösterdiğini ve buna ek olarak yükselmiş olan kortikosteron düzeyinin 5-HT'nin neden olduğu mukozal harabiyete katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir.

Teşekkür: Bu araştırma Dokuz Eylül Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından (proje no : 0909.96.02.08) desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Moore JG. & Halberg F. Circadian rhythm of gastric acid secretion in man with active duodenal ulcer. *Dig. Dis. Sci.* 1986; 31:1185-1191.
2. Larsen KR, Dayton MT. & Moore JG. Circadian rhythm in gastric mucosal blood flow in fasting rat stomach. *J. Surg. Res* 1991; 51: 275-80.
3. Ader R. Gastric erosion in the rat : Effects of immobilization at different points in the activity cycle. *Science* 1964; 145:406-407.
4. Olson SE, Soll AH. & Guth PH. Circadian variation of susceptibility to gastric mucosal injury by acidified aspirin or absolute ethanol in the rat. *Gastroenterology* 1989; 91:1191-1197.
5. Moore JG. Circadian rhythmicity in gastric emptying, acid secretion, and mucosal damage by drugs: Implications for drug therapy. In *Cellular Clocks Series*, Vol: 3, Marcel Dekker Inc, New York, 1989; 631-654.
6. Moore JG, Mitchell MD, Larsen KR & Dayton MT. Circadian rhythm in prostacyclin activity in gastric tissue of the fasting rat. *Am. J. Surg.* 1992;163: 19-22.

7. LePard KJ & Stephens Jr RL. Serotonin inhibits gastric acid secretion in the rat through a 5-HT-like receptor in the rat. *J Pharmacol. Exp. Ther.* 1994; 270: 1139-1144.
8. Salim AS. Gastric mucosal protection in the rat by natriodofurly oxalate. *J Pharm. Pharmac* 1990; 42: 125-127.
9. Tsukamoto Y, Nazakawa S, Segawa K, Goto H, Fukai A, Takano K, Hase S, Arisawa T, Osada T & Kawabe Y. The effect of a new gastric proton pump inhibitor on serotonin-induced gastric mucosal lesions in rats. *Gastroenterol. Jpn.* 1988; 23: 501-505.
10. Wong SH, Cho CH. & Ogle CW. The role of serotonin in ethanol-induced gastric glandular damage. *Digestion*, 1990;45: 52-60.
11. Gidener S, Apaydın Ş, Küpelioglu A, Güven H, Gelal A. & Güre A. Serotonin causes acute gastric mucosal injury in rats, probably via 5HT1D receptors. *Int. J. Exp. Path.* 1995;76: 237-240.
12. Esplugues JV, & Whittle BJR. Gastric damage following local intra-arterial administration of reactive oxygen metabolites in the rat. *Br. J. Pharmac.* 1989; 97: 1085-1092.
13. Gronstad KO, Zinner MJ, Nilsson O, Dalhlstorm A, Jaffe BM & Ahlman H. Vagal release of serotonin into gut lumen and portal circulation via separate control mechanisms. *J Surg. Res.* 1988; 44: 146-151.
14. Larsen KR, Moore JG & Dayton MT. Circadian rhythms of gastric mucus efflux and residual mucus gel in the fasting rat stomach. *Dig. Dis. Sci.* 1991; 36: 1550-1555.
15. Szabo S. Role of sulfhydryls and early vascular lesions in gastric mucosal injury. *Acta Physiol. Hung.* 1984;64 (3-4), 203-214.
16. Cooke AR. Role of adrenocortical steroids in the regulation of gastric secretion. *Gastroenterology* 1967 ;52:272-281.
17. Shapiro M & Britt LG. The effect of adrenalectomy on the gastrointestinal tract. A review of the literature. *Rev. Surg.* 1972;29:229-239.
18. Guth PG, Aures D & Paulsen G. Topical aspirin plus HCl gastric lesions in the rat. Cytoprotective effect of prostaglandin, cimetidine and probanthine. *Gastroenterology* 1979; 76:88-93.
19. Robert A, Nezamis JE, Lancaster C & Hancher AJ. Cytoprotection by prostoglandins in rats- Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterology* 1979;77:433-443.
20. Tarquini B, Dellacorte M, & Orzalesi R. Circadian studies on plasma cortisol in subjects with peptic ulcer. *J Endocrinol.* 1967;38:475-476.
21. Fuller KW & Snoddy HD. The effects of metergoline and other serotonin receptor antagonists on serum corticosterone in rates. *Endocrinology* 1979; 105, 923-928.
22. Feniuk W, Hare J.& Humprey PPA. An analysis of the mechanism of 5-hydroxytryptamine-induced responses in ganglion-blocked anaesthetised dogs. *J. Pharm. Pharmacol.* 1981; 33,155-160.
23. Hemrick-Luecke SK, Fuller RW. Involvement of 5HT_{2A} receptors in elevation of rat serum corticosterone concentrations by quipazine and MK-212. *Eur J Pharmacol* 1996; 12;311 (2-3): 207-11.