

C ve E Vitaminlerinin, Kronik Olarak Alkolle Beslenen Sıçanlarda Beyin Dokusu Arjinaz Aktivitesi, Ornitin ve Üre Düzeylerine Etkileri

Effects of Vitamin A and E on Arginase Activity, Ornithine and Urea Levels in Brain Tissues of Rats on Long-Term Alcohol Administration

Ayşe A. KUNDAK, Hakan ERBAŞ, Şendoğan GÜLEN, Gülbin DÖKMECİ, Hüseyin ÇELİK, Turgut ÖZCAN

Başvuru tarihi / Submitted: 27.09.2006 **Kabul tarihi / Accepted:** 11.10.2006

Amaç: Sıçanlarda uzun süreli alkol kullanımının beyin arjinaz enzim aktivitesi ve ornitin üzerine etkisi ile C ve E vitaminlerinin bu parametreler üzerindeki etkisi araştırıldı.

Çalışma Planı: Çalışmada 4-6 aylık, 75 erkek Wistar Albino cinsi sıçan kullanıldı. On beşerlik gruplar halinde beş çalışma grubu oluşturuldu. Birinci gruba alkole eşit kalori-de glukoz oral yoldan verilirken, 2. gruba alkol, 3. gruba alkole ek olarak C vitamini, 4. gruba alkole ek olarak E vitamini, 5. gruba alkole ek olarak C ve E vitaminleri 20 hafta süreyle verildi. Yirminci hafta sonunda sıçanlar sakrifiye edildi. Beyin dokusu örneklerinde arjinaz enzim aktivitesi, ornitin ve üre düzeyleri ölçüldü.

Bulgular: Beyin dokusu arjinaz aktivitesi, ornitin ve üre düzeyleri tedavi alan gruplarda alkol grubuna oranla anlamlı olarak yüksek bulundu.

Sonuç: Kronik alkol kullanımında arttığı bilinen nitrik oksit sentazın (NOS), L-arjinin havuzunun tükenmesine yol açarak arjinaz enzim aktivitesinde azalmaya neden olabileceği, antioksidan vitaminler olarak C ve E vitaminlerinin kullanımının, oksidatif stresi azaltıp arjinaz/NOS yolağını arjinaz lehine çevirebileceği ve olumsuz etkileri bilinen nitrik oksit üretiminin azalmasının söz konusu olabileceği düşünülmektedir. Aynı anda üretimi artan poliaminler bu olumlu etkiyi daha da artırabilecektir. Dolayısı ile kronik alkol kullanımının zararlı etkilerini azaltmada C ve E vitaminlerinden yararlanılabilir.

Anahtar Sözcükler: Arjinaz; askorbik asit; beyin; ornitin; üre; E vitamini.

Objectives: The effect of long-term alcohol administration on brain arginase enzyme activity, ornithine and urea levels and the changes induced by administration of vitamins C and E were investigated.

Study Design: Seventy-five male Wistar Albino rats between 4-6 months of age were used. Five study groups, each consisting of 15 rats were formed. The first group received oral glucose with a calorie value equivalent to alcohol. The second group received alcohol, the third, fourth and fifth groups received vitamins C, E and C+E, respectively, in addition to alcohol, for 20 weeks. All animals were sacrificed by the end of 20 weeks and arginase activity, ornithine and urea levels were measured in brain tissue samples.

Results: In the treatment groups, arginase activities, ornithine and urea levels were significantly higher than the alcohol group (group 2).

Conclusion: These results suggest that the nitric oxide synthase (NOS) enzyme which is shown to have increased in chronic alcohol intake, may cause a decrease in arginase enzyme activity via depleting the L-arginine pool. Antioxidant replacement therapy may increase the arginase enzyme activity and therefore lead to a decrease in nitric oxide production which has been shown to have some negative effects. On the other hand, simultaneously increased polyamine production may potentiate the beneficial effects of these vitamins. Thus, vitamins C and E may prove to be effective in reducing the deleterious effects of chronic alcohol consumption.

Key Words: Arginase; ascorbic acid; brain; ornithine; urea; vitamin E.

Trakya Univ Tıp Fak Derg 2007;24(1):49-55

*31. Avrupa Biyokimya Dernekleri Federasyonu Kongresi'nde poster bildiri olarak sunulmuştur (24-29 Haziran 2006, İstanbul).

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı (Kundak, Uzm. Dr.; Erbaş, Yrd. Doç. Dr.; Gülen, Prof. Dr.); İç Hastalıkları Anabilim Dalı (Dökmeçi, Prof. Dr.; Çelik, Özcan, Uzm. Dr.).

İletişim: Dr. Hakan Erbaş, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 22030 Edirne.
Tel: 0284 - 235 76 41 / 1620 Faks: 0284 - 235 27 30 e-posta: herbas@trakya.edu.tr

©Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. Ekin Tıbbi Yayıncılık tarafından basılmıştır. Her hakkı saklıdır.

©Medical Journal of Trakya University. Published by Ekin Medical Publishing. All rights reserved.

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, alkol alımının kardiyovasküler ve serebral hasar gelişiminde en önemli risk faktörlerinden biri olduğunu ortaya koymuştur.^[1] Alkolün organizmadaki başlıca etki yeri santral sinir sistemidir. Akut veya kronik alkol kullanımı sinir sisteminde yapısal, fizyolojik ve nörokimyasal değişikliklere neden olur. Bununla birlikte alkol kullanımına bağlı oluşan beyin hasarının mekanizması tam olarak açıklanamamıştır.^[2] Alkol kullanımında, gerek beslenmenin bozulması sonucu gerekse alkolün zararlı etkileri nedeniyle demir, çinko, magnezyum, fosfor, bakır gibi bazı mineraller ile özellikle B grubu vitaminler başta olmak üzere tüm vitamin düzeylerinde bir azalma görülür. Bu eksiklikler sonucu geri dönüşümsüz olabilen bozukluklar ortaya çıkar.^[3]

Arjinaz, (L-arginin amidinohidrolaz; EC 3.5.3.1) nitrojen metabolizmasının anahtar enzimidir. Ana substratı olan arjinini, üre ve L-ornitine dönüştürür. Son yıllarda yapılan çalışmalar, memelilerde arjinaz-I (A-I) ve II (A-II) olmak üzere en az iki farklı formu olduğunu göstermiştir. Bunlardan A-I sitoplazmik kökenli ve ağırlıklı olarak karaciğerde bulunurken; A-II, böbrek, beyin, ince bağırsak, meme dokusu ve makrofaj gibi ekstrahepatik dokularda bulunmakta ve mitokondriler içinde yerleşim göstermektedir.^[4]

Arjinaz enziminin katalize ettiği reaksiyonun iki ürünü vardır. Bunlar üre ve ornitindir. Arjininden oluşan ornitin, akut enflamasyona cevap olarak ve hücre proliferasyonunu sağlamak üzere poliaminlere dönüşür. Poliaminler (putresin, spermin ve spermidin) tüm memeli hücrelerinde bulunur. Poliaminler bakteri ve memeli hücre kültürleri için büyüme faktörleridir. Farmakolojik dozlarda hipotermik ve hipotansif etkilidirler.^[5] Hücre proliferasyonunun arttığı fizyolojik ve patolojik durumlarda poliamin düzeylerinin de arttığı gösterilmiştir. Poliamin üretiminin hücre hasarı tamir fazının şiddeti ile paralel olduğu bildirilmiştir.^[6]

Arjinaz, üre döngüsünün kilit enzimi olmasının yanında nitrik oksit sentaz (NOS) ile beraber yara iyileşmesi, immün cevap, tümör biyolojisi ve yangının düzenlenmesinde rol oynar.

maktadır.^[7] Günümüzde nitrik oksit (NO) vasküler endotelden sürekli olarak salındığı, böylece vasküler tonusun regülasyonunda önemli rolü olduğu kabul edilmektedir. Ayrıca hem birçok fizyolojik fonksiyonun gerçekleşmesi için gerekli olduğu ve antioksidan savunmaya katkıda bulunduğu, hem de aşırı üretim durumunda radikal etki gösterdiği vurgulanmaktadır.^[8] Nitrik oksit, periferde olduğu kadar santral sinir sisteminde de önemli biyolojik aktivitesi olan labil ve çok kısa ömürlü serbest radikal bir gazdır.^[9] Nitrik oksit, prekürsörü L-arjininden NOS enziminin katalizlediği bir reaksiyon ile sentezlenir. Yapılan deneysel araştırmalar serebellum, striatum, hipokampus, serebral korteks ve hipotalamus gibi majör beyin bölgelerinde de NOS aktivitesinin bulunduğu işaret etmektedir. Kısacası NO'nun santral sinir sisteminin hemen her bölgesinde sentezlendiği ve öğrenme, bellek, anksiyete, epileptik aktivite, yeme ve içme davranışı üzerinde etkileri olduğu düşünülmektedir.

C vitamini güçlü bir antioksidandır. Hidroksil radikali, süperoksit radikali, nitrojen dioksit gibi serbest radikaller ile ozon, singlet oksijen, peroksinitrit gibi nonradikal ürünleri yakalayarak, proteinler, lipid ve DNA gibi biyolojik olarak önemli makromolekülleri oksidatif hasardan korur.^[10] Yine, lipid peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek membran lipidlerini oksidan hasara karşı korur. Diğer yandan, sellüler ve subsellüler zar fosfolipidlerinde bulunan doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna karşı ilk savunma E vitamini ile oluşturulur. Tokoferoller, fenolik bir hidrojeni, peroksitlenmiş doymamış bir yağ asidinin peroksi serbest radikaline aktararak antioksidan etki yaparlar.^[11]

Deney hayvanlarında etil alkol ve NO düzeyleri arasındaki etkileşime işaret eden çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda kronik olarak alkol verilmesinin NO oluşumunu stimüle ettiği ve aşırı NO oluşumunun serbest radikal etki yaparak beyin dokusunda çeşitli hasarlara neden olabileceği vurgulanmıştır.^[12,13] Bazı çalışmalar ise kronik olarak alkol kullanımının beyinde eksitator iletimi ve eksitator amino-

asit reseptörlerinin sayısını artırdığını göstermiştir.^[14] Artan glutamat düzeylerinin, N-metil D-aspartat (NMDA) reseptörlerini uyararak kalsiyum aracılığı ile NOS enzim aktivasyonuna ve böylece NO üretiminin artmasına neden olabileceği ileri sürülmüştür.^[15,16]

Alkol kullanımında bu antioksidan moleküllerin beyin arjinaz enzim düzeyleri üzerine etkileri ise tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada, kronik alkol kullanımının beyin arjinaz enzim aktivitesi, ornitin ve üre düzeyleri üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Ayrıca bu çalışmada kronik alkol kullanımında beyin dokusundaki düzeylerinin azaldığı bilinen α -tokoferol ve askorbik asid ilk kez birlikte verilerek bu antioksidan moleküllerin alkol kullanımı sonrası beyin arjinaz enzim aktivitesi, ornitin ve üre düzeyleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma için lokal Etik Kurul onayı alındıktan sonra ortalama ağırlıkları 293.9 ± 34.7 gr arasında değişen, 4-6 aylık, 75 adet erkek Wistar-Albino cinsi sıçan kullanıldı. Denekler rastgele seçilerek, her grupta 15 sıçan olmak üzere toplam beş grup oluşturuldu. Tüm gruplara günlük olarak standart sıçan yemi verildi. Çalışma devam ederken 1., 4. ve 5. gruptan ölen toplam üç sıçan çalışma dışı bırakıldı. Birinci grup (n=14) sağlam kontrol grubu olarak kabul edildi. Bu gruba, izokalorik glukoz 20 hafta boyunca içme suyuna katılarak verildi. İkinci grup (n=15) hastalıklı kontrol grubu olarak kabul edildi. Deneklere, alkol 20 hafta boyunca içme suyuna karıştırılarak oral yoldan verildi. Sıçanların alkolü tolere edebilmeleri için çalışmanın başlangıcında alkol dozu ortalama 8 gr/kg/gün olarak belirlendi. Onuncu günden itibaren ise alkolün miktarı artırılarak ortalama 12 gr/kg/gün dozunda verilmeye devam edildi. Üçüncü grup (n=15) C vitamini uygulanan grup olarak ayrıldı. Deneklere, alkol 20 hafta boyunca içme suyuna 2. grup ile aynı dozlarda karıştırılarak oral olarak verildi. Alkol ile eş zamanlı olarak içme suyuna ortalama 35 mg/kg/gün dozunda C vitamini eklendi. Dördüncü grup (n=14) E vitamini uygulanan grup olarak kabul edildi. Bu gruptaki sıçanlara, alkol 20 hafta bo-

yunca içme suyuna aynı dozda karıştırılarak oral yoldan verildi. Alkol ile birlikte içme suyuna ortalama 25 mg/kg/gün dozunda E vitamini eklendi. Beşinci gruptaki (n=14) sıçanlara C ve E vitamini birlikte uygulandı. Alkol diğer gruplarla aynı dozlarda içme suyuna karıştırılarak oral yoldan verildi. Ortalama 35 mg/kg/gün C vitamini ve 25 mg/kg/gün E vitamini alkol ile birlikte içme suyuna karıştırıldı.

Deney tüm sıçanlar için anestezi altında intrakardiyak kan alınması ve sakrifikasyon işlemi ile sonlandırıldı. Sakrifikasyon sonrası beyin dokuları çıkarıldı. Doku örnekleri alınır alınmaz %0.9'luk soğuk serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra deneyin yapılacağı güne kadar -20 °C'de saklandı.

Arjinaz enzim aktivitesi, ornitin ve üre düzeylerinin ölçülmesi

Beyin dokusu arjinaz enzim aktiviteleri ve üre düzeyleri spektrofotometrik olarak tiyosemikarbazid diasetilmonoksim üre (TDMU) yöntemiyle ölçüldü.^[17] Bu yöntem, belli miktarda substrat olarak verilen L-arjininin hidrolizi sonucu oluşan üre miktarının belirlenmesi esasına dayanmaktadır. Arjinaz enzim aktivitesi 37 °C ve bir dakikada 1 mmol üre serbestleştiren enzim miktarı olarak tanımlandı ve proteine oranlandı.

Beyin dokusu ornitin düzeyleri ise Chinard yöntemine göre ölçüldü.^[18] Total protein düzeylerinin tayininde ise Lowry metodu kullanıldı.^[19]

İstatistiksel analiz

Arjinaz enzim aktivitesi, ornitin ve üre değerlerinin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile analiz edildi ve tüm parametrelerin normal dağılıma uygun olduğu saptandı. Araştırılan parametrelerin birbirleri ile ilişkili olduğu düşüncesi ile gruplar arası karşılaştırmalar MANOVA testi ile yapıldı. Varyansların homojenliği Levene testi ile analiz edildi ve her bir parametre için varyansların homojen olmadığı görüldü. Bu nedenle sağlıklı kontrol, hastalıklı kontrol ve tedavi grupları, arjinaz aktiviteleri, üre ve ornitin düzeyleri açısından Tamhane

Tablo 1. Beyin dokusu arjinaz enzim aktiviteleri (U/mg protein), ornitin (nmol/mg protein) ve üre (µmol/ml) düzeyleri

Gruplar	Arjinaz (Ort±SS)	Ornitin (Ort±SS)	Üre (Ort±SS)
Grup 1 Sağlıklı kontrol	46.87±19.57	154.22±12.35	0.32±0.04
Grup 2 Alkol grubu	26.94±12.41	113.84±15.68	0.22±0.08
Grup 3 C vitamini	106.38±21.14	174.39±37.14	0.41±0.09
Grup 4 E vitamini	78.19±35.49	213.43±17.45	0.38±0.07
Grup 5 C+E vitamini	101.58±20.06	227.60±43.24	0.38±0.04

SS: Standart sapma.

T₂ testi ile karşılaştırıldı. Sonuçlar ortalama±SS olarak ifade edildi. Elde edilen p değerleri 0.05'ten küçük ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Tüm sıçanların çalışma öncesi ve sonrası kiloları ölçüldü. Ağırlık ölçümlerine bakıldığında 20 hafta sonunda tüm grupların kilo aldığı, ancak sağlıklı kontrol grubu ile tedavi grupları arasında kilo alımı açısından anlamlı bir fark bulunmadığı gözlemlendi (p>0.05).

Sağlıklı kontrol, hastalıklı kontrol ve tedavi gruplarının arjinaz enzim aktivitesi, ornitin ve üre değerleri arasında MANOVA'ya göre anlamlı düzeyde farklılıklar bulundu (Şekil 1, 2, 3).

Beyin dokusu arjinaz enzim aktiviteleri, ornitin ve üre düzeyleri Tablo 1'de, kontrol ve tedavi grupları arasındaki çoklu karşılaştırmalar ise Tablo 2'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Alkol, psikostimülan ve anksiyolitik etkileri nedeniyle yaygın olarak kullanılan bir maddedir. Alkolün düşünce, yargılama, istemli motor hareketler, uyku ritmi, gastrointestinal, kardiyak, hematolojik ve nörolojik sistemler başta olmak üzere hemen hemen tüm vücut sistemleri üzerine etkisi vardır. Kronik alkol tüketimi ve alkol bağımlılığı dünya çapında en önemli sosyoekonomik ve sağlık sorunlarından biridir. Gerek alkol kullanımı sonucu gelişen serebral atrofiye yanıt olarak eksitator iletimin artması, gerekse lipid peroksidasyonunun artması beyinde oksidatif strese neden olmaktadır.^[20,21] Yapılan araştırmalar, kronik alkol alımında ortamda redukte oksijen birikiminin alkolün beyin üzerin-

deki hasarına aracı olabileceğini ortaya koymuştur.^[21,22]

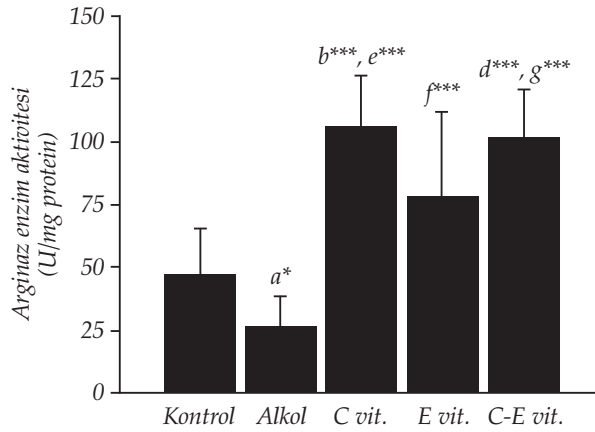
Nitrik oksit, periferde olduğu kadar santral sinir sisteminde de önemli biyolojik aktivitesi olan çok kısa ömürlü serbest radikal bir gazdır.^[9] Fizyolojik olarak gerekli olduğu gibi yüksek konsantrasyonlarda serbest oksijen radikalleri ile peroksinitritlere dönüşerek patolojik durumlara neden olabilir. Etil alkol ve NO düzeyleri arasındaki etkileşimi inceleyen çeşitli çalışmalarda, kronik olarak alkol verilmesinin NO oluşumunu stimüle ettiği ve aşırı NO oluşmasının serbest radikal etki yaparak beyin dokusunda çeşitli hasarlar oluşturabileceği vurgulanmıştır.^[12,13] Bazı çalışmalar ise kronik olarak alkol kullanımının beyinde eksitator iletimi ve NMDA gibi eksitator aminoasit reseptörlerinin sayısını artırdığını göstermiştir.^[14] Kronik etanol kullanımında glutamat artışına cevap olarak NMDA reseptörlerinde de artış olabileceği,^[23] artan glutamat düzeylerinin NMDA reseptörle-

Tablo 2. Kontrol, alkol ve tedavi grupları arjinaz enzim aktiviteleri, ornitin ve üre düzeylerinin karşılaştırılması (p)

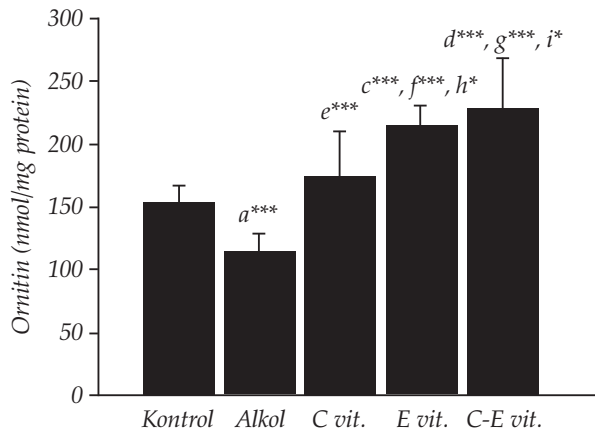
Grup	Arjinaz	Ornitin	Üre
Kontrol-Alkol	0.037	<0.001	0.966
Kontrol-C vitamini	<0.001	0.477	0.038
Kontrol-E vitamini	0.086	<0.001	0.354
Kontrol-C+E vitamini	<0.001	<0.001	0.042
Alkol-C vitamini	<0.001	<0.001	0.314
Alkol-E vitamini	<0.001	<0.001	0.950
Alkol-C+E vitamini	<0.001	<0.001	0.833
C vit.-E vitamini	0.163	0.015	0.791
C vit.-C+E vitamini	1.000	0.015	0.914
E vit.-C+E vitamini	0.362	0.958	1.000

rini uyararak hücre içi kalsiyum artışına, hücre içi Ca^{++} artışının da NOS enzim aktivasyonuna, dolayısıyla NO üretiminin artmasına neden olabileceği ileri sürülmüştür.^[14,15,24]

Arjinaz enzimi de, NOS gibi, L-arjinini substrat olarak kullanarak üre ve ornitin oluşumunu sağlayan bir enzimdir.^[5] Çeşitli dokularda yapılan birçok çalışmada L-arjinin için NOS ve arjinaz enzimleri arasında bir yarışmanın söz konusu olduğu ileri sürülmüştür.^[25,26] Nitrik oksit üretim kapasitesi hücre içi L-arjinin konsantrasyonuna bağlıdır. Arjinaz enziminin hücre içi L-arjinin için NOS enzimi ile yarışarak NO üretimini regüle ettiği çeşitli çalışmalarla gösteril-



Şekil 1. Beyin dokusu arjinaz enzim aktiviteleri. Karşılaştırmalar; a) Kontrol-Alkol, b) Kontrol-C vitamini, c) Kontrol-E vitamini, d) Kontrol-C+E vitamini, e) Alkol-C vitamini, f) Alkol-E vitamini, g) Alkol-C+E vitamini, h) C vit.-E vitamini, i) C vit.-C+E vitamini. * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$; Vit: Vitamin.

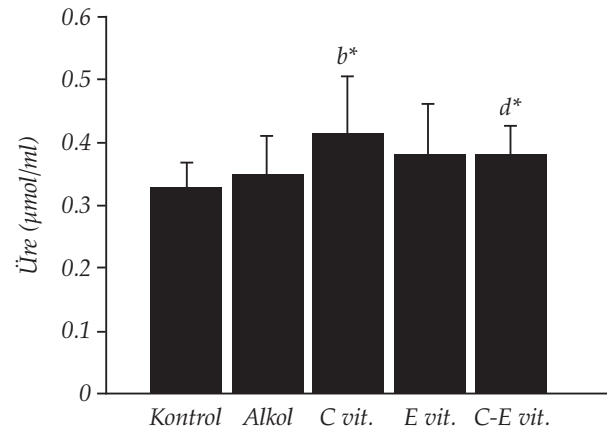


Şekil 2. Beyin dokusu ornitin düzeyleri. Karşılaştırmalar; a) Kontrol-Alkol, b) Kontrol-C vitamini, c) Kontrol-E vitamini, d) Kontrol-C+E vitamini, e) Alkol-C vitamini, f) Alkol-E vitamini, g) Alkol-C+E vitamini, h) C vit.-E vitamini, i) C vit.-C+E vitamini. * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$; Vit: Vitamin.

miştir.^[27,28] Bu çalışmalarda her iki enzimden birinin arttığı durumda diğerinin azalması dikkat çekicidir. Benzer şekilde, böbrekler üzerinde deneysel olarak oluşturulan glomerülonefrit olgularında, glomerüllerde arjinaz enzim aktivitesi artarken, NO düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir.^[26] Erbaş ve ark.nun^[29] yaptığı bir çalışmada ise oluşturulan renal iskemi-reperfüzyon modelinde arjinaz enzim aktivitesi kontrol grubuna göre düşük bulunmuş, antioksidan bir molekül olan N-asetilsistein verilmesiyle arjinaz enzim aktivitesinde artış olurken NO düzeyleri azalmıştır.

Diğer yandan, kronik alkol kullanımının beyindeki önemli üç endojen antioksidan molekülün (α -tokoferol, askorbik asit ve glutatyon) düzeylerinde de azalmaya neden olduğu bildirilmiştir.^[30] Başka bir çalışmada plazma α -tokoferol, askorbik asite ek olarak selenyum düzeylerinin de anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir.^[31] C ve E vitaminleri antioksidan etkileri nedeniyle yaygın olarak kullanılan vitaminlerdir. Glukokortikoid kullanılarak stres oluşturulan sıçanlarda diyetle alınan E vitamininin çeşitli dokulardaki arjinaz enzime etkisi incelenmiş, yüksek doz glukokortikoid alan sıçanların karaciğer, böbrek ve kalp dokularında arjinaz enziminin azaldığı, E vitamini verilen tedavi grubunda ise arttığı gözlenmiştir.^[32]

Bu çalışmada, kronik olarak alkolle beslenen hayvanlarda arjinaz enzim aktivitesinin anlamlı



Şekil 3. Beyin dokusu üre düzeyleri. Karşılaştırmalar; a) Kontrol-Alkol, b) Kontrol-C vitamini, c) Kontrol-E vitamini, d) Kontrol-C+E vitamini, e) Alkol-C vitamini, f) Alkol-E vitamini, g) Alkol-C+E vitamini, h) C vit.-E vitamini, i) C vit.-C+E vitamini. * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$; Vit: Vitamin.

olarak düştüğü gözlenmiştir ($p < 0,05$). Kronik alkol kullanımında beyinde NOS ve dolayısıyla NO sentezinin arttığı ve alkol kullanımının beyindeki zararlı etkilerinden NO'nun sorumlu olabileceği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.^[14,15,24] Bizim çalışmamızda da saptanan alkol gruplarındaki düşük arjinaz enzim aktivitesi, NOS aktivitesinde bir artışla beraber yolağın NO yönüne kayması şeklindeki hipotezi desteklemektedir. C ve E vitaminlerinin kullanımı ise arjinaz enzim aktivitesinin artmasına, dolayısıyla NOS aktivitesinin baskılanarak yolağın arjinaz enzimi yönüne kaymasına yol açmış olabilir. Böylece hem aşırı üretildiğinde serbest radikal etkisi ortaya çıkan NO üretimi azalmış, hem de nöron koruyucu etkileri olduğu gösterilen poliaminlerin yapımı aktive edilmiş olmaktadır.^[33] Tedavi grupları arjinaz aktiviteleri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise sadece C ve E vitamini verilen grup ile C ve E vitaminlerinin birlikte verildiği gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. C ve E vitaminlerinin birlikte verilmesi arjinaz enzim aktivitesi üzerinde herhangi bir sinerjik etki yapmamıştır.

Yine alkol grubu ornitin düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). Tedavi gruplarındaki arjinaz aktivitesindeki artışa bağlı olarak, ornitin düzeylerinin artışı antioksidan vitaminlerin, yolağı ornitin sentezi yönüne çevirerek poliamin sentezini artırdığı düşüncesini desteklemektedir. Artan arjinaz aktivitesine bağlı olarak, istatistiksel anlamlılıkla olmasa da, artan üre düzeyleri hipotezimizi destekleyen diğer bir unsur olarak değerlendirilmektedir.

Sonuç olarak, kronik alkol kullanımında arttığı bilinen NOS'nin, L-arjinin havuzunun tükenmesine yol açarak arjinaz enzim aktivitesinde azalmaya neden olabileceği, antioksidan vitaminler olarak C ve E vitaminlerinin kullanımının, oksidatif stresi azaltıp arjinaz/NOS yolağını arjinaz lehine çevirebileceği ve olumsuz etkileri bilinen NO üretiminin azalmasını söz konusu olabileceği düşünülmektedir. Aynı anda üretimi artan poliaminler bu olumlu etkiyi daha da artırabilecektir. Alkolün yarattığı olumsuz etkiler üzerinde C ve E vitaminlerinin olası koruyucu etkileri bu mekanizma üzerinden olabi-

lir. Dolayısıyla kronik alkol kullanımında bu vitaminlerin koruyucu etkilerinden yararlanılabilir.

KAYNAKLAR

1. Masoero E, Frattini P, Favalli L, Rozza A, Scelsi R, Govoni S. Effect of acute alcohol on ischemia-induced glutamate release and brain damage. *Alcohol* 2000;22:173-7.
2. Bleich S, Degner D, Javaheripour K, Kurth C, Kornhuber J. Homocysteine and alcoholism. *J Neural Transm Suppl* 2000;(60):187-96.
3. Özbakiş G. Akut alkol intoksikasyonu ve tedavisi. *Sendrom* 1998;6:96-100.
4. Jenkinson CP, Grody WW, Cederbaum SD. Comparative properties of arginases. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 1996;114:107-32.
5. Rodwell VW. Catabolism of proteins and amino acid metabolism. In: Murray RK, Granner DK, Mayer PA, Rodwell VW, editors. *Harper's biochemistry*. 23th ed. Norwalk: Appleton and Lange; 1993. p. 293-302.
6. Que LG, Kantrow SP, Jenkinson CP, Piantadosi CA, Huang YC. Induction of arginase isoforms in the lung during hyperoxia. *Am J Physiol* 1998;275(1 Pt 1):L96-102.
7. Efron DT, Barbul A. Arginine and nutrition in renal disease. *J Ren Nutr* 1999;9:142-4.
8. Wiesinger H. Arginine metabolism and the synthesis of nitric oxide in the nervous system. *Prog Neurobiol* 2001;64:365-91.
9. Pou S, Pou WS, Brecht DS, Snyder SH, Rosen GM. Generation of superoxide by purified brain nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 1992;267:24173-6.
10. Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J* 1999;13:1007-24.
11. Brigelius-Flohe R, Traber MG. Vitamin E: function and metabolism. *FASEB J* 1999;13:1145-55.
12. Cheeseman KH. Mechanisms and effects of lipid peroxidation. *Mol Aspects Med* 1993;14:191-7.
13. Uzbay IT, Grewal JS, Wallis CJ, Dungan LF, Lal H. Nitric oxide synthase inhibition attenuates saccharin or ethanol reinforced responding in Long-Ewans rats. *Prog Neuropsychopharmacol & Biol Psychiat* 1998;22:1411-23.
14. Suresh MV, Sreeranjit Kumar CV, Lal JJ, Indira M. Impact of massive ascorbic acid supplementation on alcohol induced oxidative stress in guinea pigs. *Toxicol Lett* 1999;104:221-9.
15. Uzbay IT, Oglesby MW. Nitric oxide and substance dependence. *Neurosci Biobehav Rev* 2001;25:43-52.
16. Motoliu C, Hermenegildo C, Llansola M, Monfort M, Felipe V. Hyperammonemia impairs glutamate-nitric oxide-cGMP pathway in neurons and in rat brain in vivo. In: Yurdaydm C, Bozkaya H, editors. *Advances in hepatic encephalopathy and metabolism in liver disease*. Ankara: Ankara University Press; 1999.
17. Geyer JW, Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Anal Biochem* 1971;39:412-7.

18. Chinard FP. Photometric estimation of proline and ornithine. *J Biol Chem* 1952;199:91-5.
19. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-75.
20. Tsai GE, Ragan P, Chang R, Chen S, Linnoila VM, Coyle JT. Increased glutamatergic neurotransmission and oxidative stress after alcohol withdrawal. *Am J Psychiatry* 1998;155:726-32.
21. Calabrese V, Scapagnini G, Latteri S, Colombrita C, Ravagna A, Catalano C, et al. Long-term ethanol administration enhances age-dependent modulation of redox state in different brain regions in the rat: protection by acetyl carnitine. *Int J Tissue React* 2002;24:97-104.
22. Zima T, Fialova L, Mestek O, Janebova M, Crkovska J, Malbohan I, et al. Oxidative stress, metabolism of ethanol and alcohol-related diseases. *J Biomed Sci* 2001;8:59-70.
23. Dodd PR, Beckmann AM, Davidson MS, Wilce PA. Glutamate-mediated transmission, alcohol, and alcoholism. *Neurochem Int* 2000;37:509-33.
24. Lancaster FE. Alcohol and the brain: what's NO got to do with it? *Metab Brain Dis* 1995;10:125-33.
25. Cook HT, Jansen A, Lewis S, Largen P, O'Donnell M, Reaveley D, et al. Arginine metabolism in experimental glomerulonephritis: interaction between nitric oxide synthase and arginase. *Am J Physiol* 1994;267(4 Pt 2):F646-53.
26. Ishii N, Ikenaga H, Carmines PK, Aoki Y, Ogawa Z, Saruta T, et al. High glucose augments arginase activity and nitric oxide production in the renal cortex. *Metabolism* 2004;53:868-74.
27. Kim NN, Christianson DW, Traish AM. Role of arginase in the male and female sexual arousal response. *J Nutr* 2004;134(10 Suppl):2873-9.
28. Mori M, Gotoh T. Arginine metabolic enzymes, nitric oxide and infection. *J Nutr* 2004;134(10 Suppl):2820-5.
29. Erbas H, Aydogdu N, Kaymak K. Effects of N-acetylcysteine on arginase, ornithine and nitric oxide in renal ischemia-reperfusion injury. *Pharmacol Res* 2004;50:523-7.
30. Nordmann R. Oxidative stress from alcohol in the brain. *Alcohol Alcohol Suppl* 1987;1:75-82.
31. Lecomte E, Herbeth B, Pirollet P, Chancerelle Y, Arnaud J, Musse N, et al. Effect of alcohol consumption on blood antioxidant nutrients and oxidative stress indicators. *Am J Clin Nutr* 1994;60:255-61.
32. Erisir M, Beytut E, Ozan S, Aksakal M. Effects of dietary vitamin E and selenium on arginase activity in the liver, kidneys, and heart of rats treated with high doses of glucocorticoid. *Cell Biochem Funct* 2003;21:331-5.
33. Clarkson AN, Liu H, Pearson L, Kapoor M, Harrison JC, Sammut IA, et al. Neuroprotective effects of spermine following hypoxic-ischemic-induced brain damage: a mechanistic study. *FASEB J* 2004;18:1114-6.