

**T.C.
MALTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİM DALI**

**DeneySEL Gastroözofageal Reflü Oluşturulan Ratlarda; Whey Proteinleri ile
Zenginleştirilmiş Beslenmenin Reflü Özofajit Gelişimine Etkisinin
Biyokimyasal ve Patolojik Olarak Gösterilmesi**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Melda OLTULU CANBAZ

Danışman

Doç. Dr. Manuk Norayk MANUKYAN

**İSTANBUL
2013**

TEŞEKKÜR

Bana cerrahi sanatını öğreten değerli hocam; Maltepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Abut KEBUDİ'ye, uzmanlık eğitimim süresince mesleki bilgi ve deneyimimi arttırmamda büyük destek gördüğüm, değerli tez danışmanım Doç. Dr. Manuk MANUKYAN'a, tecrübeleriyle ve ilgisiyle her zaman yanımda olan Yrd. Doç. Dr. Uğur DEVECİ'ye, değerli asistan arkadaşım Dr. Kağan GÖKÇE'ye, tez çalışmam sırasında desteklerini esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. Ahmet MİDİ ve Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Aynur Eren TOPKAYA'ya, tüm sağlık personeline ve sevgili eşim Prof. Dr. Suat CANBAZ'a teşekkür ederim.

Dr. Melda OLTULU CANBAZ

İSTANBUL - 2013

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iii
TÜRKÇE ÖZET	iv
İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)	vi
GİRİŞ ve AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	2
MATERYAL ve METOD	21
SONUÇLAR	29
TARTIŞMA	44
KAYNAKLAR	49
EKLER	55

KISALTMALAR

Aİ: Apoptotik indeks

ALT: Serum glutamik pirüvik transaminaz

AST: Serum glutamik okzaloasetik transaminaz

AÖS: Alt özofageal sfinkter

GÖR: Gastroözofageal reflü

GÖRH: Gastroözofageal reflü hastalığı

GSH: Glutatyon

GSSG: Okside glutatyon

HCO_3^- : Bikarbonat

HE: Hematoksilen-eozin

H_2O_2 : Hidrojen peroksit

H_2RB : Histamin 2 reseptör blokeri

Ig: İmmunoglobulin

MDA: Malondialdehit

O_2^- : Süperoksit anyonu

PPI: Proton pompa inhibitörü

PBS: Tamponlanmış salin

SOD: Süperoksit dismutaz

SOR: Serbest oksijen radikalleri

SSP: Süt serum proteinleri

TBARS: Tiyobarbütirik asit reaktif maddeleri

ÖZET

Mide içeriğinin retrograd olarak özofagusa geçmesine gastroözofageal reflü denir. Gastroözofageal reflü hastalık olmayıp, fizyolojik bir olaydır. Pirozis, regürjitasyon ve yutma güçlüğü gibi klinik belirtilere, alt özofagusta erozyon, stenoz, ülser ve metaplastik epitel gibi komplikasyonlara yol açtığı zaman gastroözofageal reflü hastalığından bahsedilir. Gastroözofageal reflü hastalığı tedavisinde; yaşam düzeninde değişiklikler, antiasitler, proton pompa inhibitörleri, histamin 2 reseptör blokerleri gibi medikal tedaviler ve ileri evrelerde ise Nissen fundoplikasyonu gibi çeşitli cerrahi girişim seçenekleri bulunmaktadır.

Çalışmamızda; gastroözofageal reflü ve takiben özofajit oluşturduğumuz deneysel modelde; yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri ve antioksidan etkinliği bulunan whey proteinlerinin yararlarını göstermeyi amaçladık. Bu amaçla ratlarda mide fundusunun ligasyonu ve pilorun parsiyel daraltılması şeklinde sıklıkla yapılan bir reflü modeli kullandık.

Deneysel çalışmamızda; 32 Winstar-albino cinsi rat randomize olarak eşit sayıda (n: 8) 4 gruba ayrıldı; 1. gruba laparotomi yapıp, reflü oluşturmadan standart yem verildi; 2. grup reflü modeli oluşturulmasını takiben standart yemle beslendi; 3. grup ise aynı şekilde reflü modeli oluşturulmasını takiben whey proteini ile beslendi. 4. grup ise laparotomi yapılmaksızın whey proteini ile 3 hafta süresince beslendi. Deney sonunda kan örnekleri ve özofagus ½ distal kısmı ile mide girişinden oluşan doku örnekleri histopatolojik ve biyokimyasal inceleme için alındı.

Özofagus distal kısmının ve mide girişinin histopatolojik incelemesinde; reflü oluşturulan gruplara ait özofagus ve mide preparatlarında, kontrol gruplarına göre özofajiti ve gastriti destekleyen bulgular gözlenmiş olup, reflü oluşturulması sonrası standart yemle beslenen gruba kıyasla, whey proteinle beslenen grupta doku hasarının daha az olduğunu saptadık. Ayrıca, dokuların biyokimyasal analizinde; reflü oluşturulan gruplardaki özofagusun oksidatif hasarının göstergeleri olan MDA ve katalaz düzeyleri diğer iki kontrol grubu hayvanlarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gösterdi. Yüksek MDA ve katalaz düzeyi, çalıştığımız dokularda belirgin bir inflamasyon ve hasar olduğunu göstermektedir. Reflü oluşturulan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında ise; whey proteini ile beslenen grubun MDA ve katalaz düzeylerinin, standart yemle beslenen grubun aksine daha düşük kaldığı saptandı. Yani whey proteini ile beslenen ratlarda antioksidan etkinliğin artmış olduğunu saptadık. Kan serumunun biyokimyasal analizinde reflü oluşturulan gruplarda laktat

düzeyi belirgin artış gösterdi. Reflü oluşturulan grup 2 ve grup 3 karşılaştırıldığında ise whey proteini ile beslenen ratların serum laktat düzeyleri anlamlı farklılık göstermedi.

Histopatolojik ve biyokimyasal sonuçlarımız; genel olarak, whey proteinleri ile beslenmenin doku inflamasyonunu ve özofajit gelişimini azaltıcı etkileri olduğunu göstermiştir. Serbest oksijen radikallerini, reflü özofajit gelişimde en önemli mediyatörler olarak gösteren çeşitli literatür bilgileri ışığında, whey proteinlerinin yüksek antioksidan etkinliğinin doku hasarını azalttığı ve yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri olduğunu göstermiş olduk. Sonuç olarak; antireflü tedavide kullanılan, medikal tedavi seçeneklerinden biri olan antisekretuar tedavinin yanında, antioksidan ilaçların da kullanımının yararlı olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: gastroözofageal reflü, gastroözofageal reflü hastalığı, özofajit, whey proteini, antioksidan.

SUMMARY

Gastroesophageal reflux is defined as the retrograde movement of the stomach content back to the esophagus. Gastroesophageal reflux is not a disease, it is a physiological event. When clinical symptoms, such as difficulty in swallowing, heartburn, regurgitation and complications such as the lower esophageal erosion, stenosis, ulcers and metaplastic epithelium develops; gastroesophageal reflux disease is mentioned. In treatment of gastroesophageal reflux disease; medical treatment, changes in the lifestyle, intake of antiacids, histamine 2 receptor blockers, proton pump inhibitors and, several surgical operations such as Nissen fundoplication are used in advanced stage.

In our study, gastroesophageal reflux was surgically created, gastric fundus ligation and partial narrowing of pylor was used as a model. Positive effects of whey protein on wound healing and antioxidant activity was detected by various laboratory parameters.

In our study; 32 Winstar-albino rats was randomised into 4 groups (n: 8). Rats in the first and second groups were normally feed and a simple laparotomy for the first and a reflux procedure was performed for the second group, rats in the third group were feed by enriched whey protein and reflux procedure was performed and, rats in the fourth group were feed by enriched whey protein alone during 3 weeks. At the end of the procedure, blood samples and distal portion of the esophagus and proximal portion of the stomach were withdrawn for histopathological and biochemical investigation.

In histopathological investigation of distal portion of the esophagus and proximal portion of the stomach; esophagitis and gastritis were observed in groups 2 and 3, compared to groups 1 and 4. We detected less tissue damage in group 3 compared to group 2. Also, in the biochemical analysis, MDA and catalase levels in groups 2 and 3 were increased significantly compared to groups 1 and 4.

When the groups 2 and 3 were compared, MDA and catalase levels were decreased in the whey protein group. Thus, we obtained an increased activity of antioxidant status in rats feed by enriched whey protein. Lactate level was significantly increased in groups 2 and 3.

Generally, our histopathological and biochemical results demonstrates that feeding by whey protein is positively effective on reflux models condition and diminishes esophagitis. In the literature; free oxygen radicals are most important mediators on development of reflux esophagitis, we demonstrated that the high antioxidant capacity of whey proteins decrease the

tissue injury and facilitate the recovery. As a results; we suppose that antioxidant drugs are also useful in reflux esophagitis treatment, as well as anti-secretory treatment.

Key Words: gastroesophageal reflux, gastroesophageal reflux disease, esophagitis, whey protein, antioxidant.

GİRİŞ ve AMAÇ

Mide içeriğinin retrograd olarak özofagusa geçmesi gastroözofageal reflü (GÖR) olarak adlandırılır. Gastroözofageal reflü hastalığı (GÖRH); GÖR epizodları sonucu oluşan klinik, histopatolojik, radyolojik, endoskopik değişikliklerdir. Bu epizodların özofagusta oluşturduğu, endoskopik olarak saptanan inflamasyona özofajit denilmektedir.

Özofajitin 2 temel tedavi yöntemi bulunmaktadır. Bunlar; erken evrelerde kullanılan diyet, yaşam tarzı değişikliği ve farmakolojik ajanlardan oluşan tıbbi tedavi ve ileri evrelerde ise çeşitli cerrahi girişimlerdir.

Yara iyileşmesi ve iskemi reperfüzyon hasarı üzerine kullanılan kimyasal ve farmakolojik ajanların arasında whey proteinleri de yer almaktadır. Bu deneysel çalışma ile; GÖR ve takiben özofajit oluşturulan rat modelinde, whey proteinleri ile zenginleştirilmiş beslenmenin yara iyileşmesi üzerine olan etkilerinin laboratuvar koşullarında gösterilmesi amaçlanmıştır. Kesilmiş sütün sıvı kısmı, süt serumu ya da peynir altı suyu; whey proteini olarak bilinir. Peynir altı suyunda çözünür halde bulunan proteinler ise süt serumu proteinleri (SSP) olarak adlandırılır. SSP; β -laktoglobulin, α -laktalbumin, serum albumin ve immunoglobulinlerden (Ig) oluşan biyoaktif bir protein karışımıdır. SSP, sütün diğer fraksiyonlarına göre daha fazla sistein içermektedir. SSP konsantreleri ile diyet yoluyla fazla miktarda alınan sistein, hücre içinde glutatyon (GSH) sentezini artırır. Bu sayede antioksidan savunma mekanizması daha etkin çalışır. Ortamda GSH miktarının artırılması ile dokularda oksidatif hasar azalmaktadır.

Bu çalışmada, kronik doku hasarı ve inflamasyon oluşturulması planlanarak, bu hasarla birlikte kullanılacak özel bir beslenme rejiminin doku inflamasyonu üzerine etkileri araştırıldı. Ratların kolay manüplasyonu, invaziv ve invaziv olmayan girişimlerin kolay uygulanması, maliyetinin, bakım ve barınmasının kolay olması denek olarak seçilmesinde rol oynamıştır.

GENEL BİLGİLER

ÖZOFAGUS ANATOMİSİ

Özofagus, boyu yaklaşık 25-30 cm olan, krikoid kıkırdak seviyesinde farinksin alt ucundan başlayıp, mediasten ve diyafragmayı geçtikten sonra, kardiya bölgesinde mide ile birleşen, dinamik, kaslar ve tübuler bir organdır. Servikal 6. omur hizasından başlayıp, torakal 10-11. omur hizasında mide ile birleşir. Özofagus; servikal, torasik ve abdominal olmak üzere üç bölümden oluşur.

Servikal Özofagus: Yaklaşık 5 cm uzunluğunda olup, trakea ve omurganın arasında, altıncı omur seviyesinden, arkadan birinci ve ikinci torasik omurlar arasındaki boşluk seviyesine ve önde de suprasternal çentik seviyesine uzanmaktadır.

Servikal özofagusun her iki yanında karotis kılıfı ve tiroid bezi vardır. Rekürren laringeal sinirler her iki tarafta özofagus ve trakea arasındaki olukta seyreder.

Torasik Özofagus: Arkus aorta ve büyük damarların arkasından posterior mediyastene girer ve trakeanın soluna geçip, sol ana bronşun arkasından ilerler. Daha sonra subkarinal alanda sağa dönüp birkaç cm seyrettikten sonrada orta hattın soluna geçip, 7. torakal omur hizasına kadar torasik aortanın önünde, perikardiyumun arkasında seyreder. Bu noktadan sonra özofagus biraz daha sola ve öne doğru dönerek, 11. torakal omur hizasında diyafragmadaki özofageal hiyastan geçer. Torasik özofagusun yanlarında sağ ve sol pariyetal plevra bulunur.

Abdominal Özofagus: Sağ krus ve sol krustan gelen kas liflerinden oluşmuş gastroözofageal bileşkeyi oluşturan 2 cm uzunluktaki bölümdür. Önde trunkus vagalis anterior, arkada trunkus vagalis posterior ve diyafragmanın sol krusu yer alır.

ÖZOFAGUSUN YAPISI

Özofagus lümeni mukoza ile kaplanmış, serozadan yoksun, gevşek fibroalveolar adventisya ile sarılmıştır. 4 tabakadan oluşur:

1-Tunika Mukoza: Farinks mukozasının devamı olup, keratinize olmayan çok katlı yassı epitel ile örtülüdür. Aşağıda özofagogastrik bileşkede kolumnar epitel ile uzanır. Lamina propria ve lamina muskularis mukozaya sahiptir. Lamina proprianın üst bölümünde

tübüloalveolar özofageal bezler, aşağıda kardiaya yakın bölümde tübüler yapıda kardiyak özofageal bezler bulunur ve bu bezler mukus salgılar.

2-Tunika Submukoza: Tübüloalveolar yapıda özofageal bezler içerir. Bu bezlerin yaptığı mukus özofagus içeriğinin ıslatılmasını sağlar. Tunika submukozada, bezlerin ve düz kasların fonksiyonlarını idare eden Meissner pleksusu bulunur.

3-Tunika Muskularis: Dışta longitudinal, içte sirküler seyirli kaslardan oluşmaktadır. 1/3 üst bölümü çizgili kas, 2/3 alt kısmı düz kaslardan oluşur. Özofagus başlangıç bölümündeki sirküler kas lifleri, faringoözofageal sfinkteri oluşturur. Kardiyooözofageal geçişte böyle bir anatomik sfinkter olmayıp, fizyolojik bir sfinkter vardır. Sirküler ve longitudinal seyirli kas katmanları arasında Auerbach pleksusu yer almaktadır.

4-Tunika Adventisya: Karın bölümü hariç gevşek bağ dokusundan yapılıdır. Kan damarları ve pleksus özofagusa ait sinirleri içerir. Abdominal özofagusun dış kısmı tunika seroza ile kaplıdır.

ÖZOFAGUS DARLIKLARI VE GENİŞLİKLERİ

Özofagusun 3 anatomik darlığı, 2 tane de genişliği vardır.

Anatomik Darlıkları

1- Servikal Darlık (14 mm): Krikofaringeal sfinkter hizasındadır. Gastrointestinal sistemin en dar yeridir.

2- Bronkooartik Darlık (15-17 mm): Torakal 4. omur hizasında, aortanın sol ana bronşu çaprazladığı yerdedir.

3- Diyafragmatik Darlık (16-19 mm) : Özofagusun diyafragmayı geçtiği yerdeki darlıktır.

Anatomik Genişlikleri

1-Üst genişlik: Üst ve orta anatomik darlıklar arasındaki genişliktir

2-Alt genişlik: Orta ve alt anatomik darlıklar arasındaki genişliktir.

ÖZOFAGUSUN DAMAR VE SİNİRLERİ

Arterleri: Özofagusun servikal kısmı kan akımını tiroservikal trunkusun dalı olan alt tiroid arterden alır. Torasik bölüm, bronşiyal arterlerden beslenir (popülasyonun %75'inde bir sağ ve iki sol dal vardır). Aortadan direkt olarak iki tane özofageal dal çıkar. Özofagusun

abdominal bölümü, ihtiyacını sol gastrik arterin yükselen dalından ve alt frenik arterden karşılar.

Venleri: Servikal bölgede özofageal venler; alt tiroid vene, torasik bölgede bronşiyal, azigos ve hemiazigos venleri aracılığı ile vena kava superiora, abdominal bölgede ise koroner ven aracılığı ile vena kava inferiora dökülür.

Lenfatik Drenaj: 1/3 üst bölümün lenf drenajı derin servikal lenf nodlarına, 1/3 orta bölümün lenf sıvısı mediastinal lenf nodlarına, 1/3 alt bölümde ise sol gastrik damar boyunca yer alan superior gastrik nodlar yolu ile çölyak lenf nodlarına akar.

Sinirleri: Servikal bölgede her iki rekürren laringeal sinirden, subklavyan arterin alt sınırında sağ rekürren sinirden, arkus aortanın alt sınırında da sol rekürren sinirden dallar alır. Sempatik innervasyon; servikal özofagusa servikal sempatik gangliyonlardan, torakal özofagusa torasik ve splanknik sinirlerden, abdominal özofagusa çölyak gangliyonlardan gelir. Meissner ve Auerbach pleksuslar özofagus duvarı içinde intrinsek otonomik sinir sistemini oluşturur.

ÖZOFAGUS FİZYOLOJİSİ

Özofagusun primer fonksiyonu besinlerin farinksten mideye geçişini sağlamaktır. İkinci görevi ise mide içeriğinin istemsiz regürjitasyonunu önlemektir.

Bu fonksiyonlar 4 ana komponente bağlı olarak sağlanır;

1. Üst uçta krikofaringeal sfinkter
2. Özofagusun muskuler tabakası
3. Özofagus mukozası
4. Kardiyanın sfinkter mekanizması

Yiyecekler ağıza alınıp parçalandıktan sonra tükürikle kayganlaşıp yutmaya hazır hale geldiğinde dil tarafından hipofarinkse doğru itilir. Epiglottis geriye doğru yatarak larinks ağzını kapatır ve aspirasyonu önler. Posterior konstriktör kasların kasılması ve dilin arkaya doğru piston hareketi ile hipofarinks basıncı 60 mmHg'ya ulaşır ve intratorasik basıncın daha az olmasıyla, yiyecekler distale doğru itilir. Üst özofageal sfinkter yutma başlamasından 0.5 sn sonra kapanır ve dinlenme basıncının 2 katına ulaşır, gevşeme sonrası başlayan bu kasılma özofagus boyunca dalga şeklinde hareket eder. Yutma istemli olarak ya da farinksdeki özel bölgelerin uyarılması ile refleks olarak başlayabilir. Glossofaringeal sinir ve vagusun superior laringeal dalı farinksin aferent sinirleridir ve bu liflerle medulla uyarılarak 5,7,10,11,12. kranial sinirler ve servikal 1-3 arasındaki motor sinirler ile yutma işlemi tamamlanır. Özofageal fazda yiyeceğin - 6 mmHg negatif basınca sahip intraabdominal bölgeye geçişi söz

konusudur. Yutma sırasında özofagus içinde 30-120 mmHg arasında değişen basınç farkları oluşur. Peristaltik kasılmanın üst noktası 2-4 cm/sn hızla ilerler ve yaklaşık 9 saniyede besin mideye ulaşır.

Fonksiyonel bir yutmada faringeal faz ile başlatılan peristaltik hareket ve eş zamanlı alt özofageal sfinkter (AÖS) gevşemesinin olması gerekir. Aksi takdirde gastrik asitin reflüsü gelişir. İnsanlarda etkin bir AÖS, etkin özofageal klirens ve yeterli çalışan gastrik rezervuar antireflü mekanizmada gereklidir.

GASTROÖZOFAGEAL REFLÜ HASTALIĞI

Mide içeriğinin retrograd olarak özofagusa geçmesine GÖR denilmektedir. İlk defa 1935 yılında Asker Winkelstein tarafından ortaya konulmuştur.¹ GÖR hastalık olmayıp, fizyolojik bir olaydır. Kısa süreli semptomla yol açmayan, gece görülmeyen ve özofagusta hasara neden olmayan reflüye fizyolojik reflü denilir. Klinik belirti veya komplikasyonlara yol açtığı zaman GÖRH'dan bahsedilir.

American College of Gastroenterology tarafından 2005 yılında yayınlanan kılavuzda GÖRH; gastrik içeriğin özofagusa anormal reflüsü sonucu ortaya çıkan tüm belirtiler ve komplikasyonlar olarak tanımlanmıştır.² 2006'da yapılan Montreal Tanımlama ve Sınıflamasında ise; GÖRH, mide içeriğinin reflüsü sonucunda oluşan sıkıntı verici belirti ve/veya komplikasyonlar olarak tanımlanmıştır.³

EPİDEMİYOLOJİ

GÖRH toplumda oldukça sık görülen önemli bir sağlık sorunudur. GÖRH'nın toplumdaki sıklığını inceleyen çalışmalarda; temel olan semptom sıklığı araştırılmıştır. Bu nedenle verilen rakamlar GÖRH komplikasyonları olan bazı asemptomatik hastaları içermez. Ancak semptomsuz komplikasyonlu olguların sayıları görece düşük olduğu için yine semptom prevalansını veren bu çalışmalar GÖRH sıklığı hakkında kabul edilebilir doğrulukta bilgi verebilirler.

Ülkemizde GÖRH sıklığı Batı toplumuna benzer şekilde %20 olarak saptanmıştır.^{4,5} Bor ve arkadaşlarının İzmir Menderes Bölgesinde yaptıkları çalışma; ülkemizdeki olguların batı toplumu ile karşılaştırıldığında daha çok regürjitasyondan yakındığını fakat daha az pirozis semptomu olduğunu ortaya koymuştur.⁵ Bu fark, Türk toplumunda pirozisi tanımlayan

kelimenin tam karşılığı olmaması ya da helicobakter pilori'nin yaygınlığı nedeniyle regürjitasyon baskın GÖRH'in ön planda karşımıza çıkması şeklinde yorumlanmıştır.

HİSTOPATOLOJİ

Özofagus, nonkornifiye stratifiye skuamöz epitel ile kaplıdır. Bazal hücre tabakası, hücresel proliferasyonun olduğu yerdir ve genellikle epitel kalınlığının %15'inden azını kaplar. Skuamokolumnar bileşkede, bazal hücre tabakası midenin kolumnar hücreleri ile devamlılık gösterir. Lüminal yüzeye yaklaştıkça bazal hücreler stratifiye skuamöz hücrelerle yer değiştirir. Skuamöz mukozanın üzerinde kan damarlarını içeren lamina propria papillaları yer alır. Bu papillaların uzunluğu normalde tüm epitel kalınlığının üçte ikisinden azdır.

GÖRH; belirgin endoskopik özofajit bulgusu olmadan da özofagus epitelinde histopatolojik değişikliklere neden olabilir. Bunlar, özofajit sonucu oluşan inflamatuvar hücre infiltrasyonuna karşı oluşan reaktif epitel değişiklikleridir. Anatomik değişiklikler, sebep olan etmene, maruziyetin süresine ve ciddiyetine göre değişiklik gösterir. Basit hiperemi bazen tek bulgu olabilir. Komplike olmamış özofajitte karakteristik üç patolojik bulgu vardır:

1. Epiteliyal tabakada eozinofiller, nötrofiller ve çok sayıda lenfositlerin oluşturduğu inflamatuvar hücrelerin varlığı,
2. Epiteliyal kalınlığın % 20'sini aşan bazal hücre hiperplazisi,
3. Vasküler konjesyonla birlikte lamina propria papillalarının hem uzunluk hem de sayıca artışı.⁶

İntraepiteliyal eozinofil infiltrasyonunun, görülen en erken histopatolojik anormallik olduğu ileri sürülmektedir.^{7,8} Çalışmalarda bazal zon hiperplazisinden bile önce intraepiteliyal eozinofil varlığı saptanmıştır. İntraepiteliyal nötrofiller ise daha ağır hasarın göstergesidir. Striktür, Barrett gibi özofajitin potansiyel komplikasyonları, tamir süreçleri sonucunda karşımıza çıkar.

PATOFİZYOLOJİ

AÖS; mide içeriğinin özofagusa reflüsünü önlemede esas role sahiptir. Sfinkter gastroözofageal bileşkenin hemen üzerinde yer alan fizyolojik bir oluşumdur. Birçok faktör yüksek basınç hattına katkıda bulunur.

Birincisi; distal özofagusun intrensek kas yapısıdır. Normalde yutmanın başlaması ile gevşer ve sonra tonik kontraksiyon haline döner.

AÖS basıncına katkısı olan ikinci faktör; kardiyanın askı lifleridir. Bu lifler özofagusun sirküler kas lifleri ile aynı anatomik derinliktedir fakat farklı yönde yerleşmiştir. Kardiyafundus bileşkesinden küçük kurvatura doğru diyagonal uzanırlar. Bunlar AÖS basıncının önemli bölümünden sorumludur.⁹

Distal özofagusta yüksek basınç değerinin sağlanmasıyla ilgili üçüncü faktör de diyafragmadır. Özofagus, göğüsten abdomene geçerken diyafragma krusları ile çevrilidir. İnspirasyon sırasında, krus açıklığının anteroposterior çapı azalır, özofagusu komprese eder ve AÖS'de ölçülen basıncı artırır.

Alt özofagusta oluşan yüksek basınca katkıda bulunan son unsur da; abdominal boşluktan iletilen basınçtır. Abdominal kompartman zaman zaman göğüs boşluğundan daha yüksek basınca sahip olabilir. Abdominal boşluğa sıkıca tespit olmuş gastroözofageal bileşke, posterior mediastendekine göre daha yüksek basınca maruz kalacaktır.

GÖR, distal özofagustaki yüksek basınç hattının elde edilemediği ya da normal basınca sahip sfinkterin özofagus gövdesindeki peristaltik aktivite ile ilişkisiz spontan gevşeme gösterdiği durumlarda oluşabilir.^{10,11} Her iki durum da reflüye neden olmakla beraber, çoğu insanda kliniğe yansıma olmayabilir. Bu nedenle GÖRH ile GÖR arasındaki ayrım; hastanın başvuru şekli, şikayeti ve klinik değerlendirme tüm yönleriyle ele alınarak yapılmalıdır.

GÖRH hiyatal herni ile de ilişkili olabilir. En sık birlikte görüldüğü; tip 1 hiyatal hernidir,¹² kayma tipi herni olarak da adlandırılır. Tip 1 herni gastroözofageal bileşke frenoözofageal ligaman (membran) ile abdominal boşlukta tutulmadığında görülür. Bu nedenle kardiyaya, posterior mediasten ve peritoneal boşluk arasında ileri geri hareket edebilir. Küçük hiyatal hernilerde kardiyaya yetersizliği olmayabilir. Fakat herninin boyutu arttıkça reflü riski de artmaktadır.¹³

Hiyatal herni varlığı GÖRH tanısı için gerekli ve yeterli değildir, ayrıca böyle bir fitiğin varlığı, düzeltici cerrahi için endikasyon yaratmaz. Tip 1 ve Tip 3 hiyatal herninin gelişiminin teorik olarak altında yatan; kardiyaya ve distal özofagusun intratorasik negatif basınca maruz kalma potansiyelleridir. İntratorasik negatif basınca maruz kalış AÖS'de basıncı düşürmekte ve reflü daha da hissedilir hale gelmektedir.¹² Hiyatal hernisi olan hastaların birçoğunun semptomu yoktur ve tedavi gerektirmez.

Özofagus savunma mekanizmalarından biri de asit klirens özelliğidir. Burada amaç reflü olan mide içeriği ile epitel arasındaki temas süresini kısaltmaktır. Klirenste etkili faktörler; yer çekimi, özofagusun peristaltizmi, tükürük ve özofagus sekresyonlarıdır.¹⁴ Asit nötralizasyon kapasitesi tükürüğün yapısında mevcut olan bikarbonata (HCO_3) bağlıdır. Yaşlanmanın ve

sigara içilmesinin (antikolinergik etkiye bağlı), asite bağlı tükürük ve HCO_3 sekresyonunu azaltabildiği belirtilmektedir.^{1,15}

Ayrıca özofagus yapısındaki preepitelyal (dokunun luminal tarafı), epitelyal (hücre tabakası), postepitelyal yapılar zararlı maddelere karşı harabiyeti en aza indirmede rol oynayan dinamik mukozal dokulardır.^{14,16}

Preepitelyal defansın, iyi belirlenmiş mukus tabakası ve HCO_3 sekrete edecek hücre kapasitesi yoktur. Lümen-yüzey pH gradienti sadece 1/10'dur.^{16,17}

Epitelyal defansın yapısal komponenti, hücre içine ve hücreler arasında H^+ geçişini sınırlar. Fonksiyonel komponent ise H^+ 'in tamponlanmasıdır. Asidite tamponlama kapasitesini aşarsa H^+ iki transmembran protein etkisi ile (Na-H değiştirici, $^+\text{Cl}/\text{HCO}_3$ değiştirici) kaldırılır. Hücre içi pH çok yükseldiğinde sitoplazmadan HCO_3 salınır.¹⁴

Postepitelyal defansda; kan akımı ile HCO_3 , O_2 , metabolik besinler temin edilirken, CO_2 , H^+ , metabolik ürünler, hücre atıkları ve diğer zararlı maddelerin uzaklaştırılması sağlanır. Buna bağlı olarak dokunun aşırı gerginlik, yüksek ısı, alkol gibi zararlı etkenlerle uzun süreli temasını önler. Ayrıca özofagus bezleri HCO_3 sentezleyemediği için muhtemelen yüzey HCO_3 sekresyonu bu yolla sağlanır.^{18,19}

Erozif reflü özofajitin birlikte olduğu GÖRH'li hastalarda, mukozal hasarın oluşumu veya ilerlemesinde özofagusun koruyucu komponentinde yetersizlik mevcuttur. Mide boşalımında gecikme, mide distansiyonuna, bu da AÖS'in geçici gevşemesine neden olarak GÖR'nün artışına katkıda bulunabilir.

Sonuç olarak; GÖR patogenezinde multifaktöryel etkenler rol oynamaktadır. Bu durum özofagusun çok sayıdaki savunma mekanizmalarının yansımalarıdır. Saldırgan faktörler, savunma mekanizmalarının üstesinden geldiğinde GÖR ortaya çıkar. Müdahale edilmez ise kısır bir döngü meydana gelir, bu da daha ileri mukoza harabiyetine ve özofagus fonksiyonunda bozulmaya yol açar.

KLİNİK

En sık görülen yakınmalar pirozis, regürjitasyon ve yutma güçlüğüdür. Montreal sınıflamasında sıralanmış olan özofagus sendromlarına ilişkin farklı yakınmalar da GÖRH'nda görülebilir.³

Pirozis, retrosternal bölgede hissedilen rahatsız edici yanma hissidir; boyuna doğru yayılabilir ve sıklıkla yemek sonrası görülür. Regürjitasyon; çaba sarfetmeksizin, bulantı, öğürme veya karın kaslarında kasılma olmaksızın, asidik mide içeriği ve birlikte az miktarda

gıdanın farinkse ulaşmasıdır. Yutma güçlüğü, uzun süren pirozis varlığında, reflü özofajit olan hastalarda görülebilir, proton pompa inhibitörlerine (PPI) iyi yanıt verir. Ödnofaji nadiren görülür, eğer varsa özofagus ülserlerinin varlığını düşündürür. GÖRH ile ilişkili göğüs ağrısı, anjina pektoris taklit edebilir. Bulantı nadiren GÖRH ile ilişkili olup, bulantı varsa diğer nedenlerin de araştırılması gereklidir.²⁰

TANI TESTLERİ

GÖRH klinik bir tanıdır, başlanan antisekretuar tedavi ile tanı doğrulanabileceği gibi objektif testlerle de ortaya konulabilir.

AMPİRİK ASİT BASKILANMA TEDAVİSİ

Günde çift doz PPI kullanımı ile (gerektiğinde semptomları devam edenlerde pH monitörizasyonu ile asitin yeterli düzeyde baskılanıp baskılanmadığının kontrolü ile) semptomların devamlılığına göre GÖRH tanısı konulur.¹⁴

ENDOSKOPİ

Şiddetli GÖRH ve komplikasyonlarının tanı ve takibinde, tedaviye cevap vermeyen hastaların kontrolünde endikedir.²¹ Özofajit için akut inflamasyon spesifik olup, sıklıkla kronik inflamasyon ile birlikte dir.¹⁰ GÖRH'nın yaklaşık %60'ında endoskopide lezyon görülmezken, %30'unda özofajit, %10'unda Barrett özofagus saptanabilir.²² Hiatus hernileri endoskopik incelemede saptanabilir, aynı zamanda mide içeriğinin özofagusa reflüsü de gözlenebilir.

Özofajitin şiddeti endoskopik olarak değişik sınıflandırmalar ile gösterilir;

LOS ANGELES SINIFLAMASI

Grade A: Herbirinin uzunluğu 5 mm'den küçük bir veya daha fazla mukozal erozyon.

Grade B: En az bir tane 5 mm'den uzun, fakat komşu mukozal kıvrımlar arasında devam etmeyen mukozal erozyon.

Grade C: Komşu mukozal kıvrımlar arasında devam eden fakat çepeçevre olmayan en az bir mukozal erozyon.

Grade D: Lümenin en az ¼'ünü çevreleyen mukozal erozyon.

SAVERY-MİLLER'İN ENDOSKOPİK ÖZOFAJİT KLASİFİKASYONU

Grade 1: Lineer, lokalize hiperemi ve /veya yüzeysel erozyonlar.

Grade 2: Birbiri ile birleşen ancak lümeni sarmayan eksüdalı erozyonlar veya ülserler.

Grade 3: Özofagus lümenini çepeçevre saran, eksüdalı erozyonlar ve/veya ülserler, darlık yok.

Grade 4: Özofageal ülserasyon, striktür veya metaplazi.

ÖZOFAGOGRAM

Özofagus ve proksimal midenin eksternal anatomisinin belirlenmesinde katkı sağlar. Bir hiyatal herninin tanısı ve boyutunu karakterize edebilir. Kontrast incelemesi ayrıca striktürler, divertikül, tümör ve paraözofageal fitiklar gibi patolojileri de belirlemede fayda sağlar.

PH METRE

Asit reflüsünün tanısı ve miktarının belirlenmesinde kullanılır. Sensitivite ve spesifitesi %90-95'dir. Hafif şiddetli hastalarda test normal bulunabilir.

Özofagusa yerleştirilen pH elektrodları ile 24 saat boyunca ölçüm yapıp kaydedilir. Reflü epizotlarının toplam sayısı (pH<4), en uzun reflü epizodu, 5 dakikadan uzun süren epizotların toplam sayısı, dik ve supin pozisyonundaki ölçümler reflünün yaygınlığı hakkında bilgi verir.

MANOMETRE

Özofagus ve sfinkterinin motor fonksiyonlarını incelemeye kullanılır. Basınca duyarlı transdüserler yardımı ile AÖS basıncı, AÖS uzunluğu ve AÖS'in abdominal parçasının uzunluğu belirlenir. Bu ölçümler sonucu AÖS yapısal bozukluğu olup olmadığına karar verilir. Manometrik çalışmalar ayrıca, diğer özofagus hastalıklarının olmadığına gösterilmesi ve antireflü cerrahisi için uygun olguların seçilmesine yardımcı olur.^{7,23}

GASTROÖZOFAGEAL SİNTİGRAFI

Hastaya Tc-99m işaretli sülfür kolloid verildikten sonra bir gamma kamera, izotopun mideden özofagusa reflüsünü ölçmektedir. Duyarlılığı düşük olması nedeni ile klinik tanıda pek tercih edilmemektedir.

ÖZOFAGEAL PERFÜZYON (BERNSTEİN TESTİ)

Bir katater yoluyla özofagusa 0.1 mol/l hidroklorik asit perfüzyonunu takiben 10-20 dakika içinde, hastanın semptomlarının yeniden oluşması amaçlanır. Kontrol asit perfüzyonu ile hastanın semptomları tekrar oluşur ise GÖRH olduğu düşünülür.²⁴

TEDAVİ

Tedavide amaç; AÖS fonksiyonunu arttırmak, özofagus klirensini hızlandırmak, mukozayı korumak ve mideden özofagusa reflü olan materyalin miktarını azaltmak ve asidik etkisini değiştirmektir.

1) TIBBİ TEDAVİ

A-YAŞAM DÜZENİNDE DEĞİŞİKLİKLER

Yatağın başucunun kaldırılması, yatmadan en az iki saat önceden yeme ve içmeyi kesmek, sigara ve alkolü bırakmak, zayıflamak, AÖS basıncını azaltan yiyecek, içecek ve ilaçlardan sakınmaktır. Medikal tedaviden önce veya medikal tedaviye ek olarak yaşam şeklinin düzenlenmesi savunuluyorsa da özofajitin tedavisinde bu tip değişikliklerin etkinliği ispatlanamamıştır.^{12,25} AÖS basıncını etkileyen faktörler **Tablo 1**'de verilmiştir.

B-İLAÇ TEDAVİSİ

Antiasitler; GÖRH'nin semptomlarını azaltmakla birlikte, özofajit tedavisinde etkin değildir. Tedaviye tad, kötü koku, ishal, kabızlık nedeni ile uyumsuzluk olabilir. Böbrek yetmezliği olan hastalarda magnezyum, alüminyum toksisitesi kullanımını sınırlar.

Antiasit-alginik asit kombinasyonu; reflüye fiziksel bir bariyer oluşturarak ve asit salınımını azaltarak semptomların azalmasına katkı sağlar. Alginik asit sodyum bikarbonat ile tükürük varlığında tepki verir ve yüksek miktarda visköz, gastrik içeriğin üzerinde yüzen bir solüsyon meydana getirir. Reflü olduğunda bu tabaka özofagusa döner ve gastrik içeriğe karşı bir bariyer oluşturur.²⁶

Prokinetikler; (metoklopramid, domperidon, sisaprid gibi) gastrik boşalımı hızlandıran ilaçlar, hastalığın ilk evrelerinde yararlıdır ama ileri evrelerde çok az değeri vardır.

Histamin H₂ reseptör blokerlerinin (H₂RB); şiddetli özofajite etkinliğinin az olması, ilaca tolerans gelişmesi, toklukta mide asit baskılanmasının yeterli olmaması, idame tedavisinde tekrarı önlemede yetersiz olması ve yan etkilerinden dolayı PPI'ler bu ilaçların yerini almıştır.

PPI; mide pariyetal hücrelerindeki proton pompalarına geri dönüşümsüz olarak bağlanır, böylece gastrik asit üretimini etkin olarak durdurur. Maksimal etki 4 günlük tedaviden sonra oluşur ve etkileri pariyetal hücre ömrü boyunca sürer. Dolayısıyla asit baskılanması, tedavi bittikten sonra 4-5 gün boyunca devam eder. Remisyonun idamesinde olduğu gibi, özofajitin hızlı ve etkin iyileşmesinde H₂RB'den daha etkin ve daha pahalıdır.

Tablo 1. AÖS basıncını etkileyen faktörler.

	Arttıranlar	Azaltanlar
Hormonal	Gastrin	Kolesistin
	Motilin	Östrojen
		Glukagon
		Progesteron
		Somatostatin
		Sekretin
Peptidler	Bombesin	CRGP (Calcitonin genrelated faktör)
	L-Enkefalin	Gastrin inhibitör faktör
	Substan-P	Nöropeptid Y
		Vazoaktif intestinal polipeptid (VIP)
Farmakolojik Ajanlar	Alfa adrenerjik agonistler	Antikolinergikler
	Antiasitler	Barbitüratlar
	Beta adrenerjik agonistler	Kalsiyum kanal blokerleri
	Kolinergik agonistler	Kafein
	Domperidon	Diazepam
	Metoklopramid	Dopamin
	Prostaglandin F2	Meperidin
	Proteinli yiyecekler	Prostaglandin E1 ve E2
		Teofilin
		Gaz gidericiler
Diyet		Çikolata
		Kahve
		Etanol
		Yağ

2) CERRAHİ TEDAVİ

Cerrahi tedavide prensip AÖS basıncını arttırmaya, pozitif basınca maruz kalan abdominal özofagusu uzatmaya, his açısını düzeltmeye yöneliktir.

Ciddi özofageal yaralanma bulgusu olan (ülser, striktür, Barrett mukoza) büyük hiyatal hernisi olan ve medikal tedavi ile semptomlarında düzelme olmayan hastalarda cerrahi düşünülmesi uygundur.

Torakal yolla yapılan girişimler; Allison, Sweet, Belsey Mark IV, Ochsner gibi yöntemler olup, karın yoluyla uygulanan girişimlerin daha iyi sonuç vermeleri ve daha kolay uygulanabilir olmaları nedeniyle günümüzde kullanılmamaktadır.

Abdominal yolla yapılan girişimler;

A) Fundoplikasyon ameliyatları; distal özofagusta yeterli basıncı oluşturacak ve fonksiyonel bir açı meydana getirecek girişimlerdir.

-Total fundoplikasyonlar (Nissen, Nissen-Rosetti)

-Parsiyel fundoplikasyonlar a) posterior parsiyel (Toupet), b)Anterior parsiyel (Por, Wilson)

B) Distal özofagusu intraabdominal kaviteye çekip his açısı oluşturan girişimler (Hill, Lortat-Jacop)

C) Protez ile his açısı tamiri (Jean-Pierre Angelchik protezi)

D) Krurorafi teknikleri

E) Gastropeksi ve kardiopeksi teknikleri

Endoskopik tedaviler ise; AÖS'ini suture ederek (Endocinch, Bord), radyofrekans enerji (Stretta, Curan Medikal), plexiglas enjeksiyonu (polinetil-metakrilat) ya da biyo-uyumlu polimer enjeksiyonu (Enteryx, Boston Scientific) ile güçlendirir.

GÖRH KOMPLİKASYONLARI

Özofageal Striktür: Genellikle alt özofagusta 1-4 cm uzunluğunda olup nadiren orta ve üst özofagusa uzanır. Hastanın yemek alışkanlığında değişikliğe yol açabilecek kadar inatçı ve ilerleyen disfaji, striktür formasyonunun klinik belirtisidir. Striktüre, baryumlu grafi ile tanı konulabilir. Hafif striktürlerde diyet alımında değişiklikler ve medikal tedavi ile başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Daha ağır vakalarda; balon dilatasyonun tedaviye eklenmesi ve 3-

4 haftada bir tekrarlanması uygundur. Gereken hastalarda ise antireflü operasyonu uygulanır.^{7,23}

Özofageal Ülser: Daha sık rastlanan yüzeysel ülserlerin yanı sıra ağır GÖRH'da komplikasyon olarak derin özofageal ülserlere rastlanabilir. Karakteristik olarak, ciddi ve geçmeyen, sıklıkla da sırtta yayılan ağrıya neden olurlar. Ülserin özofageal bir arterler ilişkisi varsa ciddi kanamalara da rastlanabilir. Genellikle medikal tedaviye yanıt verirler.⁷

Barrett Özofagusu: Kronik reflü özofajiti olan bazı hastalarda normal skuamöz epitelin yerini metaplastik kolumnar epitel almaktadır. Barrett özofagusu; spesifikleşmiş kolumnar epitel ve goblet hücrelerinin özofagusta yer almasıdır. Barrett epitelinin klinik önemi yalnızca ağır reflünün göstergesi olması değil, özofagus adenokarsinomu gelişme riskini de yaklaşık 30-40 kat arttırmasıdır. GÖRH olan hastaların yaklaşık %10'unda adenokarsinom gelişiminde premalign lezyon olan Barrett özofagusu gelişir.²⁷ Adenokarsinoma dönüşen metaplastik Barrett özofagusun insidansı yılda %1'dir.²⁶

Barrett epiteli olan hastalar, displazi ve adenokarsinomun erken yakalanması açısından 1-3 yıllık sıklıklarla periyodik endoskopik biyopsilerle takip edilmelidir.^{7,23}

Ekstraözofageal Komplikasyonlar: Regürjite olan gastrik sıvı yeterli miktarda ise farinkse ulaşabilir. Faringeal, trakeal aspirasyon potansiyelleri vardır. Tekrarlayan öksürük, boğulma, ses kısıklığı ve tekrarlayan pnömoni semptomlarına yol açar. Giderek artan oranda astım, idiopatik pulmoner fibrozis ve bronşektazi gibi GÖRH'a sekonder gelişen patolojiler farkedilmeye başlanmıştır.

SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Serbest oksijen radikalleri (SOR) en dış orbitalinde tek sayıda paylaşılmamış elektron bulunan moleküller olarak tanımlanır. Eşleşmiş yörüngelerini kararlı hale getirmek amacı ile çevre molekül yapılardan elektron alma veya verme eğilimindedirler. Moleküllerde hasara ve değişime neden olurlar. SOR'leri inflame alanda aktive olan nötrofiller tarafından miyeloperoksidaz yolu ile üretilen, canlı hücrenin biyomembranlarındaki doymamış lipidler, proteinler ve nükleik asitlerle reaksiyona giren moleküllerdir. Oksijenli solunum yapan canlıda O₂ en önemli serbest radikaldir. Her iki oksijen atomu bir elektronu ortak paylaşır ve bu sayede denge sağlanarak reaktif madde oluşumu engellenir.^{28,29}

SOR'lerinin hücrede yol açabileceği olumsuz etkiler aşağıda sıralanmıştır.³⁰

1. Hücre DNA'sının hasara uğraması,
2. Nükleotit yapılı koenzim yıkımı,
3. Hücre ortamının tiyol/sülfat oranının değişmesi ve tiyollere bağlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması,
4. Protein ve lipidlerin, kovalen bağlarında anormalliklerin oluşması,
5. Enzim aktivitelerinde ve lipid metabolizmasındaki değişiklikler,
6. Mukopolisakkaritlerin yıkımı,
7. Protein tahribi,
8. Lipid peroksidasyonu ile zar yapısı ve fonksiyonunun değişmesi,
9. Zar proteinlerinin hasar görmesi ve taşıma sistemlerinin bozulması,
10. Steroid ve yaş pigment birikimi,
11. Kollajen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksidoredüksiyon olaylarının bozularak kapiller vasküler yapılarda aterofibrotik değişikliklerin oluşumu.

SOR'lerin net etkisi; oluşumları ile harabiyetleri arasındaki dengeye bağlıdır. Eğer SOR oluşumu antioksidan defans mekanizmasını geçerse oksidatif stres ortaya çıkar. Çoğu hücrede bulunan süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH) peroksidaz, GSH redüktaz, GSH transferaz, katalaz (CAT) gibi enzimler hücreleri serbest radikallere karşı korur. İlaveten E vitamini, sistein, GSH ve serüloplazmin gibi sülfiridler SOR oluşumunu engelleyerek veya onları inaktive ederek hücre korunmasını destekler.³¹

SOR'nin hücrede yol açtığı zararlı etkilerin saptanmasında lipid, protein ve DNA oksidasyonu için belirteç olarak oksidasyon ürünleri ya da ara ürünler ölçülmektedir. Antioksidanların etkileri lipid peroksidasyona karşı korumalarıdır. Lipid peroksidasyon engellenmediği takdirde membran geçirgenliği artmakta, hücre zarında hasar, akışkanlık azalması, transmembran iyon dengesizlikleri, sekretuar fonksiyonların bozulması gibi etkiler ortaya çıkar ve bu da hücrede ödem ve ölüme yol açmaktadır. Lipid peroksiditler yıkıldıktan sonra biyolojik olarak aktif aldehitler oluşur. Bunların en önemlisi malondialdehitdir (MDA). MDA miktarı ölçümü oksidatif hasarın değerlendirilmesinde sık kullanılan bir yöntemdir.³²

GLUTATYON

GSH hücre içinde sentezlenen bir tripeptiddir. Hücre içinde yaygın bir tiyol olup direkt ve indirekt olarak pek çok mekanizmada rol alır.³³

Hücre içindeki GSH, selenyum içeren GSH peroksidaz ile glutatyon disulfite (okside glutatyon; GSSG) dönüşür. Bu enzim hidrojen peroksit (H_2O_2) ile diğer peroksitlerin indirgenmesini katalizler. GSSG, GSH'nun serbest radikaller ile reaksiyonu sonucu oluşur. GSH'nun GSSG'a dönüşümü transhidrojenasyon yolu ile de olur. GSSG'nun tekrar GSH'a indirgenmesi GSSG redüktaz enzimi ile NADPH varlığında katalizlenir. Hücre dışı ortamda GSH, GSSG'a dönüşür, bu reaksiyonlar oksijen gerektirir ve H_2O_2 oluşumuna yol açar.³⁴

Hücrenin yükseltgenme-indirgenme dengesini koruyan önemli bir antioksidan olan GSH, hücreleri endojen ve eksojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden korur.³³

TRANSAMİNAZLAR

Birçok aminoasitin yıkımında ilk aşama α -amino gruplarının α -ketoglutarata aktarılmasıdır. α -Ketoglutaratın bu mekanizmadaki tek rolü glutamat şekline geçerek diğer aminoasitlerden amino gruplarını toplamasıdır. Amino gruplarının bir karbon iskeletinden diğerine aktarımını transaminaz adı verilen bir enzim ailesi katalizler. Her transaminaz bir ya da birkaç amino grup vericisine özgüdür. Transaminazlar özgün amino grubu vericisine göre adlandırılırlar. Çünkü amino grubu alıcısı her zaman α -ketoglutarattır. En önemli iki transaminaz; serum glutamik oksaloasetik transaminaz (AST) ve serum glutamik pirüvik transaminaz (ALT)'dir.³⁵

ALT birçok dokuda mevcuttur. Bu enzim alanin amino grubunu α -ketoglutarata aktarır ve piruvat ile glutamat oluşur. Reaksiyon geri dönüşümlüdür, bununla beraber aminoasit katabolizması sırasında bu enzim glutamat sentezi yönünde çalışır.³⁵

AST, glutamat oluşumu yönünde değil aspartat oluşumu yönünde çalışır. Tüm transaminazların çalışması için koenzim olarak piridoksal fosfat gereklidir.³⁵

Transaminazlar hücre içi enzimlerdir. Plazmada yüksek transaminaz düzeyleri bu enzimlerden zengin hücrelerin hasarını gösterir.³⁵

LİPİD PEROKSİDASYONU

Lipid peroksidasyonu doymamış lipidlerin bulunduğu yerlerde görülen moleküler O_2 ile gerçekleşen ve lipid hidroperoksitlerin oluştuğu kompleks bir işlemdir. Lipid hidroperoksitleri degradasyona uğrayarak, alkan, alken, hidroksialkenal ve keton cisimlerin ortaya çıktığı ürünlere dönüşürler.³⁶

Canlı hücrelerindeki hidroksil radikali öncelikli olarak membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitleri ile etkileşir ve bir karbon atomuna bağlı yan zincirden hidrojen atomu ayırarak su molekülü oluşturacak biçimde bu atomla birleşir. Bu peroksidasyon hücrel hasarın en önemli nedenlerinden biridir.³⁶ Lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden birisi olan MDA düzeyleri tiyobarbütirik asit reaktif maddeleri (TBARS) testi ile belirlenebilir.³²

APOPTOZ

En sık görülen hücre ölüm şekli hücre proteinlerinin denatürasyonu ve organelerin yıkılması ile kendini gösteren koagülasyon nekrozudur. Daha sonra tanımlanan ve hücreyi ölüme götüren olay ise apoptozdur. Apoptoz ilk kez 1972 yılında Kerr tarafından tanımlanmıştır.³⁷ Gelişim sırasında normal bir fizyolojik mekanizma olan apoptoz, hastalık veya zararlı ajanlar tarafından hasar gören hücreleri temizler. İntrauterin gelişim döneminde organların şekillenmesinde ve fetal anomalilerin önüne geçilmesinde önemli roller üstlenir. Diğer yandan fizyolojik apoptoz sürecinin bozulması kanser ve nörolojik bazı hastalıkların gelişmesinde rol oynamaktadır.³⁸

Apoptozun temeli kromatin yoğunlaşması ve parçalanmasıdır. Apoptoza giden hücrenin üç karakteristik niteliği mevcuttur:³⁰

1. Kromatin yoğunlaşması ve membran kabarcıkları oluşması,
2. DNA'nın nukleozom boyutunda parçalanması,
3. RNA ve protein sentezi.

Bu sonuncu madde olayın “programlı hücre ölümü” olarak tarif edilmesine neden olmakta çünkü ölmekte olan hücrede aktif metabolizmayı işaret etmektedir.³⁰

Apoptoza giden hücrelerde, sitoplazma ve mitokondride bulunan transaminazlar ortama salınır.

Apoptozu tespit etmenin iki temel yolu vardır. Birincisi parafin blokların hematoksil-eozin (HE) ile boyanmış kesitlerinde apoptotik hücreleri tespit etmek, diğeri ise parçalanmış DNA'ların terminal transferaz aracılığı ile dUTP-biotin kullanılarak işaretlenmesidir.³⁹

Apoptozu düzenlemek için çeşitli tedavi yöntemleri denenmiştir. Bunların en bilinenleri siklooksijenaz inhibitörleri ve asetilsalisilik asit ile fizyolojik apoptozu uyararak kolon kanserini engellemek şeklindedir. Ayrıca kanser ilaçları ve radyasyon tedavisi tümöral dokuda apoptozu artırma yolu ile etkilerini göstermektedirler.^{39,40} Son dönem tedavi yöntemleri ise kaspaz inhibitörleri ve antioksidanların kullanımını içermektedir.

SÜPEROKSİT DİSMUTAZ

SOD, bir metalloenzimdir. Süperoksit anyonunun H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüştürülmesini katalizleyerek organizmayı toksik reaktif oksijen metabolitlerine karşı korumaktadır.^{41,42}

Bu tepkime spontan olarak da oluşabilmektedir, ancak SOD enzimi bu tepkimeyi katalize ettiğinde tepkimenin hızı normale göre 4 kat artar.⁴³ Savunma mekanizmaları arasında SOD enzimi ilk görevi üstlenir ve SOD enzimi ile katalizlenen tepkime sonucu oluşan ürünler CAT enzimi tarafından temizlenmektedir. Fizyolojik şartlarda süperoksit anyon (O_2^-) radikalinin oluşumu oldukça fazladır. SOD, O_2^- radikalinin hücre içi konsantrasyonunu düşük seviyelerde tutarak kontrolünü sağlar ve hücreleri O_2^- radikallerinin etkilerinden korur.⁴⁴

KATALAZ

Yapısında 4 “hem” grubu bulunan bir hemoprotein olan CAT enzimi esas olarak peroksizomlarda bulunmaktadır.⁴⁵ H_2O_2 yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu ortamlarda etkilidir.⁴⁶ H_2O_2 'yi direkt olarak suya dönüştürür. CAT enzim aktivitesi, H_2O_2 konsantrasyonunun arttığı durumlarda belirgin olarak artış gösterir. Peroksidaz aktivitesi de vardır ve H_2O_2 , metil hidroperoksit gibi küçük moleküllere etki eder. Lipid hidroperoksitlere ise etkisi yoktur.^{47,48,49}

LAKTAT

Laktik asit (Laktat), 1780 yılında CW Scheele tarafından keşfedilen, formülü $CH_3CHOH-COOH$ ve kimyaca adı *alfa hidroksipropanoyik asit* olan, bir organik hidroksi asittir. Her insanın vücudunda oluşan doğal bir organik bileşiktir, kas, kan ve vücudun değişik organlarında bulunur. Laktat ile aynı anlamda kullanılır, laktat, laktik asidin sodyum (Na) ve potasyum (K) tuzudur.

Vücuttaki bütün hücreler iki aşamalı bir reaksiyonun sonunda glukozu su ve CO_2 'e metabolize ederler. Aerobik glikoliziste, glukoz yıkılarak piruvat elde edilir. Daha sonra piruvat mitokondride, krebs siklusu ve oksidatif fosforilasyon ile su ve CO_2 'e kadar yıkılır. Bu işlemde NAD ve FAD hidrojenle birleştirilir ve indirgenmiş $NADH+H$ ve FAD hidrojenle birleştirilir ve indirgenmiş $NADH+H$ ve $FADH_2$ elde edilir. Bu moleküller solunum zincirine

H⁺ taşırlar. Bu reaksiyonların sonucunda; kas kontraksiyonu gibi hücrel aktivitenin yürütülmesinde enerji olarak kullanılan ATP elde edilir.

Eğer oksijen sunumu yetersizse (hipoksi), mitokondri ATP sentezini devam ettiremez. Bu durumda gereken ATP anerobik glikolizis yoluyla sağlanır ve aşırı piruvat üretimi laktata dönüştürülerek kana salınır. Artan glikolizis düşük ATP seviyesini oksidatif fosforilasyon ile kompanse ederken, ATP hidrolizinden ortaya çıkan protonlar (H⁺) serbest kalırlar. Böylece proton konsantrasyonu artar ve asidoz oluşur.⁵⁰ Artmış laktat, doku hipoksisi, hipoperfüzyon ve hattta doku hasarının göstergesidir.

Laktik asidozda, laktat düzeyi 5 mmol/L'nin üzerinde ve pH 7.35'in altında olur. Hipoksi, laktat konsantrasyonunda ve asidifikasyonda artışa neden olur. Bu nedenle laktat hipoksinin iyi bir göstergesidir, fakat tek başına düşük pH'yı açıklamaz.⁵¹ Aynı zamanda, Laktat yara iyileşmesi ve rejenerasyonun önemli bir aracısı olarak ta kabul edilmektedir.⁵²

Laktat sadece doku hasarı ve yaralanma ile ortaya çıkmasının yanında aynı zamanda hasarın iyileşmesi ve rejenerasyonda da rolü olan bir ajan olarak kabul edilmektedir. Bu durum da; yüksek laktat konsantrasyonunda kollajen sentezinin artışı ile açıklanmaktadır.⁵²

WHEY PROTEİNLERİ

Kesilmiş sütün sıvı kısmı, sütün serumu ya da peynir altı suyu; whey proteini olarak bilinir.⁵³ Sütün serumu, peynir yapımı esnasında elde edilen bir üründür. Sütten kazein ve yağın ayrılması sonrası geride kalır. Bugün SSP gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Sütün serumunda çözünür halde bulunan proteinler; whey proteini olarak adlandırılır. Whey proteini; β -laktoglobulin, α -laktalbumin, serum albumin ve Ig'lerden oluşan biyoaktif bir protein karışımıdır.

β -laktoglobulin inek sütün serum içeriğinin %50'sini oluşturur. İnsan dahil olmak üzere çoğu memeli sütünde bulunmaz. En az dört genetik varyasyonu olup, en sık rastlanılanlar A ve B tipleridir. Toplam 165 aminoasitten oluşur. İki adet disülfid ve bir adet serbest sülfidril ile birlikte sistein içeriği yüksektir.⁵⁴

α -laktalbumin 123 aminoasitten oluşup, A, B, C olmak üzere üç değişik varyanta sahiptir. Toplam sütün serum içeriğinin %25'ini oluşturur. Termostabilitesi yüksek, sistein içeriği fazladır. Sütün salgılanmasının kontrolünde görevli olup, Ca ve Zn bağlayıcı özelliği bulunmaktadır.⁵⁵

Serum albumini, sütteki proteinlerin %10'unu oluşturur. Kaynağı serum olup, memede sentezlenmez. Süt içerisine hücrelerarası yolla sızarak ya da farklı yapılar ile beraber meme hücresi içerisine alınarak geçer.⁵⁶ Fonksiyonu bugün için bilinmemektedir.

İg'ler, total süt proteinlerinin %10'unu oluştururlar. Meme bezinde süt oluşumu sırasında kandan süte aktarılırlar. IgI, IgG₂, IgA, IgM tipleri sütte mevcut olup, kendisi sentezleme yeteneği kazanıncaya kadar çocuğu korur.⁵⁶

Bunların dışında daha az önemli SSP olarak laktoferin, laktoperoksidaz, lizozim ve β-2 mikroglobulin bulunmaktadır.⁵⁴ Whey proteininin moleküler bileşimi **Tablo 2**'de verilmiştir.

Tablo 2. Whey proteininin moleküler bileşimi.

Protein Fraksiyonu	Whey	Moleküler Ağırlık (MW) Dalton (D)
Beta-laktoglobulin	%45-75	18,400 - 36,800 D
Alfa-laktalbumin	%15-25	14,200 D
Bovin Serum Albumin	Ortalama %10	69,000 D
İmmunoglobulinler	Ortalama %10	15,000 - 160,000 D

Süt Serum Proteinlerinin Kullanım Alanları

SSP biyoyararlanım açısından öne çıkmaktadır. Öncelikle hazır gıdaların kullanım öncesi maruz kaldığı lipid peroksidasyonu SSP kullanılarak anlamlı biçimde azaltılmış ve bu proteinlerin antioksidan etkilerinden faydalanılmaya başlanmıştır.⁵⁷

SSP içinde bulunan laktoferrin, Fe⁺⁺ bağlama kapasitesi nedeni ile antioksidan fonksiyon göstermektedir. Laktoferrin Fe⁺⁺ bağlama özelliği ile bakteri çoğalmasını önlemekte, oksidatif reaksiyonları inhibe etmektedir. Süt serumu sistein içeriği nedeniyle antioksidan kapasiteyi artırır.

Sistein molekülü diğer hayvansal ve bitkisel proteinlerde çok az miktarda bulunmakla beraber denature olmamış whey proteinde bol miktarda vardır. Whey proteinin antioksidan, antitümöral ve immüniteyi artırıcı etkileri hücredeki GSH düzeyini içerdiği yüksek sistein molekülü ile artırıyor olmasından kaynaklanmaktadır.⁵⁴

MATERYAL ve METOD

Deneysel olarak GÖR oluşturulan ratlarda; whey protein ile zenginleştirilmiş beslenmenin reflü özofajit oluşumunda etkisinin alınan kan ve doku örneklerinin biyokimyasal ve histopatolojik analiziyle gösterilmesi amaçlandı.

Çalışmanın başlangıcında; 32 adet yaklaşık 3,5-4 aylık, 190-220 gram ağırlıkta Winstar-albino cinsi rat randomize olarak eşit sayıda (n: 8) 4 gruba ayrıldı;

Grup 1: Laparotomi yapıp, reflü oluşturmadan standart yemle beslenen kontrol grubu (n: 8).

Grup 2: Reflü oluşturulmasını takiben standart yemle beslenen grup (n: 8).

Grup 3: Reflü oluşturulmasını takiben whey protein ile zenginleştirilmiş yemle beslenen grup (n: 8).

Grup 4: Laparotomi yapılmayan ve whey protein ile zenginleştirilmiş yemle beslenen grup (n: 8).

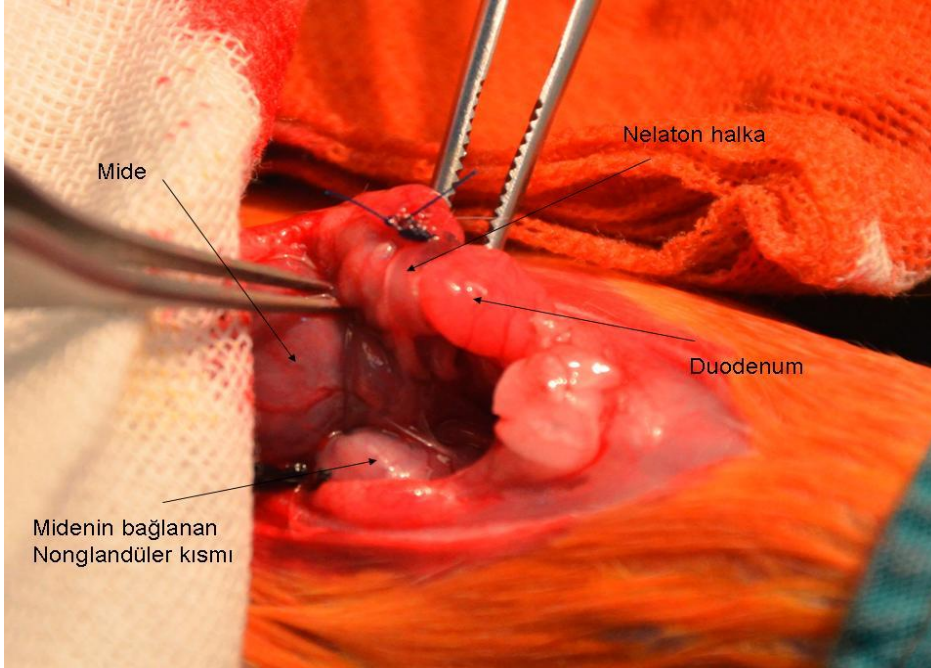
Ratlar, 3 haftalık deney süresince 12'şer saatlik aydınlık-karanlık ışıklandırması olan, ısısı 20-22 °C ve nemi %45-50 olarak otomatik ayarlanan odalarda, şeffaf kafesler içerisinde ve sınırsız çeşme suyu verilerek tutuldu.

Deneklerin Hazırlanması ve Cerrahi Teknik

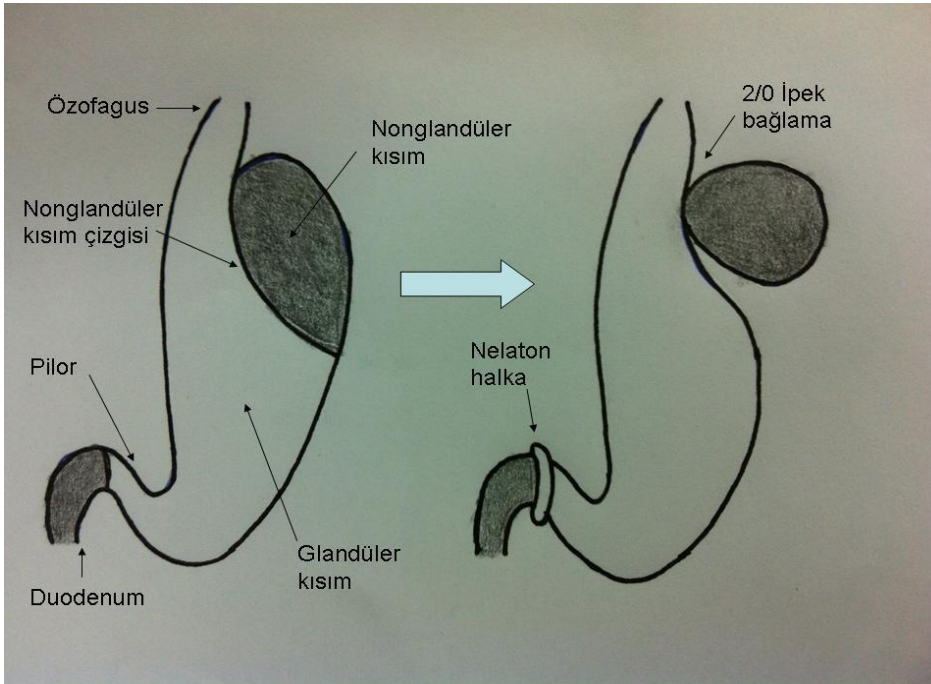
Denyde kullanılacak hayvanlar işlem öncesi tartılarak vücut ağırlıkları kaydedildi. Grup 4'teki 8 hayvana hiçbir cerrahi işlem uygulanmadı. İlk 3 gruptaki 24 rata 8 saat açlık sonrasında arka bacak adalesine intramuskuler olarak 100 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar® 50 mg/ml flakon, Pfizer) ve 5 mg/kg ksilazin hidroklorür (Rompun® 23.32 mg/ml, 50 ml flakon, Bayer) ile anestezi uygulandı. Cerrahi esnasında gerekli olduğunda bir kez olmak üzere ketamin hidroklorür ilk dozun yarısı kadar ek dozda yapıldı.

Yeterli anestezi sağlandıktan sonra hayvanlar ısıtıcı lamba altında supin pozisyonunda cerrahi masaya yatırılarak, flasterle ayaklarından masaya sabitlendi. Ratlar, sarı renkli intraket ile kuyruk veninden kanüle edildi. Batın orta hat insizyonu ile cilt, ciltaltı dokusu, fasya ve periton açılarak laparotomi yapıldı. Mide ve duodenum eksplore edildi. Her 3 Gruptaki hayvanlarda; pilor-duodenum bölgesinde mezoda klemp yardımı ile bir açıklık oluşturuldu. Takiben Grup 1'deki ratlarda işlem sonlandırılarak batın kapatıldı. Grup 2 ve 3'teki ratlarda ise; 18 Fr. kalınlığındaki nelaton sondadan kesilen 2 mm kalınlığındaki halka pilor duodenum

mezosundan geçirilerek bir kenarından pilora 5/0 prolen dikiş ile tespit edildi ve bu halka ile pilorda parsiyel bir daralma oluşturuldu. Ayrıca midenin nonglandüler kısmı 2/0 ipekle bağlanarak, hem midenin oluşturduğu his açısı kaybedildi, hem de ratlarda midenin depo görevi gören bu kısmı ortadan kaldırılmış oldu (Şekil 1, 2). Takiben, batın içerisine 5 ml ılık serum fizyolojik verilerek, batın fasyası ve cilt ayrı ayrı 4/0 polipropilen suturele devamlı teknikle kapatıldı.



Şekil 1. Deneysel GÖR oluşturulması aşamasında pilor bölgesinin nelaton halka ile daraltılması ve midenin nonglandüler kısmının bağlanmış hali.



Şekil 2. Deneysel GÖR oluşturulmasında pilor bölgesinin nelaton halka ile daraltılması ve midenin nonglandüler kısmının bağlanmasının şematik çizimi.

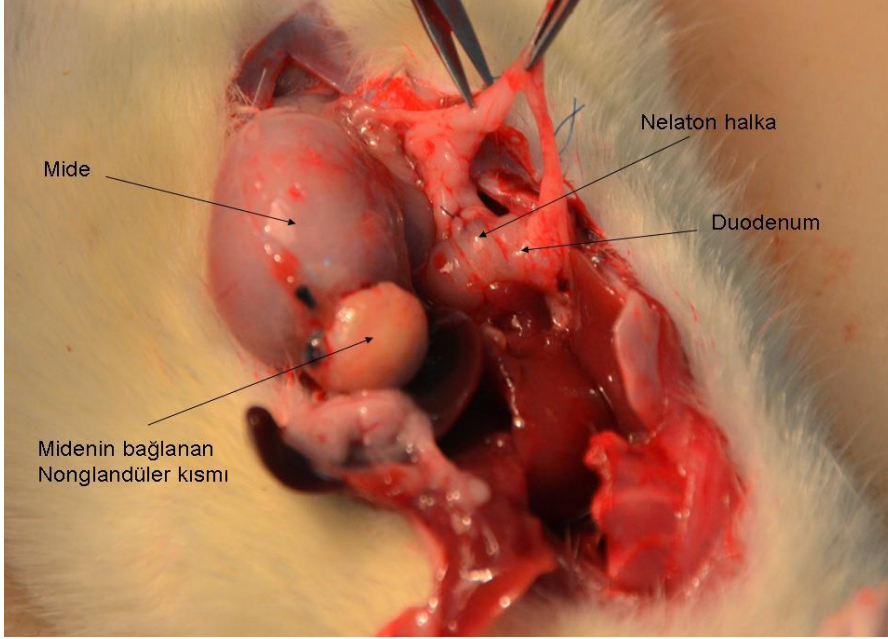
Cerrahi Sonrası Takip Dönemi

Cerrahi sonrası deney hayvanları 3 hafta süreyle beslenme ve bakımları yapılarak, takip edildiler. Grup 1 ve Grup 2'deki ratlar; standart pellet formunda yem ile beslendiler. Grup 3 ve Grup 4'teki ratlara ise; whey proteinden zenginleştirilmiş yem verildi. Bu beslenme protokolünde, denatüre edilmemiş peynir altı suyunun pastörizasyon, evaporasyon ve kristalizasyonu sonrası püskürtme tekniği ile hazırlanan Whey konsantresi (SÜTAŞ, Karacabey, Bursa) kullanıldı. Toz şeklindeki Whey konsantresi standart sıçan yemi tozu ile bire bir oranında karıştırıldı ve elde edilen karışıma %15'i kadar su eklenerek hamur haline getirildi. Bu karışım ince katmanlar halinde oda ısısında 12 saat boyunca bekletilerek kurutuldu ve pellet formunda kullanıma hazır hale getirildi. Üç haftalık takip süresince tüm hayvanlara ad libitum (sınırsız yem) verilmesi protokolü uygulandı ve beslenme rejiminin sonunda deney sonlandırıldı. Deney süresince; günde iki kez veteriner kontrolünde hayvanların davranış, aktivite ve postür kontrolü, işlem yapılan bölgede kızarıklık, akıntı veya şişlik kontrolü, günlük gıda veya su alımı takibi, belirgin kilo kaybı ve ölüm gibi sağlık değişiklikleri takip edildi. Hayvanların deney protokolünden çıkarılma ölçütleri; veterinerin uygun görmesi (insani nedenler), düzgün gıda ve su almama, uyarılara belirgin derecede azalmış yanıt verme şeklinde planlandı.

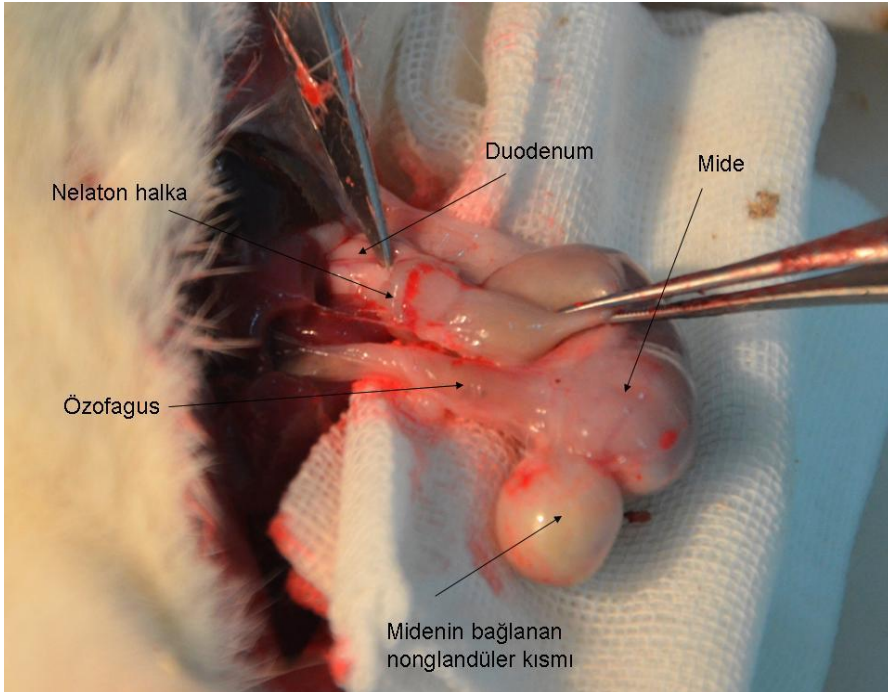
Deney Sonu Cerrahi Prosedür

Deney sonunda, tüm gruptaki 32 rata yukarıda belirtildiği şekilde hazırlık ve anestezi verilmesi işlemlerini takiben, batin orta hatta laparotomi ve insizyon yukarı doğru uzatılarak parsiyel median sternotomi yapıldı. Göğüs boşluğunda, perikard açılarak, ratların sağ ventriküllerinden enjektörle kan örnekleri alındı. Kan örnekleri laboratuarda 3 dakika süresince 4000 devir/dakika hızda santrifüj edildi ve elde edilen serumlar -80 °C'de derin dondurucuda saklandı. Ardından, intrakardiyak 120 mg/kg ketamin enjeksiyonu ile arrest sağlanarak, kan alınmasıyla hipovolemik, hipotansif şoka giren hayvanlar sakrifiye edildi. Takiben, ratların özofagus ½ distal kısmı, midenin tamamı ve duodenum proksimal kısmı komplet rezektü edilmek üzere çıkarıldı (**Şekil 3,4**). Alınan dokular hassas makasla diseke edilerek, gastroözofageal bileşke, özofagusun distal 1/3'ünü içerecek şekilde tüp şeklinde ayrıştırıldı. Hazırlanan özofagus doku parçaları vertikal olarak yukarıdan aşağıya iki eşit parçaya ayrıldı (**Şekil 5**). Bu doku parçalarından bir tanesi biyokimyasal inceleme için -80 °C'de derin

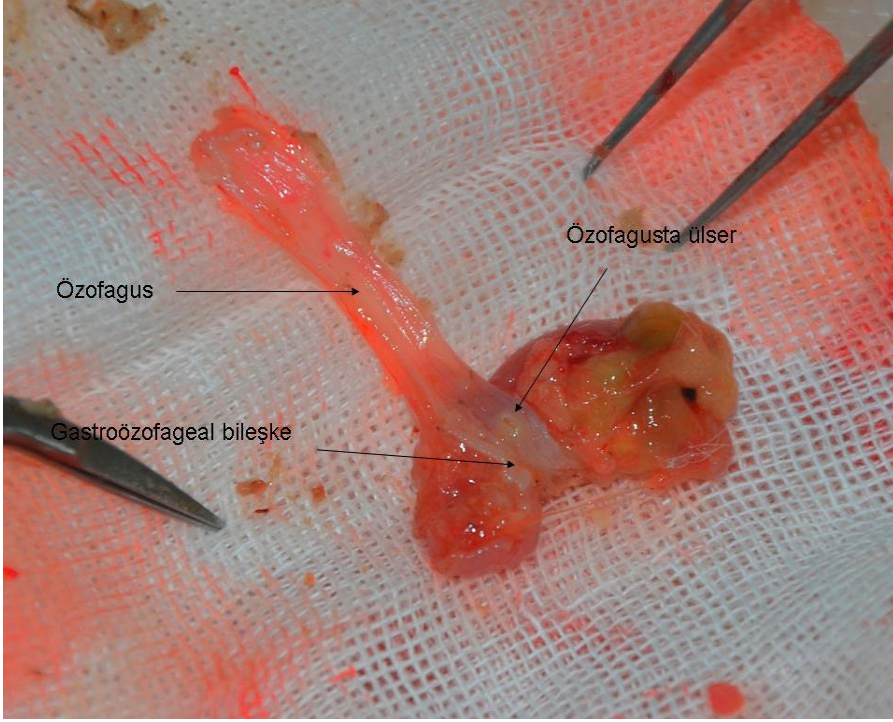
dondurucuda saklandı, diğeri ise histopatolojik inceleme için %10'luk tamponlu nötral formaldehit çözeltilisinde fikse edildi.



Şekil 3. Üç haftalık beslenme rejimi sonunda, mide ve duodenumun görünümü. Midenin bağlanan kısmı ve duodenumda nelaton halka.



Şekil 4. Üç haftalık beslenme rejimi sonunda, mide, duodenum ve özofagusun görünümü. Midenin bağlanan kısmı ve duodenumda nelaton halka.



Şekil 5. Deney sonunda çıkartılan distal özofagus parçasının uzunlamasına kesildikten sonraki görünümü. Gastroözofageal bileşkeye yakın yerleşimli bir ülser krateri.

Dokuların Histopatolojik Değerlendirilmesi

Toplam 32 adet özofagus dokusu özofajit açısından ve gastroözefageal bileşkenin hemen altında yer alan mide parçası ise gastrit açısından ışık mikroskobu altında değerlendirildi. Değerlendirmeyi yapan patologa rastgele numaralandırılan dokuların hangi gruba ait olduğu bildirilmedi. Dokulardan hazırlanan parafin bloklardan mikrotom yardımıyla kesitler alınarak HE ile boyandı. Tüm preparatların ışık mikroskobundaki değerlendirmesi Zeiss Axioplan-2 Imaging mikroskobu ile X50, X100 ve X200 büyütmede yapıldı ve bulgular subjektif olarak değerlendirildi.

Özofagus için; skuamöz epitelyum kalınlığında artış, yüzey epitelinde erozyon, epitelyum hücrelerinde vakuoler dejenerasyon, yüzeyde hiperkeratoz, papillomatozis (papilla uçlarının incilmesi), özofagus epitelinde eozinofil, nötrofil, lenfosit ekzositozu, submukozal konjesyon parametrelerine bakıldı. Buna göre; dokular 1 ile 5 arasında derecelendirildi;

5: Şiddetli özofajit

4: Orta şiddette özofajit

3: Hafif-orta şiddette özofajit

2: Minimal özofajit

1: Normal bulgular

Ayrıca gastroözofageal bileşkenin mide tarafında kalan kısımları da gastrit veya mide ülseri açısından değerlendirildi. Mide tarafının değerlendirilmesinde kriptit, kript absesi, konjesyon, lamina propriada eozinofil, nötrofil, lenfosit infiltrasyonu ve lenfoid agregat varlığına göre 1 ile 5 arasında derecelendirme yapıldı;

5: Şiddetli

4: Orta şiddette

3: Hafif-orta şiddette

2: Minimal

1: Normal bulgular

Hem özofagus hem de mide preparatları ayrıca hücre apoptozu açısından incelendi. Apoptoz, izole hücrelerde hücre büzülmesi, kromatin yoğunlaşması, kromatin marginasyonu, çekirdek ve sitoplazmada fragmentasyon, apoptik cisimcik oluşumu ile karakterize morfolojik değişiklikler göz önüne alınarak değerlendirildi. Apoptoz açısından zon 3 olarak tanımlanan perisantral alan incelendi. Örneklerin tümünde beş farklı büyütme alanındaki apoptik hücreler sayıldı. Hepatosit kordonları ve sinüzoidlerde sayılan tüm apoptotik hücrelerin beşe bölünmesi ile bir büyütme alanındaki apoptotik hücre sayısı belirlendi ve bu apoptotik indeks (Aİ) olarak yorumlandı.

Kısaca; apoptozun hiç görülmemesi 0 puan

2 adet hücrede görülmesi 1 puan

3-5 arası hücrede görülmesi 2 puan

6-8 hücrede görülmesi 3 puan

8 den fazla hücrenin apoptotik olması 4 puan olarak değerlendirildi.

Doku ve Serumların Biyokimyasal Değerlendirilmesi

Doku ve serumların biyokimyasal değerlendirilmesinde, laboratuvar çalışmasını yapan Biyokimya Uzmanına rasgele numaralandırılan doku ve serum örneklerinin hangi gruba ait olduğu bildirilmedi.

Biyokimyasal Doku Analizi

Biyokimyasal doku incelenmesinde; öncelikle özofagus dokusu, mide dokusundan ayrıştırılarak kesildi. Özofagus doku ağırlıkları ölçümüyle birlikte oksidan hasarın göstergeleri olan doku MDA, SOD ve CAT düzeyleri tayin edildi. Dokuların

homojenizasyonu 2 ml tamponize salin (PBS) içinde yapıldı. Çıkan sonuçlar mg/doku şeklinde doku ağırlıklarına bölünerek standardize edildi. Doku ağırlığının 10 katı PBS ile karıştırılarak %10'luk homojenat oluşturuldu. Takiben santrifüj edilerek süpernatan kısmı buzda saklandı.

-Doku MDA Analizi; Malondialdehyde Assay Kiti (Northwest Life Science Specialties, WA, ABD) kullanılarak manuel olarak çalışıldı. Doku MDA'in standart ranjı 1.0 – 4.0 μ M olarak belirtildi.

-Doku SOD Analizi; Superoxide Dismutase Assay Kiti (Northwest Life Science Specialties, WA, ABD) kullanılarak manuel olarak çalışıldı. Normal doku SOD düzeyi 50 – 130 U/gr doku olarak belirtildi.

-Doku CAT Analizi; Catalase Assay Kit (Cayman Chemical Company, Michigan, ABD) kullanılarak manuel olarak çalışıldı. Normal doku katalaz düzeyi; 3.50 – 5.50 U/gr doku olarak belirtildi.

Biyokimyasal Serum Analizi

Biyokimyasal serum incelenmesinde; ratların serumlarında Laktat, ALT ve AST düzeyleri, Spektrofotometrik inceleme ile otomatik analizlerde çalışıldı. Serumda normal değerler; Laktat için 0,5 – 5 mmol/L, ALT için 15 – 65 U/L ve AST için 8 – 37 U/L olarak belirtildi.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Tüm ölçümlere ait sonuçlar; sekizer hayvanlık her bir grubun ortalama \pm standart sapması olarak ifade edildi. Gruplar arasındaki farklılıklar, her bir gruptaki dağılım normal ve gruplar homojen varyanslı ise Tek Yönlü ANOVA varyans analizi ile, bu koşulların herhangi birinin sağlanmadığı durumlarda ise Kruskal Wallis testi ile değerlendirildi. Varyans analizleri ile gruplar arasında farklılık olduğu tespit edilen parametrelerde çoklu karşılaştırma testi olarak Bonferroni ya da Dunn post-hoc testleri kullanıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlılık sınır değeri olarak kabul edildi. İstatistiksel analizler SPSS 20.0 lisanslı (Lisans No. 10240642) paket program kullanılarak yapıldı.

SONUÇLAR

Deneysel laboratuvar çalışmasına alınan tüm hayvanlar 3 haftalık beslenme ve takip süresini tamamladılar. Deney hayvanlarının gruplara göre deney öncesi ve sonrası ağırlıkları **Tablo 3.**'de verildi. Buna göre; tüm hayvanların başlangıç ağırlıkları gruplar arasında eşitken, deney sonunda GÖR oluşturulan 2. ve 3. gruplarda belirgin bir kilo azalması gözlemlendi. Bu azalma, ağırlıkların korunduğu hatta artış gösterdiği 1. ve 4. kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu $p < 0.01$. Ağırlık kaybı açısından grup 2 ve grup 3 arasında anlamlı fark gözlemlenmedi.

Tablo 3. Deney Hayvanlarının Ağırlıkları (gr).

Deney Hayvanları	Grup 1		Grup 2		Grup 3		Grup 4	
	Başlangıç	Deney Sonu	Başlangıç	Deney Sonu	Başlangıç	Deney Sonu	Başlangıç	Deney Sonu
1	215	221	212	170	219	176	218	225
2	210	215	216	165	217	173	219	224
3	222	228	218	160	210	167	215	221
4	219	225	210	158	218	170	213	224
5	210	222	211	161	220	174	216	228
6	216	223	221	183	222	175	211	223
7	213	219	213	159	211	185	210	219
8	214	221	214	157	213	182	222	225
Ortalama	214,8	221,7	214,3	164,1	216,2	175,2	215,5	223,6
Std. Sapma	4,1	3,8	3,7	8,7	4,4	5,8	4,1	2,7

Dokuların Histopatolojik Değerlendirme Sonuçları

Özofagus Distal Kısmının Değerlendirilmesi

Özofagus distal kısmının histopatolojik incelemesi sonucu elde edilen bulgular **Tablo 4**'te özetlendi. Grup 2 ve Grup 3'ün özofagus preparatlarının patolojik incelemesinde diğer kontrol grupları olan Grup 1 ve Grup 4'e göre özofajiti destekleyen belirgin bozukluk saptandı. Grup 2 ve Grup 3 arasında da istatistiksel olarak anlamlı grup 3 lehine bir farklılık gözlemlendi $p < 0.05$. Özofagus distal kısmının patolojik değerlendirme sonuçları ayrıca **Şekil 6**'da grafik olarak gösterildi.

Tablo 4. Özofajitin Patolojik Derecelendirilmesi.

Deney Hayvanları	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
1	1	3	2	1
2	1	3	2	1
3	1	3	2	1
4	1	4	3	1
5	1	3	2	1
6	1	4	2	1
7	1	3	3	1
8	1	3	2	1
Ortalama	1	3,25	2,25	1
Std. Sapma	0	0,46	0,46	0

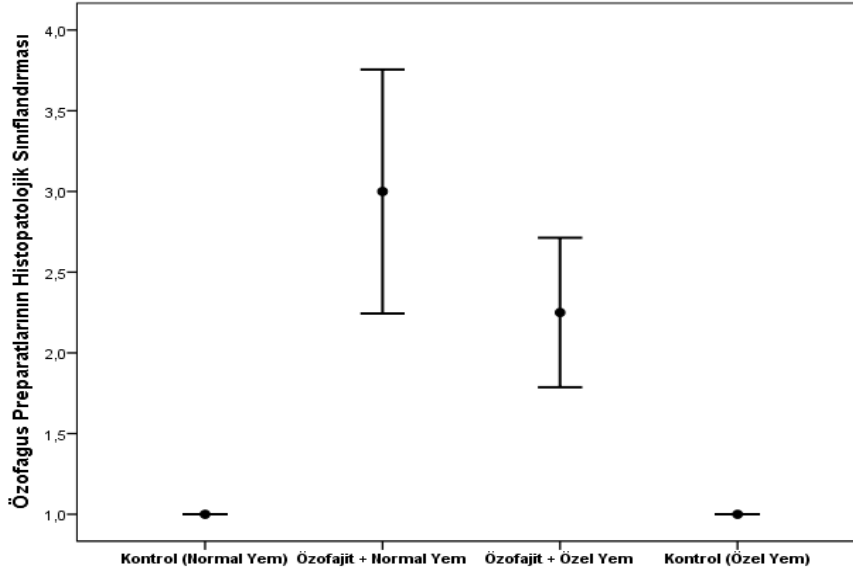
Grup 1 - Grup 2 : $p < 0.01$

Grup 2 - Grup 4 : $p < 0.01$

Grup 1 - Grup 3 : $p < 0.01$

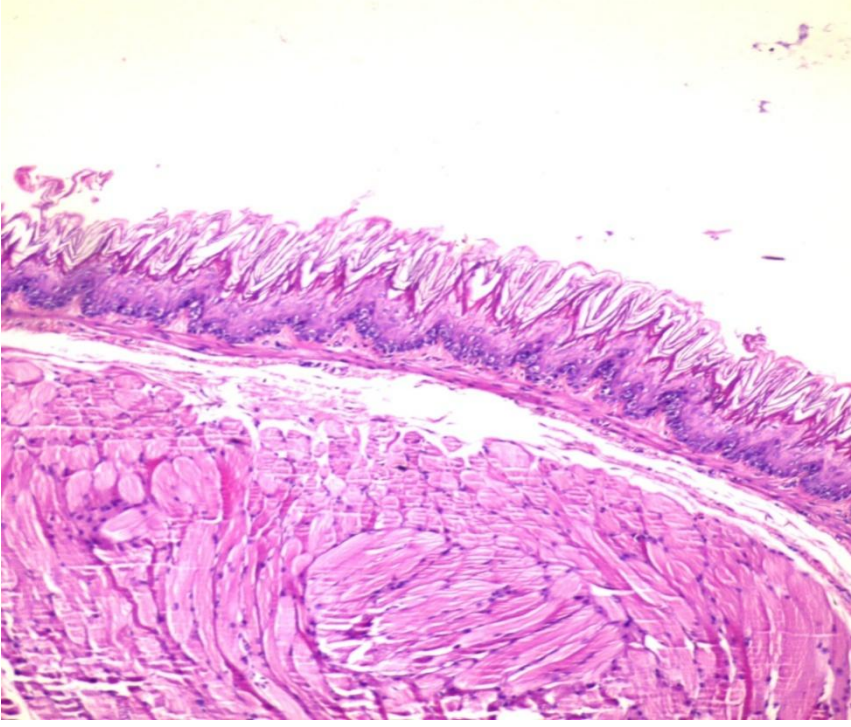
Grup 3 - Grup 4 : $p < 0.01$

Grup 2 - Grup 3 : $p < 0.05$

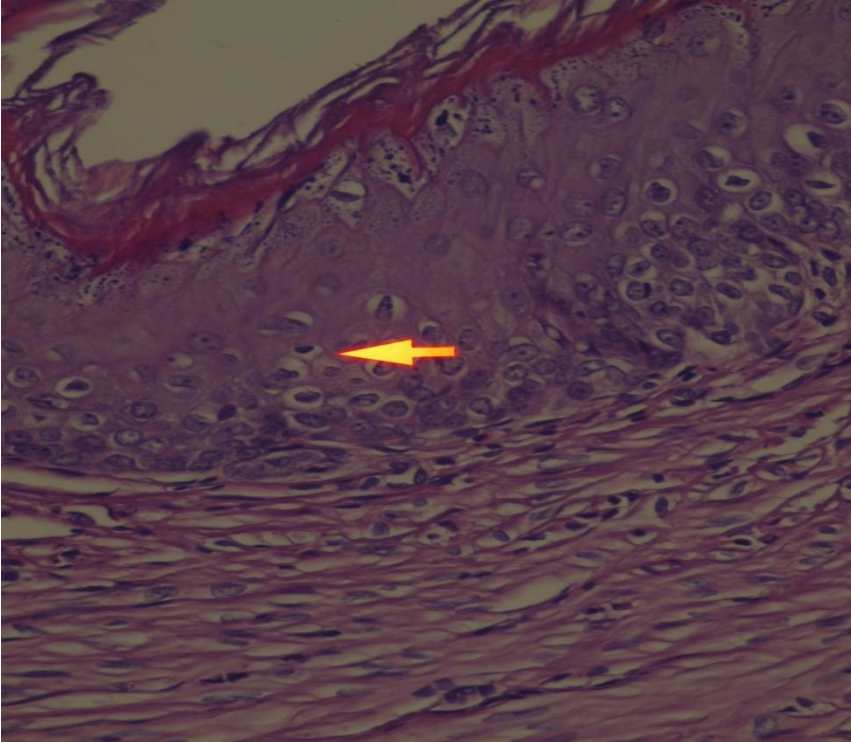


Şekil 6. Özofajitin patolojik derecelendirilmesinin grafik gösterimi.

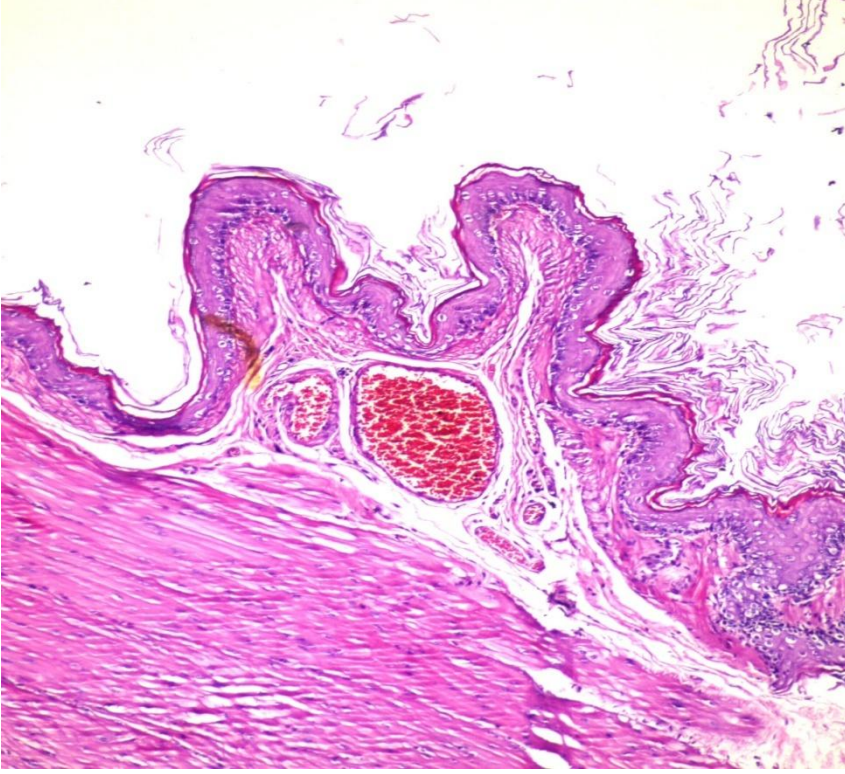
Patolojik incelemeler esnasında saptanan normal özofagus dokusu **Şekil 7**'de ve çeşitli düzeylerde patolojik değişiklikler içeren farklı özofagus preparat görüntüleri **Şekil 8**, **Şekil 9**, **Şekil 10**, **Şekil 11**, **Şekil 12**, **Şekil 13** ve **Şekil 14**'te gösterildi.



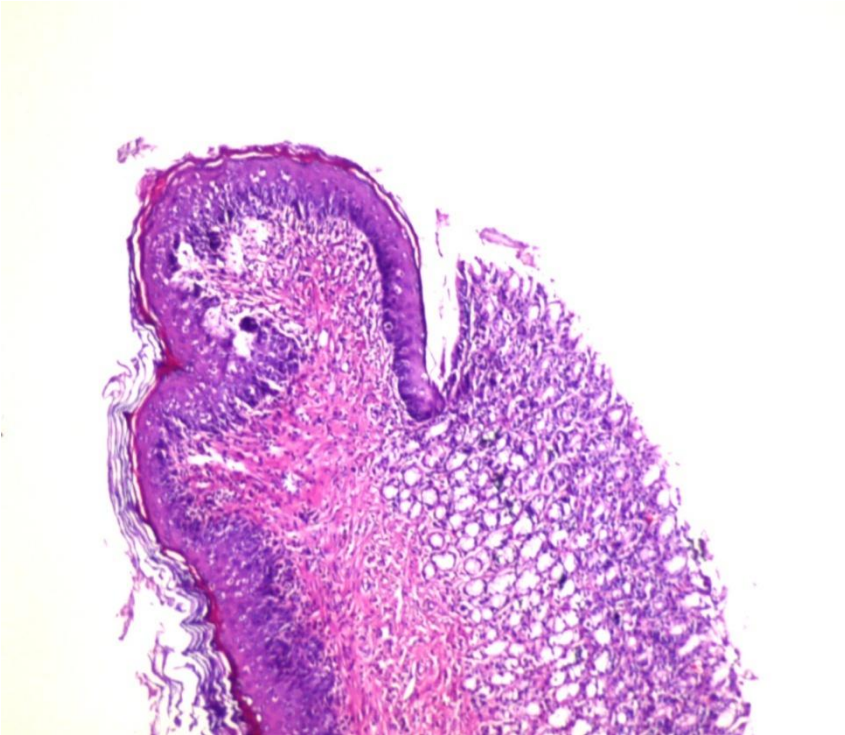
Şekil 7. Reflü bulgularının izlenmediği, yüzeyde çok katlı yassı epitel, altında kas dokusunun yer aldığı normal özofagus preparatı. (HE X40)



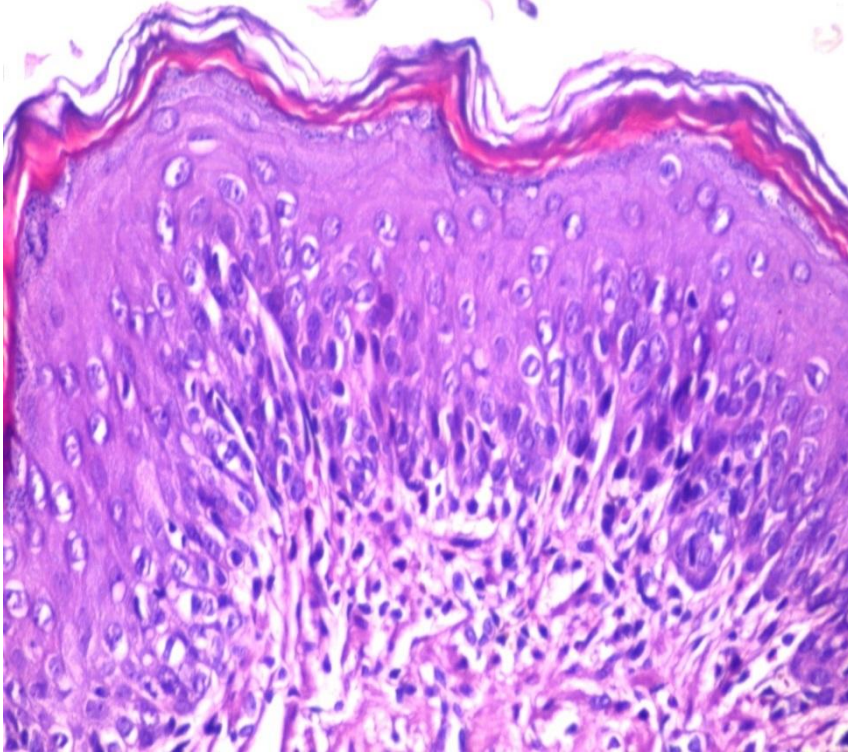
Şekil 8. Hafif şiddette reflü bulguları olan örnekte özofagus tarafı skuamöz epitelde lenfosit ekzositozu (sarı ok). (HE X400)



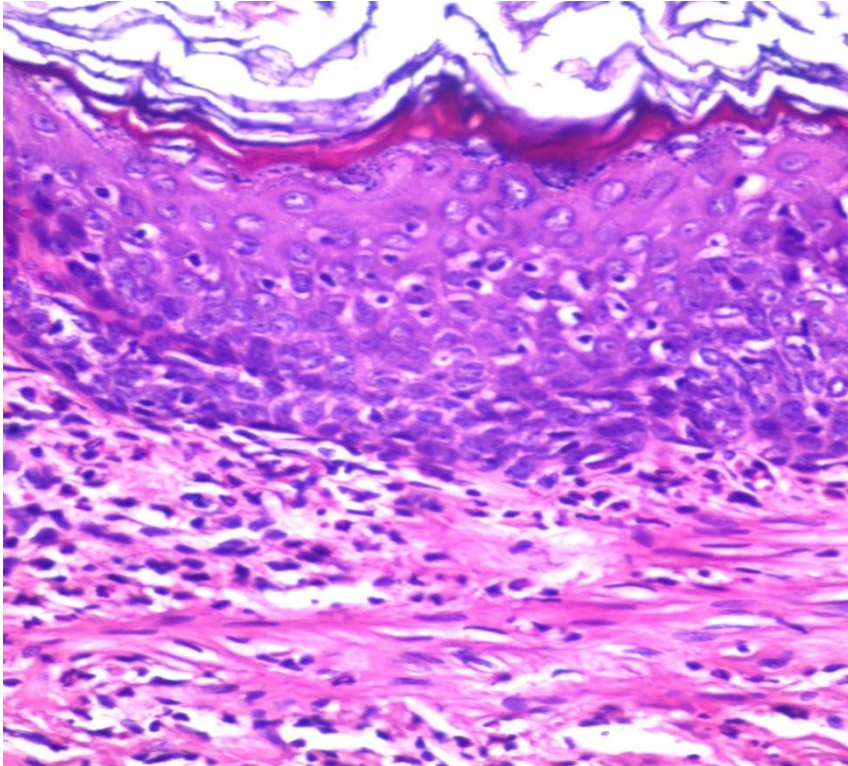
Şekil 9. Hafif şiddette reflü bulguları olan örnekte özofagus tarafı skuamöz epitel altındaki damarlarda konjesyon. (HE X40)



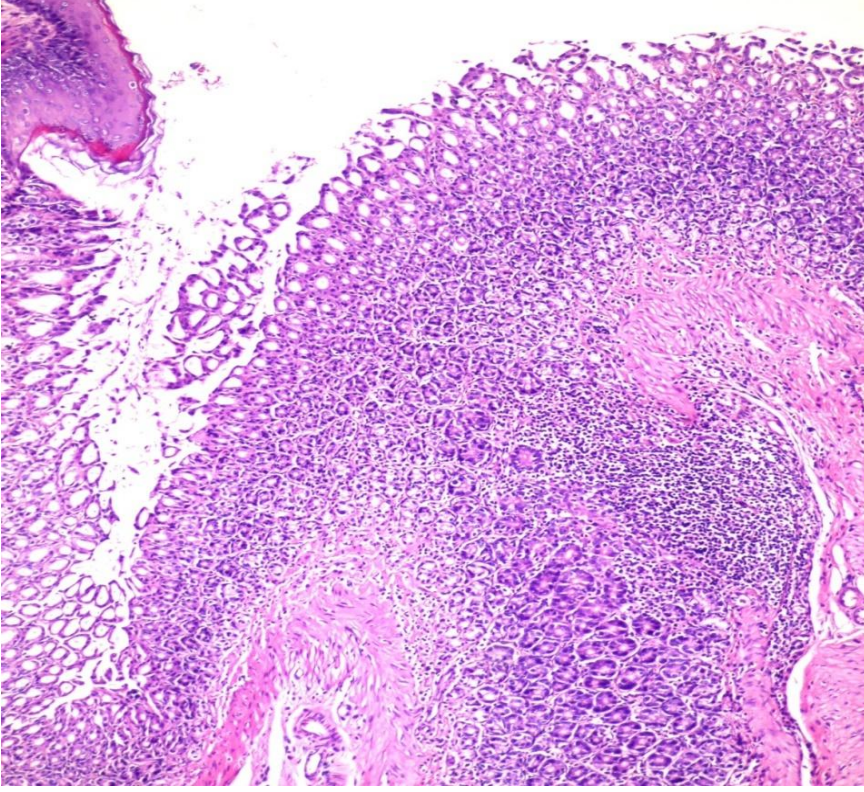
Şekil 10. Özofago gastrik geçişin izlendiği orta şiddetli reflü bulguları olan örnekte epitelde nötrofil ve lenfosit ekzositozu, submukozal alanda eozinofillerin eşlik ettiği iltihap hücreleri. (HE X40)



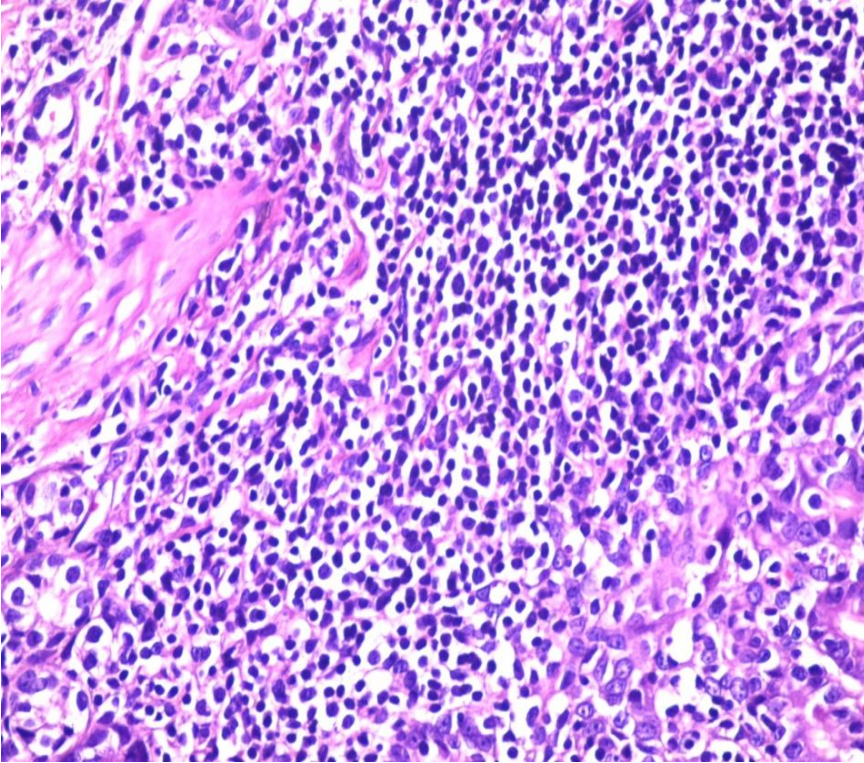
Şekil 11. Orta şiddette reflü bulguları olan örnekte özofagus tarafı skuamöz epitelde lenfosit ekzositozu. (HE X400)



Şekil 12. Şiddetli reflü bulguları olan örnekte özofagus tarafı skuamöz epitelde lenfosit ekzositozu. (HE X400)



Şekil 13. Şiddetli reflü bulguları izlenen örnekte mide tarafında lenfoid agregat oluşumu. (HE X40)



Şekil 14. Şiddetli iltihabi hücre infiltrasyonunun yakın görünümü. (HE X400)

Mide Girişinin Değerlendirilmesi

Mide proksimal kısmının histopatolojik incelemesi sonucu elde edilen bulgular **Tablo 5**'de özetlendi. Grup 2 ve Grup 3'ün mide preparatlarının patolojik incelemesinde diğer kontrol grupları olan Grup 1 ve Grup 4'e göre mide ülseri veya gastritini destekleyen belirgin bozukluk saptandı $p < 0.01$. Grup 2 ve Grup 3 arasında da istatistiksel olarak anlamlı grup 3 lehine bir farklılık gözlemlendi $p < 0.05$. Mide proksimal kısmının patolojik değerlendirme sonuçları ayrıca **Şekil 15**'de grafik olarak gösterildi.

Tablo 5. Gastritin Patolojik Derecelendirilmesi.

Deney Hayvanları	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
1	1	2	2	1
2	1	3	2	1
3	1	3	2	1
4	1	3	2	1
5	1	4	2	1
6	1	2	1	1
7	1	3	2	1
8	1	2	2	1
Ortalama	1	2,75	1,87	1
Standart Sapma	0	0,7	0,35	0

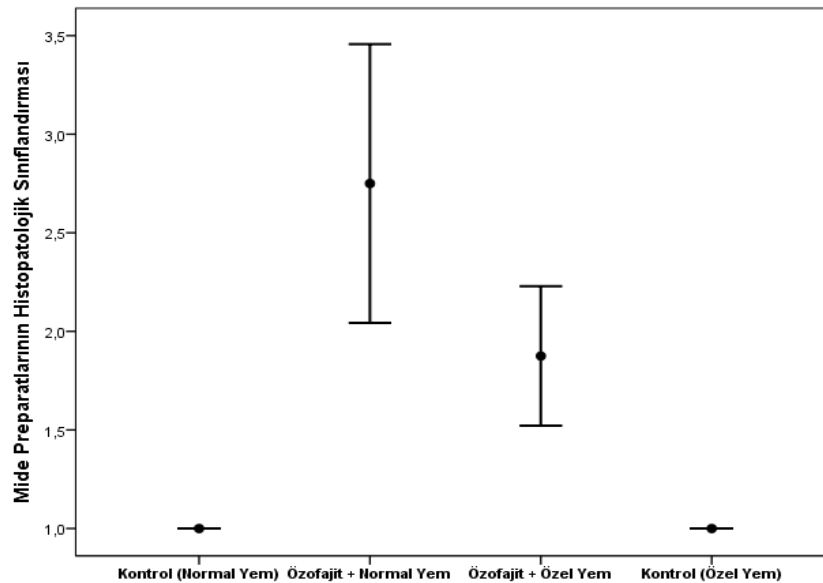
Grup 1 - Grup 2 : $p < 0.01$

Grup 2 - Grup 4 : $p < 0.01$

Grup 1 - Grup 3 : $p < 0.01$

Grup 3 - Grup 4 : $p < 0.01$

Grup 2 - Grup 3 : $p < 0.05$



Şekil 15. Gastritin patolojik derecelendirilmesinin grafik gösterimi.

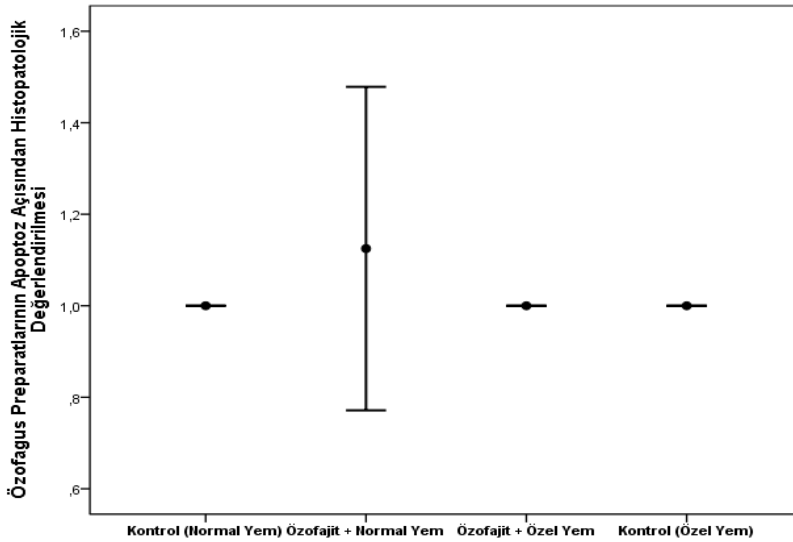
Özofagus Distal Kısmının Apoptoz Açısından Değerlendirilmesi

Özofagus distal kısmının apoptoz açısından histopatolojik incelemesi sonucu elde edilen bulgular **Tablo 6**'da özetlendi. Tüm gruplar arasında yapılan istatistiksel incelemeye göre apoptoz açısından belirgin bir fark olmadığı görüldü. Distal özofagus preparatlarında belirgin apoptoz bulgusuna rastlanmadı. Değerlendirme sonuçları ayrıca **Şekil 16**'da grafik olarak gösterildi.

Tablo 6. Özofagus Preparatlarının Apoptoz Açısından Histopatolojik Değerlendirilmesi.

Deney Hayvanları	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
1	1	1	1	1
2	1	1	1	1
3	1	1	1	1
4	1	2	1	1
5	1	1	1	1
6	1	1	1	1
7	1	1	1	1
8	1	1	1	1
Ortalama	1	1,125	1	1
Standart Sapma	0	0,35	0	0

$p > 0.05$; Gruplar arasında fark yok.



Şekil 16. Özofagus preparatlarının apoptoz açısından histopatolojik değerlendirilmesinin grafik gösterimi.

Mide Girişinin Apoptoz Açısından Değerlendirilmesi

Mide proksimal kısmının apoptoz açısından histopatolojik incelemesi sonucu elde edilen bulgular **Tablo 7**'de özetlendi. Kontrol grubu olan Grup 1 ve Grup 4'te mide preparatlarının hafif apoptoz bulguları gösterirken, Grup 2 ve Grup 3'te belirgin apoptoz olduğu saptandı. Grup 1 ile Grup 2 ve Grup 3 arasında belirgin değişiklik vardı $p<0.01$. Aynı şekilde Grup 4 ile Grup 2 ve Grup 3 arasında da belirgin değişiklik vardı $p<0.01$. Grup 2 ile Grup 3 arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı $p=0,4$. Mide proksimal kısmının apoptoz açısından patolojik değerlendirme sonuçları ayrıca **Şekil 17**'de grafik olarak gösterildi.

Tablo 7. Mide Preparatlarının Apoptoz Açısından Histopatolojik Değerlendirilmesi.

Deney Hayvanları	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
1	1	5	3	1
2	1	4	3	1
3	1	3	4	2
4	2	4	3	1
5	1	5	4	1
6	2	3	4	1
7	1	2	3	1
8	1	3	2	1
Ortalama	1,25	3,62	3,25	1,125
Standart Sapma	0,46	1,06	0,7	0,35

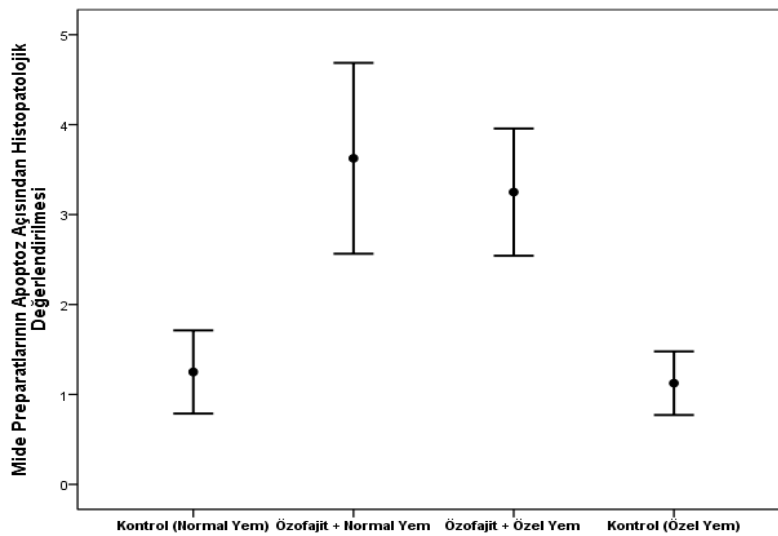
Grup 1 - Grup 2 : $p = 0.01$

Grup 2 - Grup 4 : $p = 0.00$

Grup 1 - Grup 3 : $p = 0.00$

Grup 3 - Grup 4 : $p = 0.00$

Grup 2 - Grup 4 : $p = 0.4$



Şekil 17. Mide preparatlarının apoptoz açısından histopatolojik değerlendirilmesinin grafik gösterimi.

Doku ve Serumların Biyokimyasal Değerlendirilme Sonuçları

Özofagus Dokusunda Malondialdehit Düzeyleri

Her bir gruptaki hayvanların distal özofagus parçalarının analizi ile ölçülen doku MDA düzeyleri **Tablo 8**'de ve sonuçların grafik gösterimi **Şekil 18**'de gösterildi.

Tablo 8. Özofagus Dokusunda Malondialdehit Düzeyi ($\mu\text{mol}/\text{gr}$).

Deney Hayvanları	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
1	2,14	6,5	4,5	2
2	2,28	7,4	5,9	1,06
3	2,9	8,1	6,6	2,52
4	2,6	10,1	4,6	1,26
5	1,2	9,2	5,5	2,42
6	2,34	8,6	6,4	2,66
7	2,58	12,2	8,9	3,42
8	2,04	6,3	8,1	3,7
Ortalama	2,26	8,55	6,31	2,38
Standart Sapma	0,70	1,83	1,56	1,06

(Normal Değerleri : 1.0 - 4.0 $\mu\text{mol}/\text{gr}$ doku)

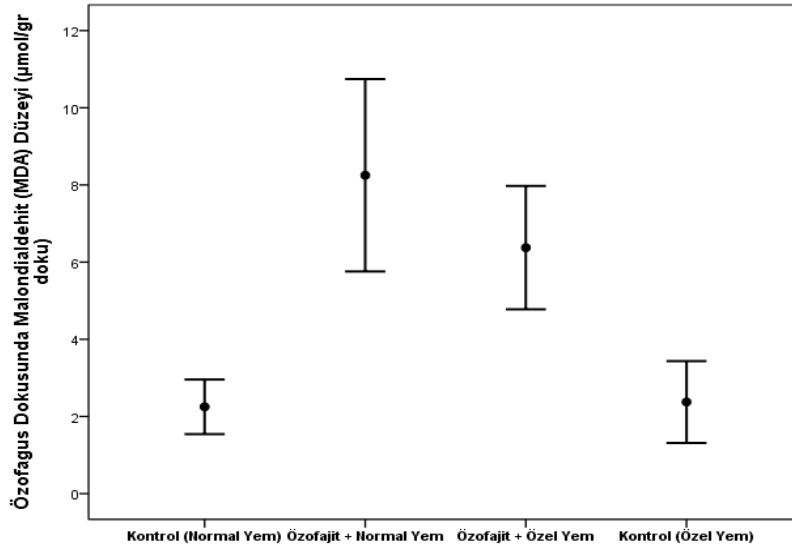
Grup 1 - Grup 2 : $p < 0.01$

Grup 2 - Grup 4 : $p < 0.01$

Grup 1 - Grup 3 : $p < 0.01$

Grup 3 - Grup 4 : $p < 0.01$

Grup 2 - Grup 3 : $p = 0.02$



Şekil 18. Özofagus dokusunda ölçülen doku malondialdehit düzeylerinin grafik gösterimi.

Tablo 8 ve **Şekil 18** sonuçlarına göre: Grup 2 ve Grup 3'teki hayvanların özofagus doku MDA düzeyleri diğer iki kontrol grubu hayvanlarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gösterdi. Grup 2 ve Grup 3 kendi aralarında karşılaştırıldığında ise; Grup 3 MDA düzeyinin Grup 2'ye göre anlamlı oranda daha düşük kaldığı gözlemlendi $p=0.02$.

Özofagus Dokusunda Süperoksit Dismutaz Düzeyleri

Her 4 gruptaki hayvanların distal özofagus parçalarının analizi ile ölçülen doku SOD düzeyleri **Tablo 9**'da ve sonuçların grafik gösterimi **Şekil 19**'da gösterildi.

Tablo 9. Özofagus Dokusunda Süperoksit Dismutaz Düzeyleri (U/gr).

Deney Hayvanları	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
1	91,4	15,8	42,6	76
2	134,2	34	35,8	72,6
3	184	28,2	40,4	102,6
4	114,2	24,8	62,6	91,8
5	68,2	20,6	38,4	126,8
6	72,4	27,8	31,6	77,6
7	61,2	17,3	30,6	98,4
8	80,4	42,6	28,6	45
Ortalama	100,75	26,38	38,82	86,35
Standart Sapma	41,6	8,9	10,7	24,3

(Normal Değerler : 50 - 130 U/gr doku)

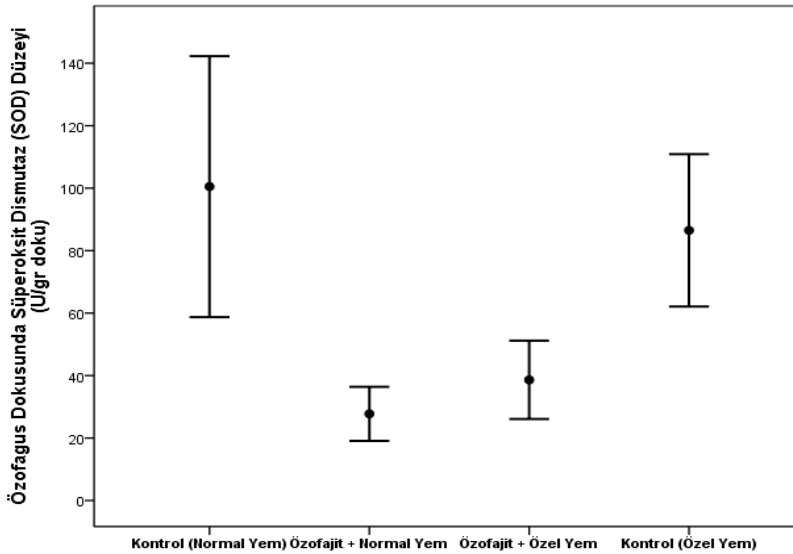
Grup 1 - Grup 2 : $p < 0.01$

Grup 2 - Grup 4 : $p < 0.05$

Grup 1 - Grup 3 : $p < 0.01$

Grup 3 - Grup 4 : $p < 0.05$

Grup 2 - Grup 3 : $p = 0.06$



Şekil 19. Özofagus dokusunda ölçülen doku süperoksit dismutaz düzeylerinin grafik gösterimi.

Tablo 9 ve **Şekil 19** sonuçlarına göre: Grup 2 ve Grup 3'teki hayvanların özofagus doku SOD düzeyleri diğer iki kontrol grubu hayvanlarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüş gösterdi. Grup 2 ve Grup 3 kendi aralarında karşılaştırıldığında ise; iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Grup 1 ile Grup 4 arasında da anlamlı fark yoktu.

Özofagus Dokusunda Katalaz Düzeyleri

Her bir gruptaki hayvanların distal özofagus parçalarının analizi ile ölçülen doku CAT düzeyleri **Tablo 10**'da ve sonuçların grafik gösterimi **Şekil 20**'de gösterildi.

Tablo 10. Özofagus Dokusunda Katalaz Düzeyleri (U/gr doku).

Deney Hayvanları	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
1	4,4	12,75	6,25	4,86
2	3	9,09	7,08	3,42
3	3,66	9,7	7,62	2,56
4	3,1	12,29	9,41	4,19
5	3,78	10,32	8,68	4,88
6	4,24	14,56	10,42	5,56
7	3,59	16,8	9,34	6,2
8	4,87	9,66	7,43	3,92
Ortalama	3,83	11,89	8,27	4,44
Standart Sapma	0,6	2,7	1,4	1,1

(Normal Değerler : 3,50 - 5,50 U/gr doku)

Grup 1 - Grup 2 : $p < 0.01$

Grup 2 - Grup 4 : $p < 0.05$

Grup 1 - Grup 3 : $p < 0.01$

Grup 3 - Grup 4 : $p = 0.07$

Grup 2 - Grup 3 : $p < 0.05$



Şekil 20. Özofagus dokusunda ölçülen doku katalaz düzeylerinin grafik gösterimi.

Tablo 10 ve **Şekil 20** sonuçlarına göre: Grup 2 ve Grup 3'teki hayvanların özofagus doku CAT düzeyleri diğer iki kontrol grubu hayvanlarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gösterdi. Grup 2 ve Grup 3 kendi aralarında karşılaştırıldığında ise; Grup 3 CAT düzeyinin Grup 2'ye göre anlamlı oranda daha düşük kaldığı gözlemlendi $p < 0.05$. Grup 1 ile Grup 4 arasında anlamlı fark yoktu.

Serumda Laktat Düzeyleri

Gruplardaki hayvanların serumlarında ölçülen laktat düzeyleri **Tablo 11**'de ve sonuçların grafik gösterimi **Şekil 21**'de gösterildi.

Tablo 11. Serum Laktat Düzeyleri (mmol/L).

Deney Hayvanları	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
1	4,8	10,3	6,8	6,2
2	4,1	3,4	7,2	3,2
3	4	10,6	8,2	5,2
4	3,3	9,2	3,8	4,7
5	1,7	4,6	3	3,2
6	6,5	6,2	7,3	4,7
7	3,2	8,9	7,8	4,6
8	3,5	9,2	8	4,2
Ortalama	3,9	7,8	6,5	4,5
Standart Sapma	1,3	2,7	1,9	0,9

(Normal Değer: 0,5-5 mmol/L)

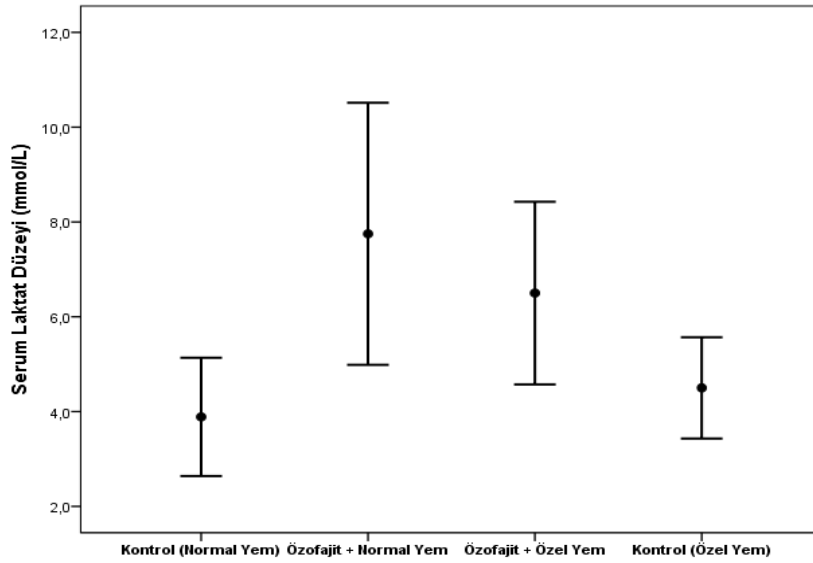
Grup 1 - Grup 2 : $p < 0.01$

Grup 2 - Grup 4 : $p > 0.05$

Grup 1 - Grup 3 : $p < 0.01$

Grup 3 - Grup 4 : $p > 0.05$

Grup 2 - Grup 3 : $p = 0.2$



Şekil 21. Serumda ölçülen laktat düzeylerinin grafik gösterimi.

Tablo 11 ve **Şekil 21** sonuçlarına göre: Grup 2 ve Grup 3'teki hayvanların serum laktat düzeyleri, Grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gösterdi. Grup 2 ve Grup 3 kendi aralarında karşılaştırıldığında ise; anlamlı bir fark yoktu. Grup 2 ve Grup 3'ün; Grup 4 ile karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Serumda Alanin Amino Transferaz Düzeyleri

Gruplardaki hayvanların serumlarında ölçülen ALT düzeyleri **Tablo 12**'de ve sonuçların grafik gösterimi **Şekil 22**'de gösterildi.

Tablo 12. Serum ALT Düzeyleri (U/L).

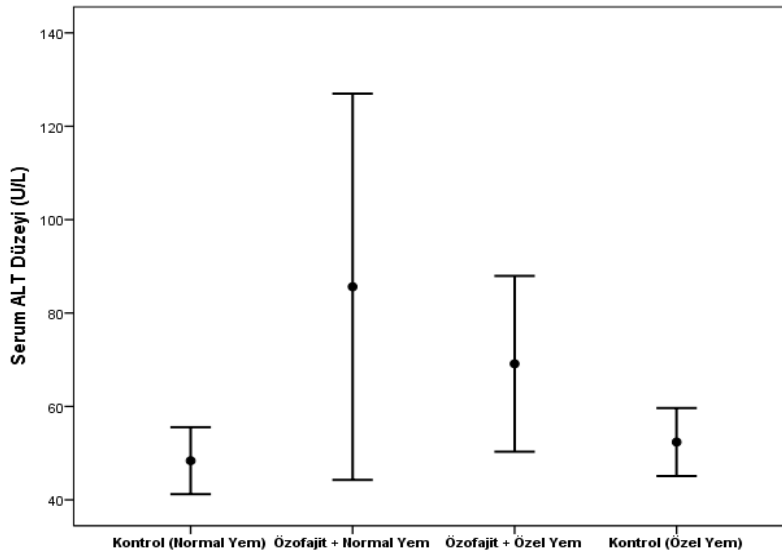
Deney Hayvanları	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
1	64	151	81	41
2	51	58	54	52
3	41	149	78	63
4	49	73	54	48
5	44	62	42	47
6	43	64	63	55
7	46	44	98	61
8	49	84	83	52
Ortalama	48,3	85,6	69,1	52,3
Std. Sapma	7,1	41,3	18,8	7,2

(Normal Değer: 15-65 U/L)

Grup 1 - Grup 2 : $p < 0.05$

Grup 1 - Grup 3 : $p < 0.05$

Grup 2 - Grup 3 : $p > 0.05$



Şekil 22. Serumda ölçülen ALT düzeylerinin grafik gösterimi.

Tablo 12 ve **Şekil 22** sonuçlarına göre: Grup 2 ve Grup 3'teki hayvanların serum ALT düzeyleri, Grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gösterdi. Grup 2 ve Grup 3 kendi aralarında karşılaştırıldığında ise; anlamlı bir fark yoktu. Grup 2 ve Grup 3'ün; Grup 4 ile karşılaştırılmasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi.

Serumda Aspartat Amino Transferaz Düzeyleri

Gruplardaki hayvanların serumlarında ölçülen AST düzeyleri **Tablo 13**'de ve sonuçların grafik gösterimi **Şekil 23**'de gösterildi.

Tablo 13. Serum AST Düzeyleri (U/L).

Deney Hayvanları	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
1	132	942	114	111
2	124	225	248	91
3	194	616	305	130
4	138	212	128	123
5	106	229	90	86
6	122	105	269	122
7	90	77	442	235
8	155	337	155	91
Ortalama	132,6	342,8	218,8	123,6
Std. Sapma	31,6	293,9	119,8	48

(Normal Değer: 8-37 U/L)

Grup 1 - Grup 2 : $p > 0.05$

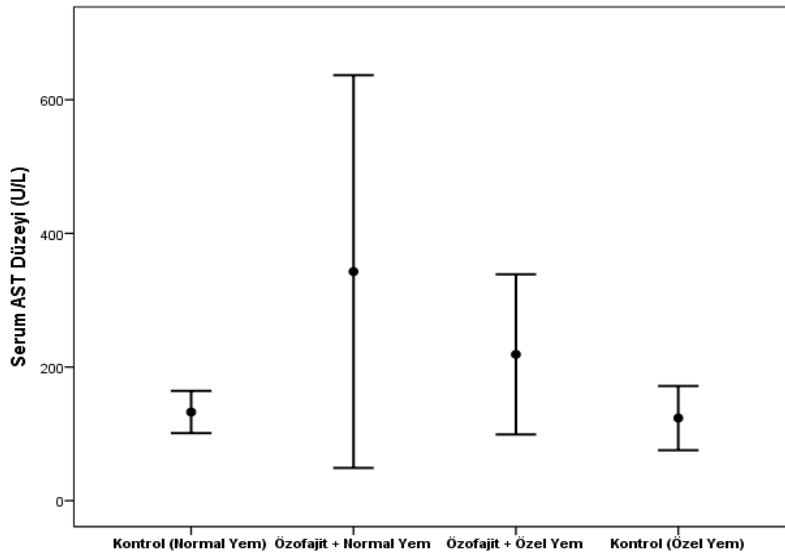
Grup 1 - Grup 3 : $p > 0.05$

Grup 2 - Grup 3 : $p > 0.05$

Grup 1 - Grup 4 : $p > 0.05$

Grup 2 - Grup 4 : $p > 0.05$

Grup 3 - Grup 4 : $p > 0.05$



Şekil 23. Serumda ölçülen AST düzeylerinin grafik gösterimi.

Tablo 13 ve **Şekil 23**'de gösterilen sonuçlara göre: Grup 1, Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'teki hayvanların serum AST düzeylerinin birbirleriyle olan karşılaştırılmalarında istatistiksel olarak anlam taşıyan bir farklılık gözlenmedi.

TARTIŞMA

Deneysel çalışmalar göstermiştir ki; belli etkin maddeler, organ hasarı ile oluşan serbest radikalleri, lipid peroksidasyonunu, lokal inflamasyonu ve ödemi azaltmaktadır.^{58,59,60} Biz de çalışmamızda klinik olarak uygulanabilir ve kolay bir yöntem olan whey proteini ile beslenmenin; bu proteinin antioksidan özelliği ve yara iyileşmesine olumlu etkileri nedeniyle, özofajit üzerine olan koruyucu etkisini gösterdik.^{61,62,63}

Whey proteini ile beslenmenin, etkinliğinin ikinci haftada ortaya çıkmaya başladığı ve üçüncü haftada maksimum düzeye ulaştığı bilindiğinden çalışmamızda deney hayvanlarını üç hafta boyunca whey ile besleyerek önkoşullandırdık.⁵⁷ Bu koşullandırma klinik olarak daha kolay uygulanabilecek bir yöntem olduğu için tercih edildi.

Literatürde pek çok deneysel reflü oluşturulma modeli mevcuttur. Bunlar arasında; pilor ligasyonu, Wendel özofagogastroplasti, total gastrektomi, dışarıdan özofagusa katater yardımı ile asidik ya da bazik madde infüzyonu, hiyatal herni oluşturulması ile birlikte mukozanın kısmi eksizyonu, özofagogastrostomi, özofagoduodenostomi, özofagojejunostomi, kardiamyotomi ve parsiyel kardiamyektomi sayılabilir.^{64,65,66,67}

Ancak; Omura ve arkadaşlarının 1999 yılında sıçanlarda mide fundusunun bağlanması ve gastroduodenal bileşkenin daraltılması şeklindeki kronik GÖR modelini oluşturması ve on gün süre ile reflü oluşturdukları sıçanların özofaguslarında kronik reflünün histopatolojik bulgularını saptamaları,⁶⁸ bizim bu çalışmamızda kullandığımız ve literatürde sıklıkla kullanılan deneysel kronik GÖR modelini örnek almamızı sağlamıştır.^{69,70}

Yara iyileşmesinin hızlandırılması bir çok deneysel ve klinik çalışmanın amacıdır. Yara iyileşmesinin erken inflamasyon fazı, serbest oksijen radikallerinin aşırı artışı ile birlikte seyretmektedir.⁷¹ Oksidatif stres; serbest oksijen radikalleri ve koruyucu antioksidan mekanizma arasında bir dengesizlik olduğunda oluşur.⁷² İnflamasyon fazında; yara sahasına ilk giren ve yara iyileşmesinin erken fazında inflamasyon sahasının bakteri ve fagositer hücre debrislerinden temizlenmesinde anahtar rol oynayan nötrofil ve makrofajlardan salınan oksijen radikalleri doku hasarına neden olurlar.^{73,74}

Çalışmamızda özofagus distal kısmının histopatolojik incelemesinde; reflü oluşturulan gruplara ait özofagus preparatlarında, kontrol gruplarına göre özofajiti destekleyen bulgular saptanmış olup, reflü oluşturulması sonrası standart yemle beslenen gruba kıyasla, whey proteinle beslenen grupta özofajit hasarının daha az olduğunu saptadık. Sonuçta;

histopatolojik sonuçlarımız whey proteininin, reflü oluşturulan ratlarda koruyucu etkinliğinin olduğunu doğrulamaktadır.

Mide girişinin histopatolojik değerlendirme sonuçları ise; whey proteininin, mide gastrit, ülser gelişimi açısından koruyucu olabileceğini desteklemektedir. Öner ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, whey proteini ile beslenmenin hasarlı dokuda ödemi ve inflamasyonu azalttığını histopatolojik olarak göstermiş ancak kollajen depolama ve yara iyileşmesinde önemli yararı olan göstergeleri açığa çıkaramamışlardır.⁶³ Bu çalışma, ödem ve inflamasyonun azaltılması şeklindeki sonuçları ile bizim çalışmamızı desteklemektedir.

Özofagus distal kısmının apoptoz açısından değerlendirmesinde tüm gruplarda belirgin apoptoz saptanmadı. Mide girişinin apoptoz açısından değerlendirmesinde ise reflü oluşturulan ratlarda, kontrol grubuna göre belirgin apoptoz saptanmasına rağmen whey proteini ve standart yemle beslenmiş reflü oluşturulan ratlarda anlamlı fark saptanmadı. Hasarlı özofagus dokularının histopatolojik değerlendirmesi hem morfolojik olarak yapılmış hem de apoptoz miktarı ölçülmüştür. Apoptoz indeksi bakılması ucuz ve kolay bir yöntemdir, ancak parçalanmış DNA'ların terminal transferaz aracılığı ile dUDP-biotin kullanılarak işaretlenmesi yöntemine (TUNNEL) üstünlüğü ise tartışmalıdır.³⁹ Çalışmamızda histolojik parametrelerle yapılan değerlendirmede anlamlı farklılık saptanmasına rağmen apoptoz değerlendirmesinde anlamlı değişiklik saptanmamasının nedeni bu olabilir.

Alt özofagustaki erozyon, stenoz, ülser ve metaplastik epitel gibi bazı patolojik durumlar kronik reflü özofajitin komplikasyonu olarak ortaya çıkarlar.^{75,76} Çoğu zaman özofagustaki inflamasyon, ülser ve skuamöz epitelde oluşan hasarın, reflü sonucu asidik mide içeriğine bağlı geliştiği düşünülmektedir.⁷⁷ GÖR esnasında oluşan özofageal hücre hasarının gerçek patofizyolojik mekanizması, asit reflüsü ile tam olarak açıklanamamaktadır. Bununla birlikte, son zamanlardaki çalışmalara göre; reflü özofajite bağlı gelişen mukozal hasarın, asit etkisinden çok, serbest oksijen radikallerine bağlı geliştiği ileri sürülmektedir.^{78,79} Bu hipoteze göre gastroözofageal reflü; serbest oksijen radikallerinin meydana gelmesini artırır ve takiben özofageal mukozal hasara neden olur.^{78,79,80,81}

Çeşitli antioksidanların verilmesi ile özofagus mukoza hasarının önlenebildiği gösterilmiştir.⁸² Ratlarda; SOD gibi antioksidan maddeler verildiğinde, özofajitin neredeyse tamamen ortadan kalktığının gösterilmesi nedeni ile, serbest radikaller, reflünün tetiklediği özofageal hasarın en önemli sebebi olarak görülmüşlerdir.⁸² Başka bir çalışmada ise, kemoterapi ve radyoterapi sonrası intestinal mukozit oluşturulan ratlarda, whey proteini ile beslenmenin epitel hasarına koruyucu etkisi olduğu histopatolojik inceleme ile gösterilmiştir.⁸³ Wetscher ve arkadaşlarının yaptığı bir klinik çalışmada ise, normal kontrol

grubu ile karşılaştırıldığında, reflü özofajitli hastaların distal özofagus biyopsi örneklerinde, serbest oksijen radikallerinin üretiminde artış olduğu gösterilmiştir.⁷⁸

Serbest oksijen radikallerinin üretiminde artış; serbest radikallerin neden olduğu hücre membran hasarının hassas göstergesi olan özofageal mukozal lipid peroksidasyonunda artışla birlikte. Ortamdaki oksijen kaynaklı serbest radikaller, antioksidan mekanizmanın kapasitesini aştığında, perokside olmuş lipidler tarafından hücreler hasara uğrattırılır. Bu lipid peroksidasyonunun önemli bir göstergesi de MDA ölçümüdür. Bizim çalışmamızda da reflü oluşturulan gruplardaki özofagus MDA düzeyleri diğer iki kontrol grubu hayvanlarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış gösterdi. Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA aslında oluşan oksidatif hasarın düzeyini gösteren önemli bir göstergedir. Yüksek MDA düzeyi, çalıştığımız dokularda belirgin bir inflamasyon ve hasar olduğunu ispatlamaktadır. Reflü oluşturulan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında ise; whey proteini ile beslenen grubun MDA düzeyinin, standart yemle beslenen grubun aksine daha düşük kaldığı saptandı. Yani whey proteini ile beslenmenin reflü oluşturulan ratlarda antioksidan etkinliği arttırdığını gösterdik.

Süperoksit anyonunun; H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüştürülmesini katalizleyerek organizmayı toksik reaktif oksijen metabolitlerine karşı koruyan SOD düzeyi ölçümlerinde; reflü oluşturulan gruplardaki SOD düzeyleri, kontrol grubu hayvanlarına göre anlamlı düzeyde azalış göstermiştir. SOD koruyucu bir enzim olması nedeniyle, oksidatif stres durumunda, zararlı oksidatif maddelerin elimine edilmesindeki çeşitli biyokimyasal tepkimelerde görev alarak harcanması nedeniyle, hasarlı dokulardaki ölçümlerinde düşük çıkması beklenir. Normal yemle beslenen reflülü ratlarda SOD düzeyi, whey proteini ile beslenen gruba göre düşük bulunmuştur. Fakat aradaki fark anlamlı bulunmamıştır. Daha geniş sayıda hayvanla yapılacak çalışmalarda bu farklılığın istatistiksel anlam taşıyabileceğini düşünmekteyiz.

H_2O_2 'yi direkt olarak suya dönüştüren CAT enzim aktivitesi, H_2O_2 konsantrasyonunun arttığı durumlarda belirgin olarak artış gösterir. Doku hasarı ve inflamasyonun artış gösterdiği özofajitli olgularda doku CAT aktivitesinin artması da kaçınılmaz bir sonuçtur.⁴⁶ Bizim ölçümlerimizde de özofagus dokusunda ölçülen katalaz düzeyleri; reflü oluşturulan gruplardaki hayvanlarda; kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde artış göstermiştir. Whey proteini ile beslenen reflü oluşturulan ratlardaki CAT düzeyinin standart yemle beslenen reflülü ratlara oranla anlamlı oranda düşük kalmasını da; oluşan hasar ve inflamasyonun diğer gruba göre daha az olması ile açıklayabiliriz. Diğer bir deyişle whey proteinleri koruyucu antioksidan ve yara iyileştirici etkileri ile hasarlı dokulardaki H_2O_2 konsantrasyonunun daha

düşük kalmasına ve doku katalaz düzeyinin de buna bağlı olarak daha az artış göstermesine neden olmuş olabilir.

Serum laktat analizleri sonucu; özofajit oluşturulan gruplarda laktat düzeyinin normal değerlerin üzerine çıktığını, kontrol gruplarında ise serum laktatının normal düzeylerde kaldığını gözlemledik. Özofajitli gruplarla, kontrol grupları arasındaki laktat düzey farklılıkları istatistiksel olarak anlamlı idi. Whey proteini alan ve standart yemle beslenen özofajitli gruplar arasında belirgin bir farklılık saptamadık. Laktat; doku hasarının akut bir göstergesi olmakla birlikte, kronik doku hasarında çeşitli kompensatuar mekanizmaların devreye girmesi ile ileri asidoz olmayabilir. Ayrıca distal özofagusta ve mide proksimalinde oluşturduğumuz hasar ve inflamasyon artışı tüm vücudu düşünürsek oldukça az miktarda dokuyu ilgilendirmektedir. Oysa büyük bir organ hasarı veya ekstremitte gibi daha fazla doku içeren hasarlarda, laktat düzeyinin daha fazla yükselmesi ve kanda belirgin bir laktik asidoz olması beklenir. Serum laktat artışı, vücut doku hasarının önemli bir göstergesi olarak kabul edilmesine rağmen, laktatın doku hipoksisi ve yaralanmasının güvenilir bir göstergesi olmadığını ileri süren ciddi araştırmalar da mevcuttur.⁸⁴ Bu nedenlerle, çalışmamızdaki serum laktat sonuçları sistemik dolaşımdan alınan kandan çalışıldığı için hipotezimizi desteklemekle birlikte ispatlayıcı değer taşımayabilir.

Özofagus ve mide dokusu yüksek oranda transaminaz içermemektedir. Transaminazlar daha çok karaciğer, kalp ve beyin gibi daha büyük doku ve organlarda bulunmakta ve bu dokuların hasarı ile sistemik kanda yüksek transaminaz düzeyi oluşmaktadır. Distal özofagus ve proksimal mideyi içeren yaptığımız deneysel hasar prosedüründe hem hacim olarak çok küçük dokular tutulmuş, hem de bu dokular bilindiği üzere ALT ve AST enzimlerini düşük oranda içermektedir. Bu nedenlerle serum transaminaz düzeylerinin gruplarımız arasında anlamlı oranda değişiklik göstermemesi beklenen bir durumdur. Özofajit oluşturulan her iki gruptaki transaminaz yükseklikleri, çalıştığımız özofagus ve mide dokusundan ziyade oluşturduğumuz prosedür esnasındaki gastrointestinal manüplasyona, major bir operasyon yapılmasına veya anestezi ilaçlara da bağlı olabilir.

Sonuçta; antisekretuar ilaçlarla yapılan medikal tedavi, eğer serbest radikal oluşumu azaltılmazsa veya oluşan serbest radikaller temizlenmezse yeterince etkili olamamaktadır. Bu durum, reflü özofajitli hastalarda medikal tedavi başarısının düşük olmasını da açıklayabilmektedir. Reflü özofajit tedavisinde antioksidanların önemi hayvan kanser modellerinde ve insan kanserlerinin karsinogenezisi ile ilişkisi çok uzun zamandır bilinen oksidatif hasar gerçeğiyle ilişkilidir.^{80,81} Ayrıca oksidatif hasarın, Barrett özofagus ile yakın

ilişkili olduğu bilinmektedir.⁸⁵ Reaktif oksijen derivelerinin, özofajitin derecesi arttıkça artış gösterdikleri ve Barrett özofagusta en fazla yükseldikleri bilinmektedir.⁸⁶

Bizim çalışmamız da; literatürde rastladığımız çeşitli antioksidanların özofajit gelişimini yavaşlattığı şeklindeki labarotuar çalışmalarını desteklemektedir. Çalışmamızda antioksidan olarak ilk defa tarafımızdan whey proteinleri reflü özofajit gelişimini yavaşlatmak amacı ile antioksidan olarak kullanılmıştır. Fakat whey proteinlerinin reflü özofajitin medikal tedavisinde antisekretuar medikasyonlara olan üstünlüğünü araştırmak için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızı kısıtlayan bir neden; insanda oluşmuş GÖRH’da whey proteini kullanımı ile elde edilecek olan antioksidan etki için gerekli olan dozaj ve kullanım süresinin ortaya konulamamış olmasıdır. Deney hayvanlarında oluşturulan reflü modeli, insandaki GÖRH ile aynı patolojik temele sahip olmakla birlikte oluşum mekanizmasındaki bazı farklılıklar nedeni ile insanda whey protein ile beslenmenin benzer histopatolojik ve biyokimyasal sonuçları verip vermeyeceği öngörülememektedir. Whey proteinleri kısa dönemde özofajit üzerine koruyucu olmakta fakat insanlarda kronik bir hastalık olan GÖRH’nın uzun süreli takibinde devamlı whey proteini ile beslenmenin vereceği uzun dönem sonuçların, hayvan modellerinde ortaya konulması gereklidir.

Sonuç olarak; serbest oksijen radikalleri, reflü özofajit gelişimde en önemli mediyatörler olarak görülmektedir. Antireflü tedavide kullanılan, medikal tedavi seçeneklerinden biri olan antisekretuar tedavinin yanında, antioksidan ilaçların da kullanımının, ileriki yıllarda bu konuda yapılan çalışmaların artması ile beraber ön planda olacağı görülmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- Ogorek CP (ed). Gastroesophageal Reflux Disease. Bockus 5. edition, vol 1, WB Saunders Company, New York, 1995 pp. 445-467.
- 2- DeVault KR, Castell DO. Updated guidelines for the diagnosis and treatment of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2005;100:190-200.
- 3- Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R; Global Consensus Group. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1900-1920.
- 4- Dent J, EL-Serag HB, Wallander MA, Johansson S. Epidemiology of gastroesophageal reflux disease: A systematic review. *Gut* 2005;54:710-717.
- 5- Bor S, Mandiracioglu A, Kitapcioglu G, Caymaz-Bor C, Gilbert RJ. Gastroesophageal reflux disease in a low income region in Turkey. *Am J Gastroenterol* 2005;100:759-765.
- 6- Uslu Tuğtepe E (Uzmanlık Tezi). Gastroözofageal reflü sıçan modelinde 15., 30. ve 60. günlerde akciğer dokusundaki histopatolojik değişiklikler. Heybeliada Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul 2004.
- 7- Kahrilas PJ, Pandolfino JE. Gastroesophageal reflux diseases and its complications, including Barrett's metaplasia. In: Feldman M, Scharschmidt BF, Sleisenger MH (eds). *Sleisenger and Fordtan's Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology/ Diagnosis/ Management Vol 1*. 7. edition, Elsevier, Philadelphia 2002 pp. 1192.
- 8- Crawford JM. The gastrointestinal tract. Robbins SL, Cotran RS, Kumar V, Collins T (eds). *Robbins Pathologic Basis of Disease*, 6. edition, WB Saunders Company, New York 1999 pp. 780-781.
- 9- Clemente G, D'Ugo D, Granone P, Picciocchi A. Intraoperative esophageal manometry in surgical treatment of achalasia: A reappraisal. *Hepatogastroenterol* 1996;43:1532-1536.
- 10- Galmiche JP, Janssens J. The pathophysiology of gastroesophageal reflux disease: An overview. *Scand J Gastroenterol* 1995;suppl 211:7-18.
- 11- Katzka DA, Sidhu M, Castell DO. Hypertensive lower esophageal sphincter pressures and gastroesophageal reflux: An apparent paradox that is not unusual. *Am J Gastroenterol* 1995;90:280-284.

- 12- Kepenekçi İ, Türkçapar AG. Hiatal herni ve gastroözefageal reflü hastalığı. In: Ulusoy AN (ed). Sabiston Textbook of Surgery. The Biological Basis of Modern Surgical Practice (Türkçe Çevirisi). 17. edition. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 2010 pp. 1151-1168.
- 13- Zaninotto G, Anselmino M, Constantini M, Boccu C, Ancona E. Laparoscopic treatment of gastro-esophageal reflux disease: Indications and results. *Int Surg* 1995;80:380-385.
- 14- Orlando RJ. Reflux esophagitis. In: Yamada T, Alpers DH, Laine L, Owyang C, Powel DW (eds). *Textbook of Gastroenterology*, Chapter 58, 3. edition , Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 1999 pp. 1235-1263.
- 15- Schlesinger PK, Donahue PE, Schimid B, Layden TJ. Limitations of 24- hour intraesophageal PH monitoring in the hospital setting. *Gastroenterol* 1985;89:797-804.
- 16- Merck M, Kyung H, Tomasz Z, Cezary P, William G, George GG, et al. The potential role of the esophageal pre-epithelial barrier components in the maintenance of the integrity of the esophageal mucosa in patients with endoscopically negative gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2000;95:1652-1660.
- 17- Orlando RC. Pathophysiology of gastroesophageal reflux disease: Esophageal epithelial resistance. In: Castell DO (ed). *The Esophagus*. Little Brown Inc., Boston, 1995 pp. 455-468.
- 18- Tobey NA. Systemic factors in esophageal mucosal protection. *Digestion* 1995;56:38-44.
- 19- Meyers RL, Orlando RC. In vivo bicarbonate secretion by human esophagus. *Gastroenterol* 1992;103:1174-1178.
- 20- Hampel H, Abraham NS, El-Serag HB. Meta-analysis: obesity and the risk for gastroesophageal reflux disease and its complications. *Ann Intern Med* 2005;143:199-211.
- 21- Silverstein FE, Tytgat GNJ (eds). *Gastrointestinal Endoscopy*. 3. edition, Mosby Pub. Ltd. Philadelphia 1997 pp. 38-46.
- 22- Fitzgerald RC, Onwuegbusi BA, Bajaj-Elliot M, Saeed IT, Burnham WR, Farthing MJ. Diversity in the oesophageal phenotypic response to gastro-oesophageal reflux: immunological determinants. *Gut* 2002;50:451-459.
- 23- Cohen S. Diseases of the esophagus. In: Goldman (ed). *Cecil Textbook of Medicine* 21. edition, WB Saunders Company, New York 2000 pp. 659-663.
- 24- Beattie RM. Diagnosis and management of GER. *Current Paediatrics* 2001;11:269-275.
- 25- Dent J. Long-term aims of treatment of reflux disease, and the role of non-drug measures. *Digestion* 1992;51(Suppl 1):30-34.
- 26- Peters JH, DeMeester TR. Esophagus and diaphragmatic hernia. Chapter 24. In: Schwartz SI, Spencer FC, Daly JM, Fischer JE, Galloway AC (eds). *Schwartz's Principles of Surgery*. 7. edition. McGraw-Hill Companies, New York 1999 pp. 835-931.

- 27- Triadafilopoulos G. Acid and reflux in Barrett's esophagus: A tale of two evils. *Gastroenterol* 2001;121:1502-1505.
- 28- McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Eng J Med* 1985;312:159-163.
- 29- Dabrowski A, Konturek SJ, Konturek JW, Gabryelewicz A. Role of oxidative stress in the pathogenesis of caerulein-induced acute pancreatitis. *Eur J Pharmacol* 1999;377:1-11.
- 30- Kumar V. Cellular degeneration and adaptation. In: Kumar V, Cotran RS, Robbins SL (eds). *Basic Pathology*, WB Saunders, Philadelphia 1996 pp. 8-24.
- 31- Sies H. Oksidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med* 1991;91 (suppl 3c):31S-38S.
- 32- Haklar G, Yüksel M, Yalçın AS. Chemiluminescence in the measurement of free radicals: theory and application on a tissue injury model. *Marmara Med J* 1998;11:56-60.
- 33- Meister A. New aspects of glutathione biochemistry and transport selective alteration of glutathione metabolism. *Nutr Rev* 1984;42:397-410.
- 34- Tathesi N, Higashi T, Shinya S. Studies on regulation of glutathione. *J Hepatol* 2001;35:663-665.
- 35- Champe PC. Enzymes. In: Champe PC, Harvey R (eds). *Review of Biochemistry*, Lippincott's Series, Baltimore 1997 pp. 47-48.
- 36- Charles C. Cellular injury by oxidants. *Am J Med* 1991;91(suppl 3C):23S-30S.
- 37- Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis. A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26:239-257.
- 38- Norimura T, Nomoto S, Katsuki M, Gondo Y, Kondo S. p53 dependent apoptosis suppress radiation-induced teratogenesis. *Nat Med* 1996;2:577-580.
- 39- Renahan AG, Booth C, Potten CS. What is apoptosis and why is it important? *BMJ* 2001;322:1536-1538.
- 40- Gibson RM. Does apoptosis have a role in neurodegeneration? *BMJ* 2001;322:1539-1540.
- 41- Schauer RJ, Gerbes AL, Vonier D, Meissner H, Michl P, Leiderer R, et al. Glutathione protects the rat liver against reperfusion injury after prolonged warm ischemia. *Ann Surg* 2004;239:220-231.
- 42- Seven A, Candan G. Antioksidant defense systems. *Cerrahpaşa J Med* 1996;27:41-50.
- 43- Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem* 2004;266:37-56.
- 44- Colton CA, Gilbert DL (eds). *Reactive Oxygen Species in Biological Systems: An Interdisciplinary Approach*. Springer, New York, 1999.

- 45- Karihtala P, Soini Y. Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *APMIS* 2007;115:81-103.
- 46- Halliwell B. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase: solutions to the problem of lung with oxygen. *New Phyto* 1974;73:1075-1086.
- 47- Reilly PM, Schiller HJ, Bulkley GB. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg* 1991;161(4):488-503.
- 48- Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 1994;74(1):139-162.
- 49- Scandalios JG. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Braz J Med Biol Res* 2005;38(7):995-1014.
- 50- Hochachka PW, Mommsen TP. Protons and anaerobiosis. *Science* 1983;219:1391-1397.
- 51- Robergs R, Ghiasvand F, Parker D. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;287:502-505.
- 52- Gladden LB. Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *J Physiol* 2004;558:5-30.
- 53- Manukyan MN, Yavuz Y, Erbarut İ, Velioglu A, Ataizi-Çelikel Ç, Yalçın SA, et al. Sıçanlarda whey proteini ile oluşturulan glutatyon önkoşullandırılmasının karaciğer sıcak iskemi/reperfüzyon hasarında hem oksijenaz-1 sistemi üzerine etkisi. *Ulusal Cerrahi Derg* 2008;24:137-144.
- 54- Bounaus G, Batist G, Gold P. The immunoenhancing property of dietary whey protein: role of glutathione. *Clin Invest Med* 1989;12:154-161.
- 55- Swaisgood ME. Characteristics of edible fluids of animal origin: Milk. In: Fennema OR (ed). *Food Chemistry*, 2. edition, Marcel Dekker Inc. New York, 1985 pp.796.
- 56- Yunginger WJ. Immunology allergy. In: Behrman RE, Kliegman RM (eds). *Nelson's Essential of Pediatrics*. 2. edition, Saunders, New York, 1994 pp. 249-281.
- 57- Öğünç AV, Manukyan MN, Cingi A, Aktan Ö, Yalçın S. Süt serum proteinleri ile beslenmenin sıçanlarda yara yeri iyileşmesine etkisi. *Kocatepe Tıp Derg* 2004;5:51-54.
- 58- Alican I, Unluer EE, Yegen C, Yegen BC. Bombesin improves burn-induced intestinal injury in the rat. *Peptides* 2000;21:1265–1269.
- 59- Sener G, Sehirli AO, Satiroglu H, Keyer-Uysal M, Yegen BC. Melatonin prevents oxidative kidney damage in a rat model of thermal injury. *Life Sci* 2002;70:2977-2985.
- 60- Sener G, Sehirli AO, Satiroglu H, Kacmaz A, Ayanoglu-Dulger G, Yegen BC. Octreotide improves burn-induced intestinal injury in the rat. *Peptides* 2003;24:123-127.

- 61- Ebaid H, Salem A, Sayed A, Metwalli A. Whey protein enhances normal inflammatory responses during cutaneous wound healing in diabetic rats. *Lipids Health Dis* 2011;10:235.
- 62- Gad AS, Khadrawy YA, El-Nekeety AA, Mohammed SR, Hassan NS, Abdel-Wahhab MA. Antioxidant activity and hepatoprotective effects of whey protein and spirulina in rats. *Nutrition* 2011;27:582-589.
- 63- Öner ZO, Velioglu Ögünç A, Cingi A, Bozkurt Uyar S, Yalçın AS. Whey feeding suppresses the measurement of oxidative stress in experimental burn injury. *Surg Today* 2006;36:376-381.
- 64- Xu Z, Hu T, Liu W. A new procedure in making reliable experimental models of gastroesophageal reflux. *J Reparative Reconst Surg* 2004;18:288-290. Chinese.
- 65- Li Y, Martin RCG. Reflux injury of esophageal mucosa: Experimental studies in animal models of esophagitis, Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma. *Dis Esophagus* 2007;20:372-378.
- 66- Erbil Y, Türkoğlu U, Barbaros U, Balık E, Olgaç V, Kaya H, et al. Oxidative damage in an experimentally induced gastric and gastrodeudenal reflux model. *Surg In Nov* 2005;12:219-225.
- 67- Aldazabal P, Lopez de Torre B, Uriarte S, Gorostiaga L, San Vicente M, Ruiz I, et al. Experimental gastro-esophageal reflux in rats. *Chir Pediatr* 1990;31:245-250.
- 68- Omura N, Kashiwagi H, Chen G, Suzuki Y, Yano F, Aoki T. Establishment of surgically induced chronic reflux esophagitis in rats. *Scand J Gastroenterol* 1999;34:948-953.
- 69- Gaia Filho EV, Goldenberg A, Costa HO. Experimental model of gastroesophageal reflux in rats. *Acta Cir Bras* 2005;20:437-444.
- 70- Zheng CX, Wang ZQ, Lin WB, Chu ZH, Chen LH, Ji ZQ. Expression of heat shock protein 27 in the esophageal tissue of rats with reflux esophagitis. *Chin Med J* 2011;124:2347-2353.
- 71- Lim Y, Levy MA, Bray TM. Dietary supplementation of N-acetylcysteine enhances early inflammatory responses during cutaneous wound healing in protein malnourished mice. *J Nutr Biochem* 2006;17:328-336.
- 72- Shen W, Shi D, Wand D, Guo Y, Hai S, Yue Z. Quinestrol treatment induced testicular damage via oxidative stress in male Mongolian Gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Exp Anim* 2011;60:445-453.
- 73- Park BK, Lee S, Seo JN, Rhee JW, Park JB, Kim YS, et al. Protection of burn-induced skin injuries by the flavonoid kaempferol. *BMB Rep* 2010;43:46-51.

- 74- Niki E, Yamamoto Y, Komuro E, Sato K. Membrane damage due to lipid peroxidation. *Am J Clin Nutr* 1991;53:201-205.
- 75- Ismail Beigi F, Horton PF, Pope CD. Histological consequences of gastroesophageal reflux in men. *Gastroenterol* 1970;58:163-174.
- 76- Kobayashi S, Kasugai T. Endoscopic and biopsy criteria for the diagnosis of esophagitis with a fiberoptic esophago-scope. *Am J Dig Dis* 1974;19:345-352.
- 77- Hirschowitz BI. A critical analysis, with appropriate controls of gastric and pepsin secretion in clinical esophagitis. *Gastroenterol* 1991;101:1149-1158.
- 78- Wetscher GJ, Hinder RA, Bagchi D, Hinder PR, Bagchi M, Perdakis G, et al. Reflux esophagitis in human is mediated by oxygen-derived free radical. *Am J Surg* 1995;170:552-557.
- 79- Wetscher GJ, Perdakis G, Kretchmar DH, Stinson RG, Bagchi D, Redmond EC, et al. Esophagitis in Sprague-dawley rats is mediated by free radicals. *Dig Dis Sci* 1995;40:1297-1305.
- 80- Chen X, Ding YW, Yang GY, Bondoc F, Lee MJ, Yang CS. Oxidative damage in an esophageal adenocarcinoma model with rats. *Carcinogenesis* 2000;21:257-263.
- 81- Wetscher GJ, Hinder RA, Klingler P, Gadenstatter M, Perdakis G, Hinder PR. Reflux esophagitis in humans is a free radical event. *Dis Esophagus* 1997;10:29-32.
- 82- Wetscher GJ, Hinder RA, Bagchi D, Perdakis G, Redmond EJ, Glaser K, et al. Free radical scavengers prevent reflux esophagitis in rats. *Dig Dis Sci* 1995;40:1292-1296.
- 83- Howart GS, Francis GL, Cool JC, Xu X, Byard RW, Read LC. Milk growth factors enriched from cheese whey ameliorate intestinal damage by methotrexate when administered orally to rats. *J Nutr* 1996;126:2519-2530.
- 84- James JH, Luchette FA, McCarter FD, Fischer JE. Lactate is an unreliable indicator of tissue hypoxia in injury or sepsis. *Lancet* 1999;354:505-508.
- 85- Goldstein SR, Yang GY, Curtis SK, Reuhl KR, Liu BC, Mirvish SS, et al. Development of esophageal metaplasia and adenocarcinoma in a rat surgical model without the use of a carcinogen. *Carcinogenesis* 1997;18:2265-2270.
- 86- Spechler SJ. Comparison of medical and surgical therapy for complicated gastroesophageal reflux disease in veteran. *N Engl J Med* 1992;326:786-792.

EK 1 : ETİK KURUL ONAYI

T.C.



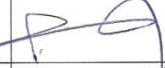

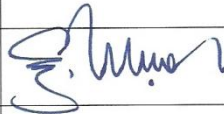

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

EDİRNE

Oturum Sayısı: 02
KARAR NO: 2012.02.11

Karar Tarihi: 30.03.2012

Yürütücülüğünü Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç.Dr.Manuk Norayk Manukyan'ın yaptığı Araş. Gör. Dr. Melda Canbaz tıpta uzmanlık tezi olarak planlı TÜHDYK-2012/26 rotokol nolu "Deneysel gastroözofageal reflü oluşturulan ratlarda; whey proteinleri ile zenginleştirilmiş beslenmenin reflü özofajit gelişimine etkisinin biyokimyasal ve patolojik olarak gösterilmesi." başlıklı çalışma görüşme başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Yrd.Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivi Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Enis ULUÇAM Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr.Hakan GÜRKAN Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Osman GÜLTEKİN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	

EK 2 :

Çalışma; Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları Laboratuvarında ve aynı birimden hayvanlar tedarik edilerek gerçekleştirildi. Biyokimyasal analizler Maltepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi Merkez Laboratuvarında ve histopatolojik değerlendirmeler Maltepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalında gerçekleştirildi.