

PREDTRETMAN ČEŠNJAKOVIM ULJEM SMANJUJE OŠTEĆENJE NASTALO DJELOVANJEM NaT-a U AGS MODELU ULKUSNE BOLESTI

PRETREATMENT OF GARLIC OIL REDUCES DAMAGE CAUSED BY NaT IN AGS MODEL OF ULCER DISEASE

Kuna L^{1,2}, Smolić R^{1,2}, Smolić M^{1,2}, Kizivat T², Zjalić M², Ninčević V^{1,2}, Roguljić H^{1,2}, Vukadin S^{1,2}, Omanović Kolarić T^{1,2}, Včev A^{1,2}

¹Fakultet za Dentalnu medicinu i zdravstvo Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska

² Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, Hrvatska

13th International Scientific
and Professional Conference
WITH FOOD TO HEALTH
16th and 17th September 2021

13th hranom
do zdravlja
with food
to health
OSIJEK, CROATIA 2021

Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku
FAKULTET ZA DENTALNU
MEDICINU I ZDRAVSTVO

MF

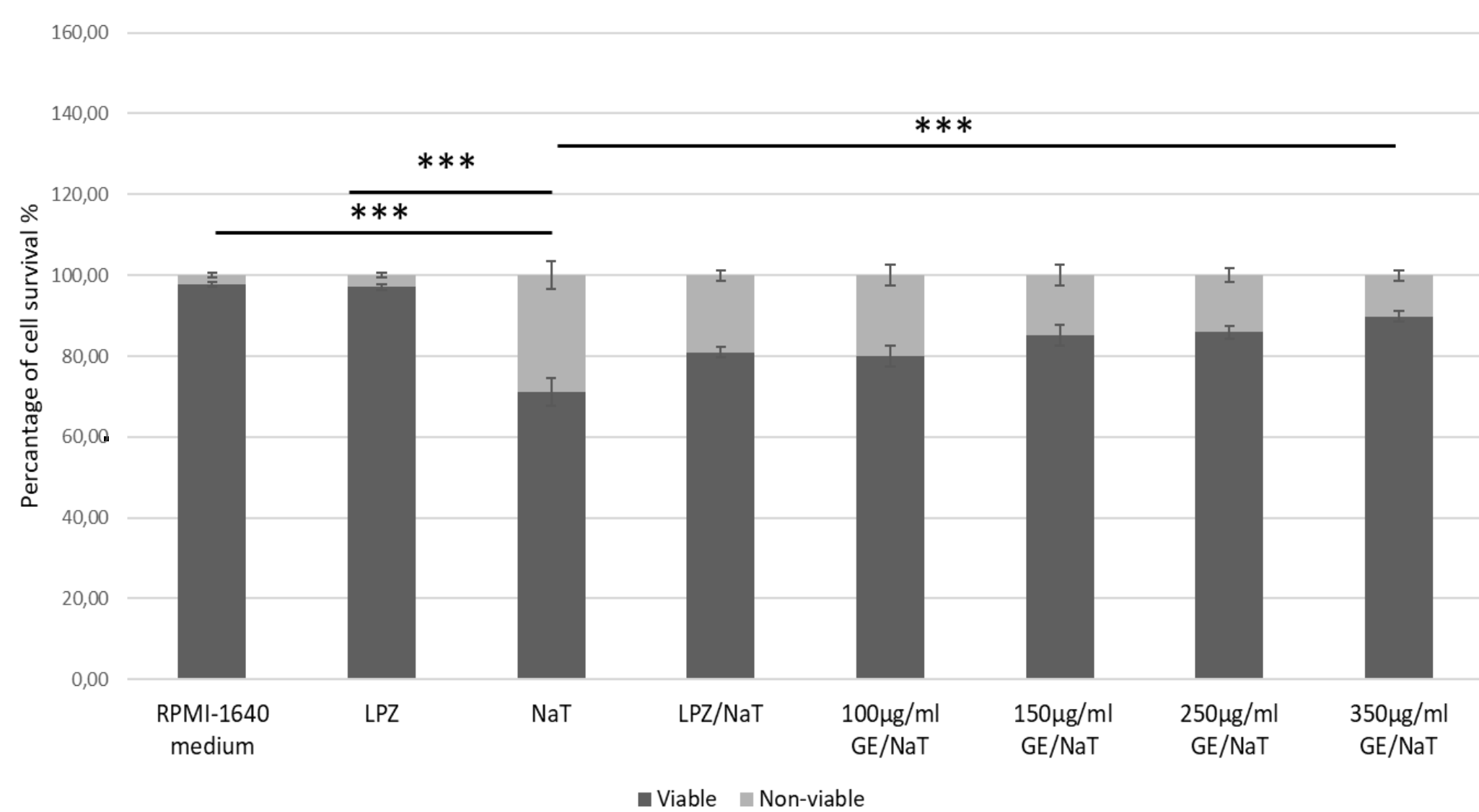
UVOD

Češnjak (*Allium sativum*) ima malo kalorija, bogat je vitaminom C, vitaminom B6 i manganom, te sadrži količine različitih hranjivih sastojaka u tragovima. Brojne studije su pokazale kako smanjuje veličinu čira na želucu, ukupnu kiselost te količinu želučanog soka. Cilj našeg istraživanja bio je smanjiti oksidativno oštećenje nastalo primjenom žučne soli (NaT-a) u ljudskoj želučanoj staničnoj liniji (AGS) uz primjenu inhibitora protonske pumpe lansoprazola (LPZ) te antikoksidativnim djelovanjem ekstrakata češnjakova ulja.

MATERIJALI I METODE

Ljudska želučana gastrična stanična linija (AGS) (ATCC, Njemačka) korištena je za uspostavu modela ulkusne bolesti izlaganjem natrijevom taurokolatu (NaT) (Sigma Aldrich, SAD). Tretman 4mM NaT-om u trajanju od 1h uzrokuje 50% staničnog preživljenja. Kako bi se spriječio oksidativni stres, AGS stanice su tretirane rastućim koncentracijama češnjakovih ekstrakata; 100, 150, 250 i 350 µg/ml. Češnjakovo ulje otopljeno je u odgovarajućim koncentracijama u 6% goveđem serumskom albuminu (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) te homogenizirano ultrazvučnim homogenizatorom (Bandelin Sonoplus 2070) 15 sekundi. Stupanj citotoksičnosti i apoptoze određen je brojanjem stanica pomoću Neubauerovog hemocitometra i Trypan plave boje. Gastroprotektivni učinak ekstrakata češnjaka procijenjen je ekspresijom superoksid dismutaze (SOD) i Nuclear Factor Kappa B Subunit 2 (NFKB2) RT PCR metodom (Qiagen, Hilden, Njemačka). Koncentracija glutationa (GSH) i prostaglandina (PGE2) određena je uporabom komercijalno dostupnih ELISA kitova (Glutathione Assay Kit, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, SAD) i (PGE2 Assay Kit, Elabscience, Houston, Texas, USA), prema protokolu proizvođača.

REZULTATI

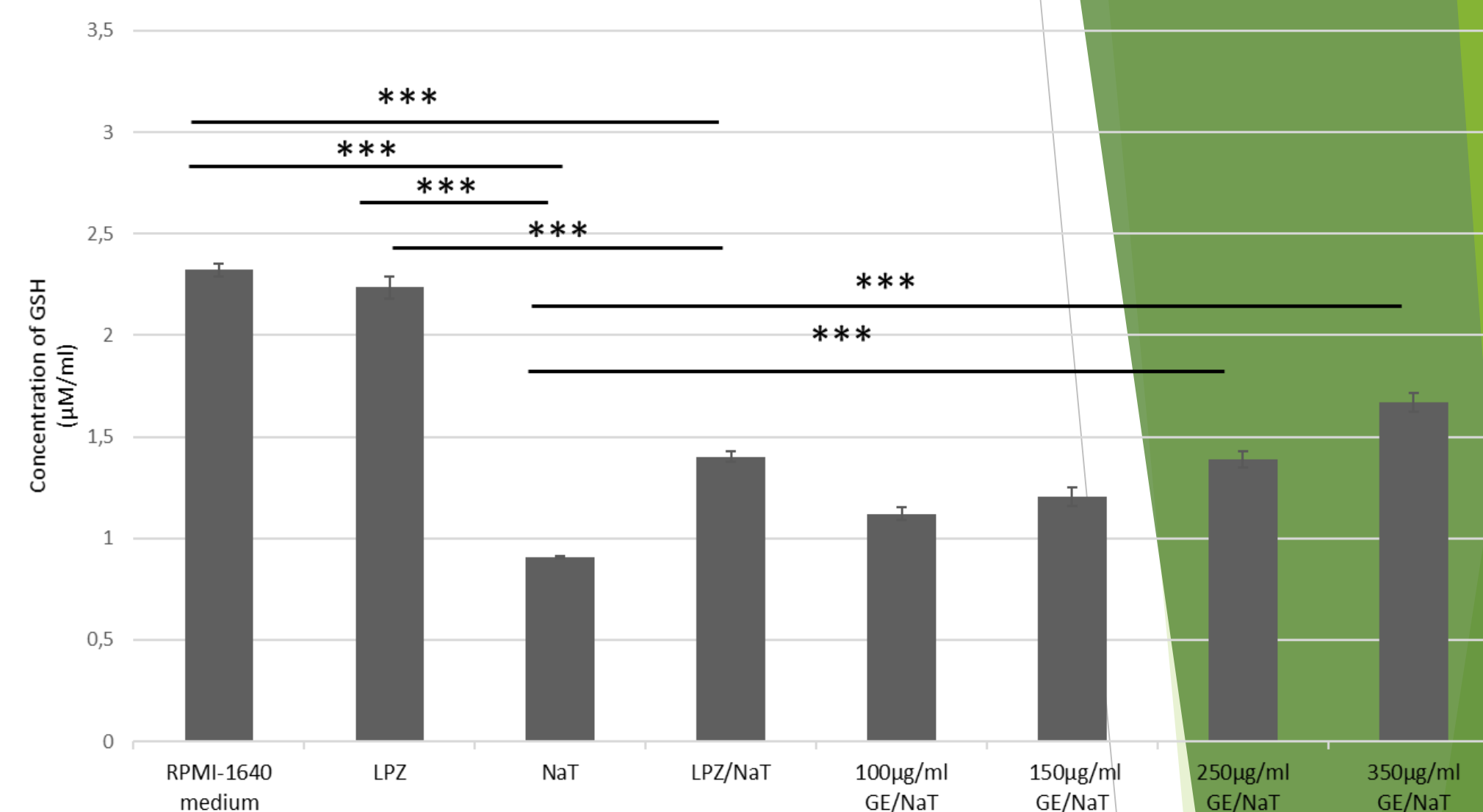


Slika 1. Učinci češnjakovih ekstrakata na proliferaciju i apoptozu AGS modelu ulkusne bolesti. Stanično preživljenje određeno je brojanjem stanica pomoću Neubauerovog hemocitometra uporabom Trypan plave boje. One way ANOVA F(7,23)=19.78; p=9.26 × 10⁻⁷; post hoc Tukey HSD. Vrijednosti su predstavljene kao srednja vrijednost ± SD. Stupci označeni zvjezdicom (***) znače statistički značajnu razliku (p<0.001). Prikazani rezultati ponovljeni su tri puta u triplikatu.

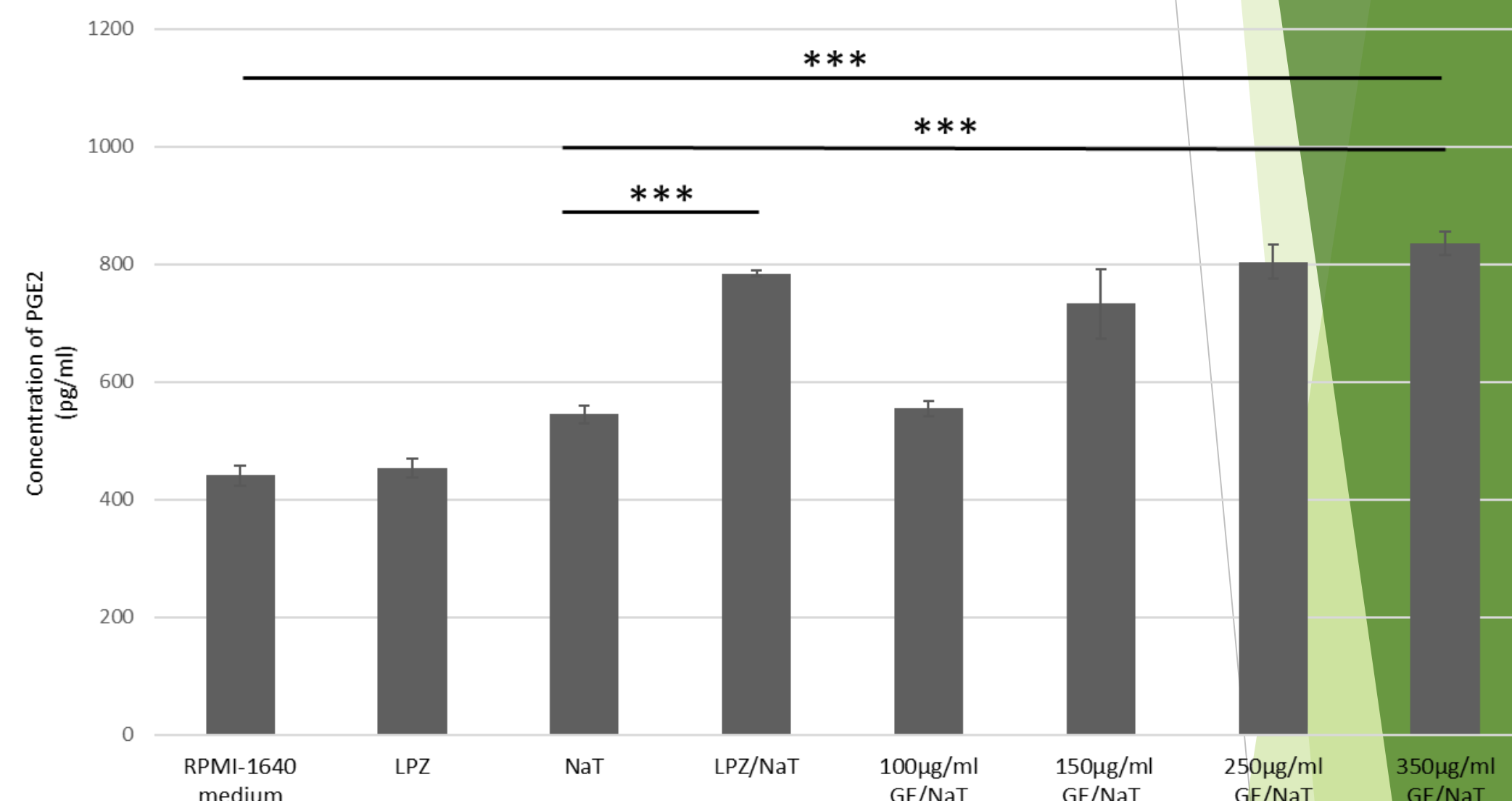
Stanice prethodno tretirane LPZ-om i češnjakovim uljem pokazale su značajno preživljenje u usporedbi s odgovarajućom kontrolom (p<0.001). Predtretman uljem češnjaka povećava proizvodnju PGE2 i suzbija iscrpljivanje GSH (p<0.001). Tretman stanica NaT-om smanjuje ekspresiju SOD-a te NFKB2-a, dok je kod predtretmana uljem češnjaka i LPZ-om dokazana pozitivna korelacija (p<0.001).

ZAKLJUČAK

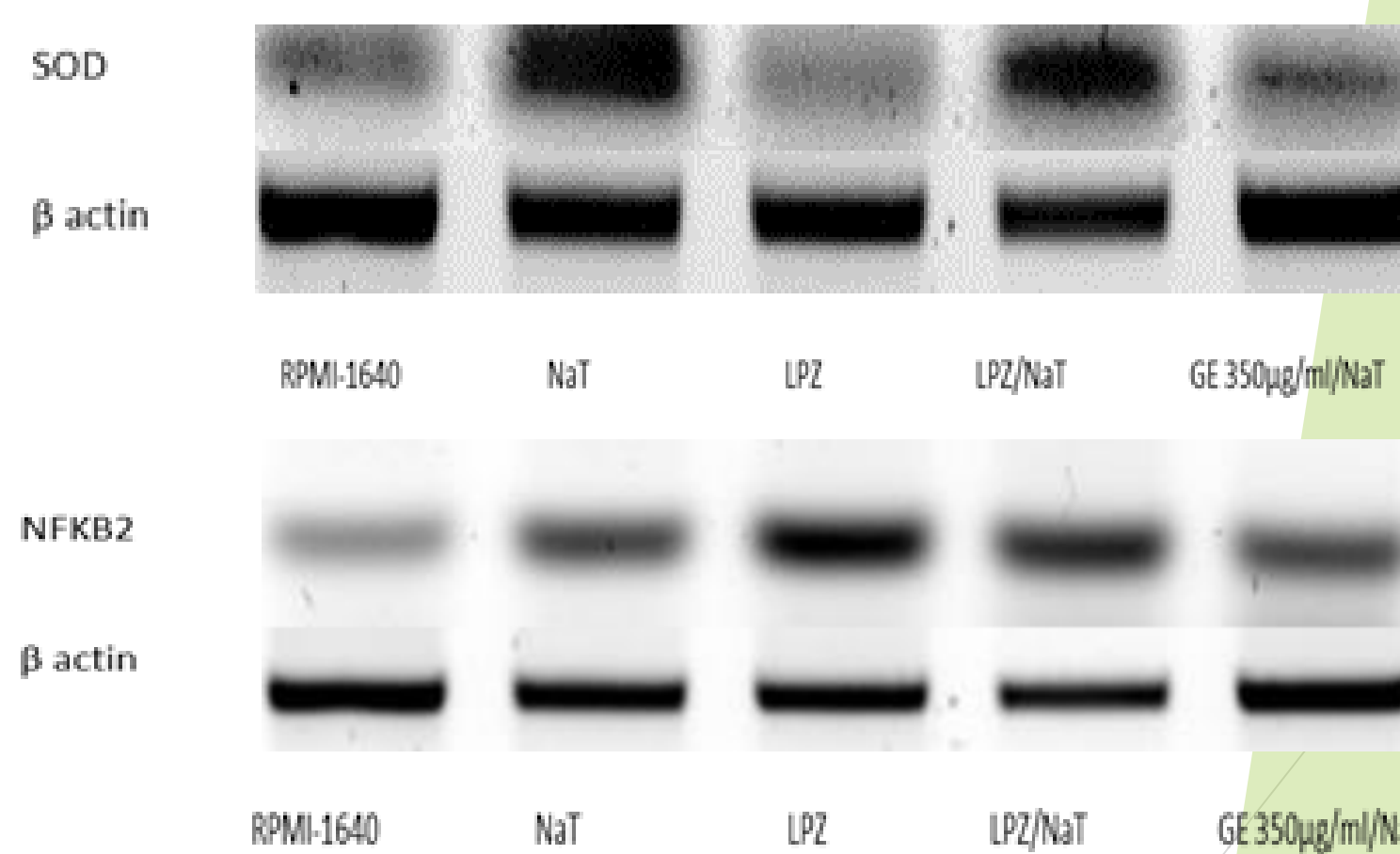
Predtretman češnjakovim uljem pokazao je gastroprotektivni učinak, premda su potrebni daljnji eksperimenti kako bi se u potpunosti rasvijetlila njegova zaštitna uloga u ulkusnoj bolesti.



Slika 2. Učinci predtretmana češnjakovih ekstrakata na razinu GSH u AGS modelu ulkusne bolesti. GSH mjerenja provedena su spektrofotometrijom na 415 nm. One way ANOVA F (7,23) = 72,99; p = 5,99 × 10⁻¹¹; post hoc Tukey HSD. Vrijednosti su predstavljene u mikromolima po mililitru kao prosjek sa standardnom devijacijom ± SD. Stupci označeni zvjezdicom (***) znače statistički značajnu razliku (p<0.001). Prikazani rezultati ponovljeni su tri puta u triplikatu.



Slika 3. Učinci predtretmana GE na razine PGE2 u AGS staničnoj liniji. Mjerenja PGE2 provedena su spektrofotometrijom na 450 nm. One way ANOVA F (7,23) = 187,1; p = 3,98 × 10⁻¹⁴; post hoc Tukey HSD. Vrijednosti su predstavljene u pikogramima po mililitru kao prosjek sa standardnom devijacijom ± SD. Stupci označeni zvjezdicom (***) znače statistički značajnu razliku (p<0.001). Prikazani rezultati ponovljeni su tri puta u triplikatu.



Slika 4. Učinci predtretmana češnjakovih ekstrakata na ekspresiju SOD i NFKB2 gena u AGS modelu ulkusne bolesti. Reprezentativna slika Southern blot analize ekspresije SOD i NFKB2 gena uspoređena sa ekspresijom gena za β aktin. Analiza ekspresije gena provedena je RT-PCR-om, a dobiveni rezultati su semikvantificirani ImageJ softver pomoću QuantIF ImageJ macro.