

Sıçanlarda Mide İçine Verilen Aspirin ve Papaverinin Endojen Prostaglandin E₂ Aktivitesine Etkileri

Ömür Gönen^x

Özet: Fosfodiesteraz inhibitörü papaverinin, mide endojen prostaglandinlerine etkisini ve aspirine bağlı gastrik lezyonları önleyip önlemediğini araştırmak amacıyla yapılan çalışmada; sıçan mide mukozasında endojen prostaglandin E₂ (PGE₂) aktivitesi bioassay yöntemiyle ve histolojik değişiklikler ışık mikroskopisinde değerlendirildi. Çalışma; 12 kontrol, 12 % 1.5 metil sellüloz, 12 papaverin, 22 aspirin ve 12 papaverin sonrası aspirin verilen 70 sıçanda uygulandı. Doğrudan açılan sıçanların mide korpus örneklerinde 46.78 ng/g'lık PGE₂ aktivitesi saptandı. % 1.5 metil sellülozun 10 cc/kg verilışı ile PGE₂ aktivitesi 39.84 ng/g olup, kontrole fark önemsizdi (P> 0.05). 2.5 mg/kg papaverin ile PGE₂ 64.63 ng/g olup, kontrole göre belirgin artış gözlemlendi (P<0.05). % 1.5 metil sellüloz içinde homojenize 200 mg/kg aspirin grubu PGE₂ aktivitesi 15.06 ng/g olup, kontrole göre % 68'lik önemli bir inhibisyon gösterdi (P<0.0005). Papaverin sonrası aspirin verildiğinde PGE₂ 40.08 ng/g olup, sadece aspirin grubuna göre aktivite önemli oranda yüksek kaldı (P<0.005). PGE₂ aktivitesi değerlerine paralel olarak; aspirin öncesi papaverin vermekle, aspirinin oluşturduğu gastrik lezyonların histolojik olarak % 50, makroskopik olarak % 60 oranında önlendiği gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Prostaglandin E₂, aspirin, papaverin

The effects of aspirin and papaverin on the activity of endogen gastric prostaglandin E₂ in rats

Summary: Konya species, female 70 rats were used to study the effect of papaverin on endogen gastric prostaglandin-E₂ (PGE₂) and its protecting role against aspirin induced gastric lesions. Active substances were given to the stomach through an orogastric tube and six hours later the gastric mucosal samples were taken. PGE₂ activity was measured by bioassay and the morphological examinations were evaluated by light microscopy. The mean endogen gastric mucosal PGE₂ activity was 46.78 ng/g in control animals (12 rats), and 39.84 ng/g was in 1.5 % methyl cellulose group (12 rats). The difference was not significant (P> 0.05). PGE₂ activity was 64.63 ng/g in 2.5 mg/kg papaverin group (12 rats) and was significantly elevated compared with the control animals (P< 0.05). PGE₂ activity in aspirin group (200 mg/kg homogenized with 1.5 % methyl cellulose, 22 rats) was 15.06 ng/g which was 68 %

^x Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

less compared with the control group ($P < 0.0005$). We did not observed any significant fall in PGE₂ activity (40.08 ng/g) following the aspirin administration 3 hour after papaverin (12 rats), compared with the group treated with the aspirine alone ($P < 0.005$). The aspirin induced gastric mucosal lesions were protected with the papaverin usage. The protections was 60 % macroscopically and 50 % histologically.

Key words: Prostaglandin-E₂, aspirin, papaverin

Prostaglandinlerin (PG) deney hayvanları ve insan mide mukozasında sentez edildikleri bilinmektedir (3,4). Aspirinin PG-sentetaz enzimini irreversibl olarak inhibe edip (17) prostaglandin sentezini önlemesi; ülserasyon gelişiminin endojen PG'lerdeki eksiklik sonucu oluştuğu görüşünü ortaya çıkarmıştır. Böylece, piloru bağlanmış sıçanlarda mide içerisine hipertonic solüsyonlar verilerek endojen PGE₂ sentezi uyarılmış ve aspirinin oluşturduğu ülserasyonların önlediği görülmüştür (1).

Papaverinin, siklik nükleotid fosfodiesterazi inhibe ederek (11,15), PG'lerin yıkımını önlediği ve ayrıca tavşan mide mukozası doku kültürlerinde PGE₂ sentezini uyardığı gösterilmiştir (8). Bu çalışmada; papaverinin sıçan gastrik mukoza PGE₂ düzeylerine etkisi ve aspirinin oluşturduğu ülserasyonları önleyip önlemeyeceği araştırıldı.

Materyal ve Metod

Çalışma, Hacettepe Tıp Fakültesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezi, Farmakoloji ve Patoloji Bölümleri laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Deney hayvanları laboratuvarında üretilip yetiştirilen, Konya Türü, saf, 150-250 g ağırlığında 70 dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar 24 saat süreyle su dışında aç bırakıldılar. Deneyden 4 saat önce su alımları da kesildi. Çalışma üç ayrı aşamada yürütüldü:

I. Aşama: Uygulanan madde, poietilen orogastrik kateter ile mideye verildi. I. grup 12 sıçana herhangi bir madde verilmeksizin doğrudan açıldı, kontrol olarak alındı. II. grup 12 sıçana % 1.5'luk metil sellüloz (Metosole^R, Seppic Lab.) verildi. Metil sellüloz, aspirinin homojenizasyonunda kullandığımız inaktif bir madde olup, aspirin için gerekli olan (cc/g sıçan ağırlığı) değerlerinde verildi. III. grup 12 sıçana 2.5mg/kg papaverin HCl (Dinçel Lab.) verildi. IV. grup 22 sıçana 200 mg/kg dozunda aspirin (Acetylsalicylic Acid, Merck Lab.) verildi. Aspirinin homojenize bir şekilde verilebilmesi için % 1.5'luk metil sellülozda homojenizasyonu yapıldı. Deneyden hemen önce hazırlanan karışım, çökelmeyi önlemek için devamlı mekanik karıştırıcı üzerinde tutuldu. Aspirin aktivitesi, deney öncesi, birinci ve altıncı saatlerde % 4.5 'luk ferri klorür test çözeltisi (FeCl₃ · 6H₂O, Riedel Lab.) ile kontrol edildi. V. grup 12 sıçana: önce üçüncü gruptaki dozda (2.5 mg/kg) papaverin verildi. Üç saat sonra tekrar orogastrik kateter ile dördüncü grupta verilen dozda (200 mg/kg) aspirin verildi.

Deney maddesi verildikten sonra, altı saat laboratuvar ısısında korunan sıçanların ether anestezisi altında mideleri alındı, büyük kurvatura boyunca kesilerek iç yüzü açıldı. 2.5 büyütmeli büyüteçle mide mukozasının gross görünümü süratle değerlendirildi. Çıkarılan midenin bir yarısı: fundus-korpus hattının 3mm altından kesilerek, ayrıldı. Bu korpus örneği daha önceden hazırlanıp -20°C'ta korunan kapaklı cam tüpe alındı ve tekrar derin dondurucuya kaldırıldı. Midenin geri kalan fundus+korpus kısmı % 10 formaldehyde solüsyonunda tesbit edildi.

II. Aşama: -20°C'ta korunan mide korpus örnekleri PGE₂aktivitesi tayini için homojenize ve ekstrakte edildi (6). PG'lerin kantitatif değerlendirilmesi biyoassay (3) yöntemiyle yapıldı. Burada Vane Yöntemi'ne göre (16) hazırlanıp korunan mide kası kullanıldı. Standart doz/ cevap eğrisi üzerinden, ng/g doku ağırlığına isabet eden PGE₂-benzeri aktivite olarak hesaplandı.

III. Aşama: Her gruba ait mide örneklerinin % 10 formaldehide'de tesbit edilen kısımları parafine gömülüp 5 mikron kalınlıkta histolojik seri kesitleri yapıldı. Morfolojik inceleme için rutin hematoksilin-eosin boyası, gastrik müküsü değerlendirmek amacıyla da pH 7.5 olan alsian mavisi, PAS ve mucicarmine özel histokimyasal reaksiyonları kullanıldı (2).

Tüm sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi Student-t testi ile yapıldı (12).

Bulgular

Aspirin 2, metilsellüloz 1 ve papaverin verilen gruptan birer sıçanın mideleri gaita ve kıl artıkları ile doluydu. II., III. gruptardan birer ve V. gruptan iki deneğin doku örnekleri PGE₂ çalışması sırasında teknik nedenle bozuldu ve toplam 8 sıçan değerlendirme dışı tutularak, 62 sıçanın sonuçları gözden geçirildi.

Mide mukozaları 2.5 büyütme büyüteçle tek tek incelendiğinde; kontrol grubu, metilsellüloz ve papaverin verilen sıçanların mide mukozaları makroskopik olarak doğaldı. 200 mg/kg aspirin verilen 20 sıçanın mide mukozalarında değişik derecelerde lezyonlar izlendi. Üç sıçanda; 1-4 adet, 0.5x1 mm boyutlarında akut, yüzeysel erezyonlar olup, mukoza konjesyone görünümdeydi. 9 sıçanda; 6-12 adet arasında değişen 1x1 mm boyutlarında erezyonlar mevcuttu. 6 sıçanda ise multipl, akut, 1-2 mm boyutlarında, lineer kanama odakları vardı. Bütün mide mukozası konjesyone olup, beşinde lümende hematemez vasfında materyal gözlemlendi. İki sıçanda ise mukozal ödem ve hiperemi dışında belirgin erezyon gözlemlenmedi. Bu gruptaki bütün lezyonlar mide korpusu ve antrumda olup, fundus bölgesinde herhangi bir lezyon görülmedi. Papaverin+aspirin verilen 10 sıçanın 6'sında hiçbir makroskopik lezyon saptanmadı. 3 sıçanda: mukozal ödem ve konjesyon, bir sıçanda ise; bir adet 2x2mm büyüklükte akut ülsere alan ile, 3-4 adet peteşi şeklinde lezyon gözlemlendi.

Gastrik korpus mukozası doku örneklerinde tesbit edilen PGE₂- benzeri aktivitenin bireysel değerleri Tablo 1'de görülmektedir. Gram gastrik dokuya düşen PGE₂ değerlerinin gruplar içi ortalamaları;

Kontrol Grubu	= 46.784 ± 4.248 ng/g
Metilsellüloz Grubu	= 39.845 ± 3.607 ng/g
Papaverin Grubu	= 64.630 ± 7.728 ng/g
Aspirin Grubu	= 15.069 ± 1.657 ng/g
Papaverin+Aspirin Grubu	= 40.080 ± 7.467 ng/g şeklindedir.

Tablo I. Gastrik mukoza örneklerinde PGE₂-benzeri aktivitenin bireysel değerleri

Denek No	Kontrol	% 1.5 Metilsel.	Papaverin	Aspirin	Papaverin + Aspirin
1	36.479	36.616	76.824	14.836	52.083
2	36.970	27.964	38.400	18.827	49.586
3	45.789	33.529	64.377	21.746	19.736
4	77.981	43.156	87.609	13.204	19.125
5	52.300	46.201	48.701	19.731	28.087
6	60.900	37.226	97.719	4.668	36.407
7	46.314	34.140	61.247	18.867	21.660
8	60.913	34.444	29.182	8.312	22.094
9	32.258	36.236	96.711	11.641	92.267
10	47.073	68.946	45.537	6.570	59.787
11	23.841			10.610	
12	40.519			2.740	
13				18.505	
14				32.352	
15				22.200	
16				15.278	
17				20.905	
18				8.950	
19				8.600	
20				22.850	
n	12	10	10	20	10
Range					
Üst sınır	77.981	68.946	97.719	32.352	92.267
Alt sınır	23.841	27.964	29.182	2.740	19.125
Ortalama	46.784	39.845	64.630	15.069	40.080
St.Sapma	14.716	11.408	24.438	7.411	23.615
St.Hata	4.248	3.607	7.728	1.657	7.467

Kontrol grubu ortalaması 46.784 ± 4.248 ng/g olup, metilsellüloz grubu ortalamasının (39.845 ± 3.607 ng/g) düşüklüğü istatistiksel açıdan önemli değildi ($P > 0.05$).

Papaverin grubu ortalaması 64.630 ± 7.728 ng/g bulundu. Bu değer; kontrol, metilsellüloz ve aspirin verilen grup ortalamalarına göre belirgin derecede yüksekti ($P < 0.05$, $P < 0.005$, $P < 0.0005$). Papaverin verilışı ile PGE₂ aktivitesi kontrole göre % 37 , metilsellüloza göre % 62 oranında artmış bulundu.

Aspirin verilen grup ortalaması 15.069 ± 1.657 ng/g olup , bu değer diğer dört grup ortalamasına göre de önemli oranda düşük bulundu ($P < 0.0005$). Aspirin verilışı ile PGE₂ aktivitesi: kontrol grubundan %68, metilsellüloz grubundan ise % 60 oranında azalma göstermiştir.

Papaverin sonrası aspirin verilen grup ortalaması 40.080 ± 7.467 ng/g olup, bunun kontrol ve metilsellüloza göre önemi yoktu. Fakat, papaverin grubuna göre düşük ($P < 0.025$) ve aspirin grubuna göre de önemli ölçüde yüksekti ($P < 0.005$).

Kontrol ve metilsellüloz grubu sıçanların mide mukozalarının histolojik incelenmesinde; mukozanın normal yapısını koruduğu görüldü. Papaverin grubunda, mukoza ve submukozada belirgin konjesyon dışında patoloji gözlenmedi. aspirin verilen sıçanlardan 16'sında; mukoza kalınlığının 1/3 ile 1/2'si derinliğinde birden fazla ülserasyon olduğu gözlemlendi. Ülser yüzeyi ve zemininde eritrosit, fibrin, nekrotik hücre artıkları mevcuttu. 18 olguda; mukozada yerel ödem, konjesyon ve PMN lökosit infiltrasyonu ile karakterize fokal gastritis saptandı.

Müküs değerlendirmesinde; ülser alanlarında müküs kaybı ve lümende serbest müküs görüldü. Hematoksilen-eosin boyası ile normal görülen mukozada her üç histokimyasal müküs boyası ile de yerel müküs kaybı olduğu saptandı.

Papaverin+aspirin grubunda bir olguda multipl yüzeyel ülserler ile dört olguda da ödem ve konjesyonla belirlenen gastritis saptandı.

Tartışma

Aspirinin, PG'lerin sentezinden sorumlu olan PG Sentetaz enzimi aktivitesini inhibe ettiğinin gösterilmesi (17) ve eksojen PG'ler ile aspirinin oluşturduğu ülserasyonların önlenmesi (14); ülserojenik etkinin PG'ler üzerinde olduğu görüşünü ortaya çıkarmıştır. Aspirinin, PG'nin sentezini irreversibl olarak inaktive etmesiyle (17) mukozadaki normal sitoprotektif özelliklerinin azalması sonucu ülserlerin geliştiği kabul edilmektedir.

Prostaglandinlerin mukozada sentez edildiği ve çeşitli ajanların salıverilmeye neden olduğu bilinmektedir (7). Çalışmamızda kontrol grubu sıçanların gastrik mukoza örneklerinde 46.78 ng/g'lık bir PGE₂ aktivitesi olup, inaktif bir madde olan % 1.5 'luk metilsellüloz verilmesi ile 39.84 ng/g'a düştüğü, ancak bu düşüşün anlamlı olmadığı görüldü ($P > 0.05$). Bu grupta makroskopik veya mikroskopik herhangi bir patoloji saptanmadı. Buna karşın 200 mg/kg aspirin verilmesiyle mukozal PGE₂ aktivitesi 15.06 ng/g'a inerek, % 68'lik önemli bir ($P < 0.0005$) azalma gösterdi. Bu azalışa paralel olarak 20 sıçanın 18 'inde belirgin ülserler gelişti. Mikroskopik olarak da 16 'sında multipl ülserler ve 18 'inde fokal gastritis gözlemlendi. Reynolds (13), tek doz, 100 mg/kg oral aspirin ile: sıçanların % 75 'inde yüzeyel deskuamasyon ve ancak

% 25 ülserasyon şeklinde lezyon gelişim tanımlamıştır. Çalışmamızdaki lezyonların yaygınlığını aspirin dozunun yüksekliği ile açıklamak mümkündür.

PG'lerin yıkımından sorumlu PG- fosfodiesteraz inhibitörü olan (11,15) papaverinin 2.5 mg/kg dozunda intragastrik verilmesi ile endojen PGE₂ aktivitesinin 64.63 ng/g'a yükselerek, % 37'lik önemli bir artış gösterdiği bulundu (P<0.05). Papaverin sonrası aspirin verildiğinde ise PGE₂ aktivitesi 40.08 ng/g olup, yalnız aspirin verilmesinde ortaya çıkan PGE₂ aktivite düşüşü gözlenmedi (P<0.005).

Papaverinin meydana getirdiği bu endojen PGE₂ aktivite artışıyla birlikte aspirinin oluşturduğu gastrik lezyonlar; mikroskopik düzeyde % 50 , makroskopik düzeyde % 60 oranında önlenmiştir. Sadece ülser gelişimi yönünden değerlendirildiğinde ise % 90 oranında bir koruyucu etki elde edildiği görülmüştür.

Papaverinin PG yıkımını önlemesi yanında, gastrik mukozal doku kültürlerinde PGE₂ yapımını da uyardığı gösterilmiştir (8). Çalışmamızda tek doz papaverin ile % 37'lik bir PGE₂ artışı meydana gelmiştir. Bu şekilde aspirin mideye ulaşmadan önce gastrik mukozada endojen PGE₂ artışı olmakta ve aspirin mideye ulaştığında, normalde beklenenden fazla bir PGE₂ ve buna bağlı koruyucu özellikler ile karşılaşmaktadır. Böylece aspirinin ülserojenik etkisi daha sınırlı kalmaktadır.

Menguy ve Desbaillets (9), aspirinin gastrik müküsü azaltıp, yapısını bozarak erezyonlara neden olduğunu rapor etmiştir. Diğer taraftan PG'lerin müküs sekresyonunu uyardığı gösterilmiştir (5). Çalışmamızda alcian mavisi, PAS ve mucicarmine ile müküs için yapılan histokimyasal değerlendirmede; kontrol, metilsellüloz ve papaverin gruplarında müküs dağılımının normal sınırlar içinde olduğu gözlemlendi. Aspirin grubunda ise: Ülser alanlarında doku müküsünün kaybolduğu ve lümen dökülmüş halde bulunduğu görüldü. Ülser alanları dışında hematoksilen-eosin ile normal görülen mukozada da müküs azalması ve yerel müküs kaybı alanları belirgin olarak dikkati çekmekteydi. Aspirin verilen sıçanlarda gastrik sıvıda müküs içeriğinin azaldığı kantitatif olarak gösterilmiştir. Ancak çalışmamızda doğal gastrik fizyolojisi korumak amacıyla pilor bağlanmadı veya gastrik boş meydana getirilmedi ve bu nedenle sıvı toplamak mümkün olmadı. Ancak, histokimyasal olarak müküsün azaldığı ve kaybolduğu sabit bir bulgu olarak saptandı.

Gerek papaverin ve gerekse papaverin sonrası aspirin verilen sıçanlardaki lezyon gelişmeyen olgularda PGE₂ düzeyleri artmış olduğu halde, mukozal müküs görünümünde belirgin bir artış olmayışı; papaverinin koruyucu etkisinin doğrudan müküsle ilgili olmadığını göstermektedir. Odonkor ve ark.'nın (10) tanımladığı gastrik sıvıdaki glycoprotein artışı belki de; aspirin etkisiyle yıkılan ve lümen dökülen müküs nedeniyle olmaktadır.

Bu çalışmada; inaktif bir madde olan % 1.5 metilsellülozun sıçanlarda gastrik korpus PGE₂ aktivitesini değiştirmediği, 200 mg/kg oral aspirin ile % 68'lik bir inhibisyon ve 2.5 mg/kg papaverin ile % 37'lik bir PGE₂ artışı olduğu gözlemlendi. Aspirin öncesi papaverin vermekle PGE₂ aktivitesindeki düşüşün kısmen önlenildiği ve bunun aspirine bağlı lezyonları önleyebildiği görüldü. Verilerin ışığında, klinik kullanım dozlarında önemli bir yan etkisi olmayan papaverinin; aspirin ile meydana gelebilecek lezyonların önlenmesindeki yerinin araştırılmasının uygun olacağı görüşü belirdi.

Kaynaklar

1. Assouline G, Leibson V, Danon A: Stimulation of Prostaglandin output from Rat Stomach by Hypertonic Solutions. *Eur J Pharmacol* 44: 271-273, 1977.
2. Bancroft JD, Stevens A: *In Theory and Practice of Histological Techniques*. Churchill Livingstone, London, 1977, pp 152-153, 147-148, 157.
3. Bennet A, Friedman CA, Vane JR: Release of Prostaglandin E₁ from the Rat Stomach. *Nature* 216: 873-876, 1967.
4. Bennet A, Stamford IF, Unger WG: Prostaglandin E₂ and Gastric Acid Secretion in Man. *J Physiol* 229: 349-360, 1973.
5. Bolton JP, Palmer D, Cohen MM: Effect of the E₂ Prostaglandins on Gastric Mucus Production in Rats. *Surg Forum* 27: 402-403, 1976.
6. Coceani F, Wolfe LS: Prostaglandins in Brain and the Release of Prostaglandin-Like Compounds from the Cat Cerebellar Cortex. *Canad J Physiol Pharmacol* 43: 445, 1965.
7. Kayaalp O: *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. Ayyıldız Matbaası AŞ, Ankara, 1978, 1488.
8. Ligumsky M, Rachmilewitz D, Zor U: Papaverine Stimulation of Prostaglandin E₂ Production by Cultured Rabbit Gastric Mucosa. *Gut* 20: 882-885, 1979.
9. Menguy R, Desbaillets L: Effects of Aspirin on Gastric Mucous Secretion. *Surg Gynecol Obstet* 120: 92-98, 1965.
10. Odonkor P, Mowat C, Himal HS: The Role of Mucus Glycoproteins in Prostaglandin Cytoprotection. *Amer J Gastroenterol* 73: 496-499, 1980.
11. Poch G, Kukovetz WR: Papaverine-Induced Inhibition of Phosphodiesterase Activity in Various Mammalian Tissues. *Life Sci* 10: 133-144, 1971.
12. Remington DR, Schort MA: *Statistics with Applications to the Biological and Health Sciences*. Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs, New Jersey 1970, pp 175.
13. Reynolds KW: Erosive Gastritis, with Special Reference to the Role of Aspirin and Bile. *Ann Roy Coll Surg Engl* 55: 213-225, 1974.
14. Robert A: Antisecretory, Antiulcer, Cytoprotective and Diarrheogenic Properties of Prostaglandins. *Prostaglandin and Thromboxane Res* 2: 507-520, 1976.

15. Triner L, Vulliemoz Y, Schwartz I, et al: Cyclic Phosphodiesterase Activity and the Action of Papaverine. **Biochem Biophys Res Commun** 40: 64-69, 1970.
16. Vane JR: The Release and Fate of Vasoactive Hormones in the Circulation. **Brit J Pharmacol** 35: 209-242, 1969.
17. Vane JR: Inhibition of Prostaglandin Synthesis as a Mechanism of Action for Aspirin-Like Drugs. **Nature (New Biol)** 231: 232-235, 1971.