

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA EPİDERMAL GROWTH FACTOR (EGF) EKSİKLİĞİ
VE ETANOL İLE İNDÜKLENEN GASTRİK ÜLSER OLUŞUMUNUN
İNCE YAPI DÜZEYİNDE ARAŞTIRILMASI**

Şennur ORUÇ KETANİ

DOKTORA TEZİ

121417

(BİYOLOJİ ANABİLİM DALI)

TC. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
TEZ YERLEŞTİRME MERKEZİ

DİYARBAKIR
ŞUBAT - 2002

T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

DİYARBAKIR

Bu çalışma, jürimiz tarafından, Biyoloji Anabilim Dalı'nda DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir

Jüri Üyesinin Ünvanı, Adı - Soyadı

Başkan: Prof.Dr.Kadri BALCI..... 

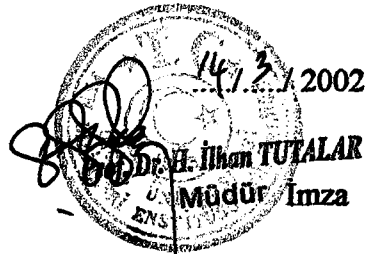
Üye : Doç. Dr. Davut MUSA..... 

Üye : Doç. Dr. Mehmet BAŞHAN..... 

Üye : Doç. Dr. Kemal GÜVEN..... 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Birgül OTLUDİL..... 

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.



Ünvanı, Adı-Soyadı
Enstitü Müdürü
(Mühür)

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada, büyük yardımlarını ve desteğini gördüğüm danıőman hocam sayın Prof. Dr. Kadri BALCI'ya, deneysel ve laboratuvar çalıőmalarımı sürdürdüğüm D. . Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi (DSAM) Müdürü sayın Prof. Dr. Seçkin GÜNDÜZ'e, DSAM personeline, deneysel ve histolojik çalıőmalarımda desteğini gördüğüm Yrd. Doç.Dr. M. Aydın KETANı'ye, mide mukus tayininde yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Doğan KURT'a ve istatistiksel bilgilerin değerlendirilmesinde yardımcı olan Öğr. Gör. Ersin UYSAL'a teőekkürlerimi sunarım. Ayrıca, ince kesitlerin hazırlanması ve değerlendirilmesi aőamasında yardımda bulunan Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Elektron Mikroskobu nitesi Sorumlusu sayın Doç. Dr. Candan ZOĞL hocama sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.



İÇİNDEKİLER

Teşekkür	i
İçindekiler	ii
Amaç	iii
Özet	iv
Summary	v
1. GİRİŞ	1
1.1. Epidermal Growth Faktör (EGF)	1
1.2. Epidermal Growth Faktörün Biyolojik Etkileri	3
1.3. Mide- Barsak Mukozasının Korunma Mekanizmaları	5
1.3.1. Mukus-Bikarbonat Bariyeri	5
1.3.2. Yüzey Epitel Hücreleri	7
1.3.3. Mukozal Yenilenme	7
1.3.4. Kan Akımı	8
1.3.5. Asit-Baz Dengesi	8
1.3.6. Asit Sekresyonu	8
1.3.7. Endojen Sülfidril Grupları	9
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	10
3. MATERYAL VE METOD	14
4. BULGULAR	17
4.1. Mide Mukozasında Şekillenen Makroskobik Lezyonlar	17
4.2. Spektrofotometrik Olarak Mide Mukus Düzeyindeki Değişiklikler	21
4.3. Işık Mikroskobik Bulgular	25
4.3.1. Mide Yüzeyinde Yer Alan Mukus Tabakasındaki Değişikliklerin Işık Mikroskobik Değerlendirilmesi	25
4.3.2. Mide Mukoza Tabakasındaki Değişikliklerin Işık Mikroskobik Değerlendirilmesi	29
4.4. Mide Mukozasında Şekillenen Değişikliklerin İnce Yapı Düzeyinde Değerlendirilmesi	33
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	48
6. KAYNAKLAR	53
7. ÖZGEÇMİŞ	59

AMAÇ

Deneyisel olarak ülser modeli, sıçanların hareketsizliği (immobilizasyon), mideyi irrite eden ilaçlar (aspirin, indometazine, kortizon, vs) ve alkol uygulamasına bağlı olarak şekillenmektedir.

Son yıllarda deney hayvanlarında mide ülserlerinin, submandibular tükürük bezinin çıkarılması sonucu, vücutta Epidermal Growth Factor (EGF) eksikliğinden kaynaklandığı üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda midede şekillenen değişiklikler, ışık mikroskobunda, mukus kaybı yönünden değerlendirilmiştir. Ancak, midede şekillenen değişiklikler, ince yapı düzeyinde ele alınmamıştır.

Bu araştırmada, sıçanlarda, sialoadenektomize operasyonu yapılması (submandibular tükürük bezinin çıkarılması) sonucu, Epidermal Growth Factor eksikliğinin ve etanolün mide üzerindeki etkilerinin ışık mikroskobu ve ince yapı düzeyinde incelenmesi amaçlanmıştır.

ÖZET

Bu çalışmada, sıçanlarda submandibular tükürük bezinin çıkarılması sonucu, Epidermal Growth Factor eksikliğinin ve etanolün mide üzerindeki etkileri, ışık mikroskobu ve ince yapı düzeyinde incelenmiştir.

220-250 gr. ağırlığında, erişkin, 28 adet dişi Wistar albino sıçanı kullanıldı. Deney hayvanları rastgele dört eşit gruba bölündü: Grup-1: Kontrol (n:7), Grup-2: Sialoadenektomi (n:7), Grup-3: Alkol (n: 7), Grup-4 : Sialoadenektomi + Alkol (n:7).

Deney sonunda tüm sıçanlar, Ketamin HCl ile ötenazi edildi. Mideleri çıkarılıp, lezyonların durumu makroskobik olarak incelendi.

Mide mukozal bariyeri komponentlerinden mukus seviyesi, Corne'nin spektrofotometrik metodu kullanılarak ölçüldü. Mide kesitleri Hematoksilen-Eozin ve Periodik Asit Schiff (PAS) ile boyanarak ışık mikroskobunda incelendi.

Mide mukus seviyesinde en belirgin düşüş sialoadenektomi+alkol grubunda gözlemlendi ($P<0.01$). Mukus seviyesindeki düşüş, kontrol grubuna oranla, sialoadenektomi ve alkol gruplarında daha belirgin idi ($P<0.05$).

Histolojik değerlendirmede, tüm deney hayvanlarında ülserasyon gözlemlendi. Ancak şiddetli ülserasyon, ödem, fokal erozyon, mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu ve PAS (-) boyanma, sialoadenektomi+alkol grubunda izlendi.

İnce yapı düzeyinde yapılan incelemede, kontrol grubundaki mide mukoza epitelinin normal görünüm sergilediği görüldü. Ancak, diğer üç gruptaki deney hayvanlarının mide yüzey epitel hücreleri arasındaki bağlantı birimlerinin bozulmuş olduğu, hücrelerin apikal sitoplazmalarında mukus granüllerinin azaldığı ve parietal hücrelerde intrasitoplazmik kanaliküllerin ve mikrovillusların gelişmiş olduğu gözlemlendi. En şiddetli bulgular, sialoadenektomi+alkol grubunda izlendi.

Etanole bağlı olarak midede şekillenen lezyonların, EGF eksikliğinde daha da arttığı ve mukus seviyesinin düştüğü ışık mikroskobik ve ince yapı düzeyinde belirlendi.

SUMMARY

In this study, the effect of removal of the submandibular gland (EGF deficiency) in Wistar albino rats has been examined by light and electron microscope in terms of the effects on the susceptibility of gastric mucosa to the inflammatory and damaging actions of ethanol.

Adult female Wistar albino rats weighing 220-250 g were used. The animals were divided into four groups randomly.

Group-I: The animals served as control (n:7).

Group-II: Sialoadenectomy (n:7), Group-III: Alcohol treated (n:7), Group-IV: Sialoadenectomy+Alcohol treated (n:7).

At the end of experimental periods, all rats were sacrificed under Ketamin HCl anaesthesia. The stomachs were removed, and the presence of gastric lesions were observed macroscopically.

Mucus levels of the gastric mucosal barrier were measured using Corne's spectrophotometric methods.

Gastric sections were taken and stained with Hematoxylen-Eosin and Periodic Acid Schiff (PAS). Histological changes were examined under light microscope.

Mucus levels of the gastric mucosal barrier were found to be decreased particularly in sialoadenectomy+alcohol group ($P < 0.01$) and levels were lower in sialoadenectomy and alcohol groups than in the control group respectively ($P < 0.05$).

In histological examination, ulceration was observed in all experimental groups, but severe ulceration, oedema, focal erosion, mononuclear inflammatory cell infiltration and PAS (-) staining was only observed in sialoadenectomy+alcohol treated group.

Electron microscopy evaluation indicated that the stomach mucosa epithelium in control group showed a normal appearance while changes were observed in all experimental groups. However, severe basal epithelium of intercellular adhesions were destroyed, apical mucus granule was decreased, and parietal cell of intrasitoplasmic canaliculi-microvillus was increased in sialoadenectomy+alcohol treated group.

These data showed that sialoadenectomy leads to an increase in mucosal inflammation, decrease in mucus level shown by light microscope and electron microscope in animals subjected to sialoadenectomy+ ethanol treated.

1. GİRİŞ

Etanol alımının birçok dokuda, özellikle karaciğer ve midede, metabolik değişikliklere ve patolojik bozukluklara yol açtığı bilinmektedir (1,2). Yapı bakımından farklı birçok kimyasal madde (kortizon, aspirin, indomethazine), insan ve deney hayvanlarının mide mukozasında hasar oluşturmakta ve midenin asit salgılayan bölgelerinin mukoza epitelinde, nekroz ve kanama gibi ortak histopatolojik elemanlı lezyonlara neden olmaktadır. Bu bozuklukların oluşumundan sorumlu faktörler tam olarak bilinmemekle beraber, etanolün kendisinden çok, metabolizma ürünleri aracılığıyla etkili olduğu bilinmektedir (3).

Etanol, gastrik mukozada mast hücrelerinin degranülasyonuna ve lezyonlara sebep olmaktadır. Etanole bağlı mukozal hasar, peptik ülserlere karşı koruyucu mekanizmaları araştırmak için standart bir model olarak kullanılmaktadır. Çeşitli faktörlerin sebep olduğu peptik ülserlerin patogenezi, artmış lümen asiditesi, azalmış mukozal kan akımı ve mide mukozal bariyerinin yıkımından oluşan benzer mekanizmaları içerir. Bazı araştırmacılar, %14 konsantrasyonun üzerindeki etanolün, mukozal bariyeri kırdığı ve % 25 etanolün, gastrik mukoza hasarını başlattığını göstermişlerdir (4). Ancak Mizui ve Doteuchi (5), tipik gastrik lezyonların, % 40'ın üzerindeki etanolla oluşabileceğini bildirmişlerdir. Vasküler lezyonların erken dönemde oluştuğu bildirilmekte, ancak Galli ve arkadaşları (6), etanol uygulanmasından sonraki bir saatte lezyonların en üst düzeye ulaştığını bildirmişlerdir.

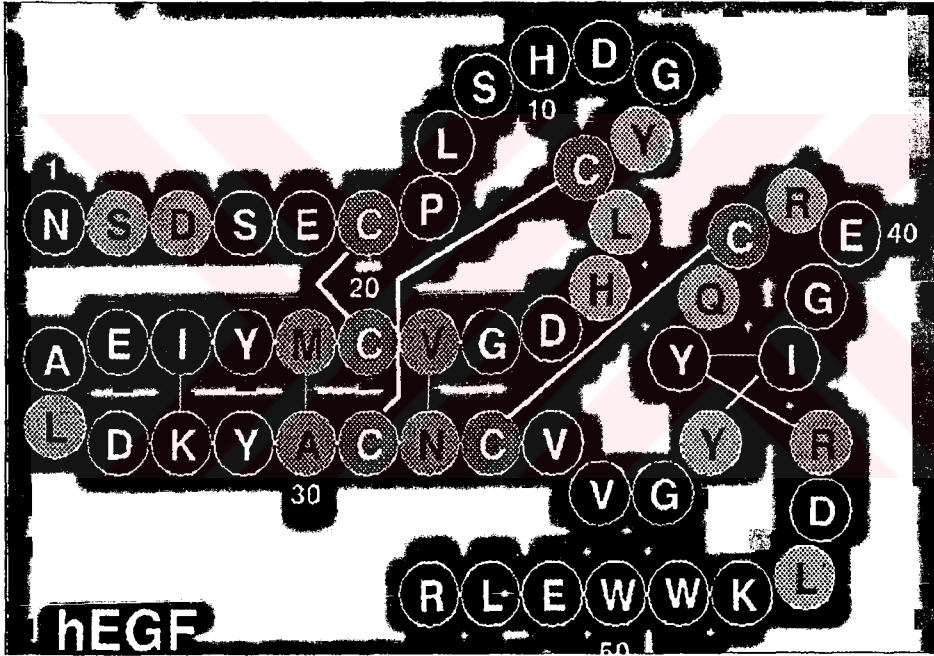
Etanol ile şekillenen mukozal tahribatta histopatolojik olarak submukozada ödem, hiperemi, yangı hücrelerinin inflamasyonu ve mukozal lezyonlar gibi bulgular gözlemlenmiştir (1,7,8).

1.1. Epidermal Growth Factor (EGF)

Epidermal Growth Factor; molekül ağırlığı 6045 Dalton, 53 aminoasitli, tek zincirli bir polipeptittir (Resim 1). Hücre membranlarındaki transport sistemlerini ve hücre metabolizmasını etkileyerek, mitogenezisin uyarılması dahil birçok hücresel yanıt için belirleyici bir rol oynamaktadır. Sıçanların submandibular tükürük bezi, Epidermal Growth Factor'ün en önemli kaynağıdır. Sıçanların sialoadenektomi

operasyonunu takiben plazma EGF düzeyinin hızla düştüğü ve 3. haftanın sonunda tespit edilemez seviyede olduğu gözlemlenmiştir (9).

EGF'nin fizyolojik rolü tam olarak belli olmasa da doku kültürlerinde, farklı tür memeli hücrelerinin çoğalmasını arttırdığı ve bazı hücre kültürlerinde, farklılaşmış hücre fonksiyonlarını pozitif ve negatif yönde etkileyebildiği görülmüştür. EGF'nin, dişi sıçanlarda, meme glandüler epitelinin çoğalmasında ve tümör oluşumunda rolü olduğu bildirilmiştir. Diğer taraftan, farelerin çene altı tükürük bezinden elde edilen EGF, gelişmesini tamamlamamış farelere enjekte edildiği zaman, gözlerin açılmasında ve dişin sürmesinde etkin olduğu gözlemlenmiştir (10,11).



Resim 1: İnsan Epidermal Growth Factor'ünün amino asit dizilimi.

1.2. Epidermal Growth Factor'ün Biyolojik Etkileri

EGF, çeşitli epidermal oluşumlara, örneğin epitel hücreleri, fibroblastlar, meme epitel hücreleri, damar ve gözün korneal endotel hücreleri, ineklerin granuloza hücreleri ve tavşan kondrositleri için mitojeniktir. EGF'nin başlıca biyolojik etkileri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Özellikle çenealtı tükürük bezleri tarafından üretilen EGF'nin, mide asit salınımını durdurduğu, mide mukozal hücrelerin çoğalmasını uyardığı bildirilmiştir. Sialoadenektomi operasyonunu takiben, mide ülserasyon alanı ve sayısının arttığı gözlemlenmiştir (12).

Submandibular tükürük bezleri ve duodenumun submukozasında bulunan Brunner bezleri, ekzokrin bez yapısında olduğu halde, kendisinden uzak bölgedeki dokuları etkileyebildiği için bir endokrin bez özelliğini anımsatmaktadır (13,14).

Tablo-1: EGF'nin Biyolojik Etkileri.

In-vivo	<p>Proliferasyon ve farklılaşmayı hızlandırması Deri dokusu Korneal epitel dokusu Soluk borusu ve akciğer epiteli</p> <p>Mide asit sekresyonunun inhibisyonu Putreskinin yığılması ve Ornitin dekarboksilazın aktivitesini artırma Karaciğer yağlanması şekillendirmesi Derideki disülfid grup içeriğini artırması Karaciğer hipertrofi ve hiperplazisi Yarık damak</p>
Organ	<p>Proliferasyon ve farklılaşmayı hızlandırması Deri dokusu Korneal epitel dokusu Soluk borusu ve akciğer epiteli</p> <p>Putreskinin yığılması ve Ornitin dekarboksilazın indirgenmesi Protein sentezini artırması Damak kaynaşmasını engellemesi</p>
Hücre Kültürü	<p>Transport artışı α-aminoizobutirat Deoksiglukoz K^+</p> <p>Glykolizisin aktivasyonu Makromoleküllerin sentezinin sitümülasyonu Hyaluronik asit RNA Protein DNA</p> <p>Hücre çeşitlenmesini artırması Membran özelliklerin farklılaşması hCG (Human Chorion Gonadotropin) sekresyonun sitümülasyonu LTSE proteini biyogenezisinin artması Prostaglandin biyosentezinin artması Viral büyümenin değişimi Keratonositler tarafından üretilen keratinin artışı</p>

1.3. Mide Barsak Mukozasının Korunma Mekanizmaları

Mide mukozasının kendisini sindirmesine karşı olan direnç yeteneği, 200 yıldan beri bilinmektedir. Hasar verici luminal içeriğe karşı, pek çok mide barsak savunma mekanizmaları bulunmaktadır.

Sağlıklı mide ve duodenum mukozası, sürekli yüksek konsantrasyonda yıkıcı karışımı oluşturan HCl, pepsin, safra tuzları, mikroorganizmalar, alkol, ilaçlar vs. ajanlara maruzdur. Mideden gelen asit hızlıca nötralize edilmesine karşın duodenumun üst bölümünde pH: 2'dir. Bu hasar verici luminal faktörlere karşı, mukozal bütünlüğün korunabilmesini sağlayan, dengeleyici ve hasar giderici bir korunma mekanizmasına gerek vardır (15).

1.3.1. Mukus-Bikarbonat Bariyeri

Gastroduodenal mukozayı hasara karşı mukusun koruyucu etkisi, yıllardan beri tartışılmakta ve çeşitli sonuçlara varılmaktadır. Mukus, duodenum Goblet hücreleri, mide ve Brunner bezleri tarafından salgılanan, yapışkan, suda çözünmeyen, glikoprotein yapıda bir salgıdır. Mukus, viskoelastik özelliğinden dolayı, gastrointestinal sistem mukozasını kesintisiz kaplamaktadır. Üretimi ve yıkımı arasında dinamik bir denge vardır. Mukus, yiyecekler alınırken mukozayı korur ve kayganlaştırıcı etkisinden dolayı katı maddelerin geçişini kolaylaştırır.

Mukusun mekaniksel koruyuculuğu, kalınlığına bağlıdır. Mukus kalınlığı ve miktarı, pekçok metodla ölçülebilir. Bunların başlıcaları; mikroeletrod, faz-kontrast mikroskopu, spektrofotometrik metodlar, vs.'dir. Her metod, farklı değer verir. Bu da mukus yapısında bulunan sıvıdan kaynaklanır. Mukus jel tabakasının kalınlığı, epitel hücrelerinde, 5-10 kat daha fazladır. Mukus tabakası sürekli olduğundan, parietal ve esas hücrelerden H^+ ve pepsinin, lümene kadar ulaşması gerekir. Bu da bezlerdeki hidrostatik basınç kuvvetiyle, lümene hemen kapanabilen mukus yarıklarından geçirilerek verilir. Belirtildiği gibi mukus jel tabakası, dinamik bir yapıdır ve mukolitik ajanlarca azaltılan kalınlık, prostaglandinlerle artırılır (16).

Mukus jel tabakası ile küçük iyon etkileşimi üzerine yapılan deneylerde, mukusun karıştırılmamış su tabakası gibi davrandığı gösterilmiştir. Mukustaki

glikoprotein mollekülleri, H⁺ iyon diffüzyon hareketini, sudakinden 4 kat daha az hareket ettirir. Buna karşın sadece H⁺ diffüzyonunu azaltması, tek başına mukozayı koruyamaz. Bunun için epitel yüzey nötralitesini devam ettirebilmesi için, mukusun 0,4 mm kalınlıkta olması için sürekli yenilenmesi gerekir.

1892 yılına kadar mideden, asitler gibi alkalilerin de salgılandığı bilinmekteydi. Mukus tabakası içine bir alkali sekresyonu, mukus yapısını daha çok güçlendirir. Bu bikarbonat salgı ölçümü, son zamanlarda hem *in-vivo* hem de *in-vitro* olarak ölçülebilmektedir. Yüzey epitel hücreleri tarafından salgılanan mide bikarbonat salgısı, asit üretiminin % 5-10 kadarıdır. Bikarbonat iyonlarının gastrik mukozadan geçişleri, metabolizmaya bağlı transsellüler yolludur (yüzey epitelinde Cl⁻ bikarbonat değişimi) veya intrasellüler kanallarda diffüzyonla geçer. Gastrik fundus, bikarbonatı sadece metabolizma bağımlı işlemlerle geçirirken, antrum bölgesi, 1/3'ünü pasif diffüzyonla geçirir.

Duodenumda durum daha karmaşıktır. Net alkaliliğe, pankreas-safra sekresyonu ve Brunner bezlerinin salgıları katkıda bulunur. İzole duodenum mukozası, mideninkinden 4 kat daha fazla alkali sekresyonu yapmaktadır. Antrumdaki sekresyonun % 30-40'ı pasif diffüzyonla geçerek, transepitelyal yoğunluğu oluşturur. Duodenumdaki yüzey hücrelerden salgılanan bikarbonatın alkalizasyondaki rolü çok azdır. Duodenumdaki alkalilik üzerine vagal-kolinerjik uyarı ve lümendeki asit varlığı, etkili olarak bikarbonat sekresyonunu kontrol etmektedir. Mukus-jel tabakası yüzeyde, asit-bikarbonat etkileşimi için ideal bir bölge özelliğindedir. Mukus-jel ve bikarbonat sekresyonları birbirlerini tamamlayarak, her birinin tek başına gösterdiğinden çok daha iyi bir koruma sağlamaktadır.

Bikarbonat, tek başına mukus-jel tabakasındaki H⁺ konsantrasyonunu nötralize edemez. Bikarbonat salgıyla beraber, değişen elektrik yüklerine bağlı olarak Na⁺ ve K⁺ da salgılanır. Böylece gerekli nötralizasyon sağlanır. Bu bileşiklerin kombinasyonu, yeterli bir koruma sağlamaktadır. Bu koruma bariyerine, **mukus-bikarbonat bariyeri** adı verilmiştir.

1.3.2. Yüzey Epitel Hücreleri

Epitel hücreleri, korumada önemli rol oynamaktadır. Salgıladıkları mukus ve bikarbonat ile kendilerine özgü özelliklerinden dolayı, birinci savunma bariyerini oluşturur. Epitel hücrelerinin apikal membranları ve hücreler arası bağlantı çeşitlerinden sıkı bağlantı-zonula occludens (tight junction) den dolayı H^+ iyonuna geçirgen olmamaları da korumada önemlidir. Bu yapı, fiziksel bir bariyer oluşturmaktadır. Bunun dışında yüzey epitel hücrelerinde bulunan kanalların sabitlenmiş elektriksel yüklerine sahip olmaları, pozitif yüklü iyonlara karşı bir engel oluşturmaktadır. Son zamanlarda hücrelerin yüzeyinde, yüzey-aktif fosfolipidlerden oluşmuş bir membranın varlığı tespit edilmiştir. Bu membran yağda çözünen molekülleri geçirirken, suda çözünen iyonları (H^+ gibi) ise geçirmemektedir. Çünkü hidrofobik karakterde bir membrandır.

Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID) ve safra tuzları yüzey hidrofobitesini bozduğu için H^+ e karşı mukozal permeabilite artışına yol açar ve mukozanın hasarına neden olmaktadır (17).

1.3.3. Mukozal Yenilenme

Mukozal savunma sisteminin önemli bir karakteri de ölen hücrelerin yerine yenilerinin kısa sürede geçmesidir. Midenin bazal laminasına komşu olan farklılaşmamış hücrelerin farklılaşmaları için, yüksek pH değerine gereksinim vardır. Düşük pH değerli luminal içerik ile yüzey epiteli üzerindeki mukus örtüsünün varlığı, irritasyon sonucu reepitelizasyonu hızlandırmaktadır. Bu hücre döngü süresi öylesine hızlıdır ki, mide mukozal epitelinin tamamen yenilenmesi bir saat gibi kısa bir sürede tamamlanmaktadır.

Mukus örtüsünün uzaklaştırılması durumunda, lümen asiti mukozaya penetre olur ve hasar sonucu, bazal laminada yenileştirme ve canlandırma süreci, önemli oranda geriler. Mukus salgısı, hücre yenilenmesi için bir mikroklima işlevi görmektedir.

1.3.4. Kan Akımı

Son yıllarda yapılan deneysel çalışmalarla, gastrik hasarın önlenmesinde, kan akımının çok önemli olduğu kanıtlanmıştır. Mukozal kan akımı, epitel dokuya oksijen, besin, bikarbonat sağlarken, hidrojen ve diğer zarar verici ajanların mukozadan uzaklaştırılmasında hayati bir öneme sahiptir. Mukozal kan akımının azalması ile özellikle duodenumda besleyici ve koruyucu ajanların azalmasına yol açmasından dolayı, mukozal ülserasyon meydana gelmektedir. Yine iskemik mukozada azalmış bikarbonat, mukozayı aside ve serbest oksijen radikallerine daha hasas bir duruma getirerek lezyonlara neden olmaktadır.

Artmış mukozal kan akımının, safra tuzları ve aspirin gibi hasar verici ajanlara karşı mukozayı koruduğu kanıtlanmıştır. Prostaglandinler, mukozal kan akımını düzenler ve zararlı ajanların, gastrik mikrosirkulasyonu değiştirme etkilerini önler (18). Gastroduodenal mukozal kan akımındaki değişikliklerin, mide ülserlerinden sorumlu olduğu anlaşılmaktadır. Luminal ortam ve diğer savunma mekanizmalarındaki değişimlerin, mukozada "zayıf bölgelere" yol açarak etki gösterdiğine dair hipotez henüz kanıtlanmamıştır.

1.3.5. Asit-Baz Dengesi

Mide mukozasındaki asit-baz durumu, hasara karşı mukozal hassasiyetin önemli bir belirtisidir.

Azalmış pH, hasar verici ajanlar ve iskemi, mukozal hasarda önemli artışa neden olmaktadır. Bikarbonatın sistemik dağılımı, bu hasar verici ajanlara karşı mukozayı tamamen korumaktadır.

1.3.6. Asit Sekresyonu

Bazı araştırmacılar sekretuar mukozanın, non-sekretuar mukozaya oranla, hasara daha az duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. Kurbağa mide mukozasının *in-vitro* preparatlarının incelenmesinde, asit sekresyonu inhibe edildiğinde, her H⁺ iyonuna karşılık, epitelin bazal kısmında bir bikarbonat iyonunun da kana geçtiği

belirlenmiştir. Bu geçiş, iyon kayması denir ve tekrar yüzeyde, asiditenin nötralizasyonunda kullanılır (özellikle sekrete edilen H⁺'nin geri diffüzyonunda). Bu da, sekretuar mide mukozasının, hasara karşı olan direnç mekanizmasını açıklamaktadır.

1.3.7. Endojen Sülfidril Grupları

Szabo, 1981'de yaptığı bir çalışmada (19); sülfidril grubu taşıyan aminoasitlerin (L-Sistein, Metionin) ve bazı ilaçların, metanol ile oluşturulan ülserlere karşı sıçan midesini koruduğunu bildirmiştir. Sülfidril bloke eden ilaçların da Prostaglandin F2 (PGF2)'nin mukozayı koruyucu etkisine zıt etkide olduğunu tespit etmiştir. Bu gözlemler, endojen sülfidrilin, Prostaglandin F2 alfa (PGF2 α) aracılığıyla mideyi koruduğunu kanıtlamıştır. Bu sülfidril, mukozal savunmadan sorumludurlar. Endojen sülfidrilin, membran geçirgenliği, hücreler arası bağlantı ve antioksidan etkileri de vardır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Okita ve arkadaşları (20), HCl'nin ağızdan verilmesine bağlı olarak oluşan mide ülserlerinde, EGF'nin koruyucu etkisini ve mukozal onarımda etkinliğini araştırmışlardır.

Tepperman ve Soper (21), sıçanlarda submandibular tükürük bezinin çıkarılması sonrası etanol uygulanması ile midedeki ülserlerin şiddetinin arttığını ortaya koymuşlardır.

Konturek, Brzozowski ve Dembrinski (22), Wistar albino sıçanlara asetik asit vererek mide ülserleri oluşturup, Epidermal Growth Factor'ün mide mukozasını onarımını değerlendirmişlerdir.

Murayama, Miyagawa ve Higashiyama (23), midenin fundus bölgesinde, Heparin-Binding Epidermal Growth Factor (HB-EGF) reseptörlerinin parietal hücrelerde varlığını, immunohistokimyasal olarak ortaya koymuşlardır. Bu olguda, HB-EGF'nin, parietal ve gastrin hücrelerde bulunan yüzey EGF reseptörleri vasıtasıyla gastrik mukozal hücrelerin farklılaşması ve çoğalmasında rolü olduğunu açıklamaya çalışmışlardır.

Konturek, Brzozowski ve Dembinski (24), sıçanlarda asetik asit ile kronik ülser modeli oluşturarak, Growth Hormone Releasing Factor (GRF) ve EGF'nin, lezyonların iyileşmesi ve mide fonksiyonlarındaki etkinliği üzerinde çalışmışlardır.

Evangelista ve Maggi (25), bir taraftan Capsaicin adlı bir ilaç ile mideyi innerve eden duyuşal sinirleri devre dışı bırakarak, etanol tarafından oluşturulan mide ülserlerinde, tükürük bezlerinin (submandibular, lingual, parotis) çıkarılması ile EGF eksiklişinin rolünü ortaya koymuşlardır.

Motilva, Lopez ve Martin (26), etanol ile oluşturulan deneşel mide lezyonlarında, endojen prostaglandinlerin etkilerini araştırmışlardır.

Gordon (27), %30'luk etanol verilip, 24 saat aç bırakılma ile genç sıçanlarda şekillenen ülserlerde, sialoadenektominin önemli etki yaptığını ve dışardan verilen EGF'nin, mide ülserlerini dikkate değer ölçüde azalttığını belirtmiştir.

Kuwahara ve arkadaşları (28), sıçanlarda mide submukozasına asetik asit enjeksiyonu ile oluşturulan ülserde ve indometasin uygulanarak ülserin geciktirildiğı gruplara 2. ve 4. haftalarda derialtı hEGF uygulanması ile doğal ve geciktirilmiş

ülserlerdeki iyileştirici etkinliği önemli oranda arttırdığını tespit etmişlerdir. EGF' nin bu etkiyi, antisekresyon ile meydana getirdiğini belirlemişlerdir.

Konturek ve arkadaşları (29), etanol ve stres ile oluşturulan ülserlere karşı, birbirine benzer biyolojik aktiveye sahip EGF ve Transforming Growth Factor (TGF)' ü dışardan vermişlerdir. Bu iki faktörün, gerek etanol, gerekse stresin şekillendirdiği ülserlere karşı koruyucu etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır. Bu maddeler, mide mukozal kan akımını arttırarak ve hücre çoğalmasını indüklemek için DNA sentezini uyararak koruyucu etki göstermişlerdir.

Wingren, Brown ve Watkins (30), temel EGF kaynağı olan submandibular bezin alınması ve asetik asit ile oluşturulan ülserlerin iyleşmesinin geciktiğini tespit etmişlerdir. Bu gecikme olayı, dişi sıçanlarda daha belirgin olmuştur. Cinsiyete bağlı olarak iyleşme sürelerindeki bu farklılık, salgı bezlerinde üretilen EGF'nin, androjenik düzenleme üzerinde olan etkisinden kaynaklanabileceğindedir.

Hansen, Müller ve Sinha (31), mide ülseri olan hastaların, tükürük salgılarında ve mide özsuyunda daha az düzeyde EGF bulunduğunu ortaya koymuşlardır.

Tepperman ve Soper (32), etanol verilen sıçanlarda, sialoadenektomi sonrası mukozal inflamasyonda artış görmüşlerdir. Mide ülseri şekillenen sıçanlara eksojen EGF verilmesi, miyeloperoksidasyon aktivitesinde önemli azalmaya neden olmuş, fakat bu azalma, aşırı hasarı önlemede yetersiz kalmıştır.

Konturek, Brzowski ve Konturek (33), yüzdürme ve hareketsizlik stresine maruz bırakılan sıçanlarda sialoadenektomi sonucu, ülserlere karşı hassasiyette artış gözlemişlerdir. Stres sonucu, gastrik asit salgısında ve DNA sentezinde azalmayı tespit etmişlerdir. Strese tabi tutulan sıçanların mide ve tükürük salgılarında, kontrol grubuna oranla EGF düzeyinin artışını gözlemişlerdir. Suda yüzdürme ve hareketsizlik stresinin, aşırı miktarda EGF salgılamasına yol açtığını ve bunun da mide asit sekresyonunu azalttığını ve DNA sentezini arttırdığını bildirmişlerdir. Bu mekanizma, strese bağlı ülser oluşumunda, sınırlamaya neden olmaktadır.

Joseph ve Wells (34), indometazin kaynaklı ülserlerde, dışarıdan EGF uygulanmasının koruyucu etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. EGF, nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların şekillendirdiği mide ve barsak lezyonlarında koruyucu etki

göstermez iken, etanolün yaptığı hasara karşı mide asit sekresyonunu inhibe ederek koruyucu etkisini göstermektedir.

Konturek, Dembinski ve Warzecha (35), koloidal bizmut sitratın (De Nol), deneysel oluşturulan kronik mide ülserlerine karşı koruyucu etkisinin olduğunu ortaya koymuşlardır. De-Nol'ün EGF'ye bağlanıp, ülser bölgesinde reepitelizasyonu artırarak etki gösterdiğini öne sürmüşlerdir.

Kuwahara ve Okabe (36), oral hEGF uygulanmasının, asetik asit ülserlerine karşı etkisinin olmadığını ileriye sürmüşlerdir.

Wang ve arkadaşları (37) yaptıkları çalışmada, gastrik mukozal hücre kültürlerinde, akut etanol uygulanmasının, EGF reseptörlerini bozduğu, dolayısıyla EGF'nin reseptörlerine bağlanma oranında azalma meydana getirdiğini göstermişlerdir.

Tepperman ve Soper (38), intraluminal % 40'lık etanol uygulanması ile mukozal hasar şekillendirerek, 30 dakika sonra damar içi EGF, TGF α verip, mide mukozal hasarın azaldığını gözlemlemişlerdir. Bu etkileri de, mide mikrosirkülasyonu üzerinde, vazodilatatör etkiye bağlamışlardır.

Makoto ve Takashi (39), sıçanlarda HCl ve sialoadenektominin oluşturduğu mide mukozal hasara karşı, eksojen fare EGF'sinin koruyucu etki gösterdiğini ve bu etkinin de somatostatin, PGF $_2\alpha$ ve mukus miktarının artması sonucu olduğunu bildirmişlerdir.

Olsen ve arkadaşları (40), sialoadenektomize edilen sıçanlara, ince barsağın duodenum bölgesini tahriş eden cysteamine vererek oluşturdukları ülser modeline

karşı, içinde EGF bulunmayan tükürük, içinde fizyolojik konsantrasyonda EGF bulunan tükürük ve eksojen EGF vererek, ülsere karşı koruyucu etkilerini incelemişlerdir. Gözlemlerinde, içinde EGF bulunmayan tükürüğün koruyucu etki göstermediği, diğer iki grupta, salgıların hücreyi koruyucu etkilerinin olduğu sonucuna varmışlardır.

Kinoshita ve arkadaşları (41), özofagus mukozasının asit sekresyonundan kaynaklanan lezyonları azaltmada, tükürükte yer alan musinin önemli rol oynadığını ortaya koymuşlardır.

Rao ve arkadaşları (42), sialoadenektomi edilmiş sıçanlarda, tükürük kaynaklı EGF'nin, ince barsağın ileum bölümünü korumada önemini dile getirmişlerdir.

Scheiman ve arkadaşları (43), EGF'ye eşdeğer yapıdaki $TGF\alpha$ 'nın, insan proksimal gastrointestinal epiteline etkisini ve asit sekresyonu inhibisyonunu ortaya koymuşlardır.

Yang ve arkadaşları (44), hamsterlerde ağız bölgesinde oluşturulan yara modelinde, eozonofil kaynaklı $TGF\alpha$ ve tükürükteki EGF'nin yara iyileşmesinde önemli rolünü açıklamışlardır.



3. MATERYAL VE METOD

Araştırmada kullanılan deney hayvanları, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi (DÜSAM)'nden temin edildi. Deney hayvanı olarak, erişkin 220-250 gr. ağırlığındaki dişi Wistar albino sıçanı kullanıldı. Deney hayvanları, 23°C optimal sıcaklık, 14 saat ışık, 10 saat karanlıkta ve %45 nisbi nem koşullarındaki bir laboratuvar ortamında barındırıldı.

Araştırmada, toplam 28 adet Wistar albino sıçanı kullanıldı. Dört grup oluşturuldu ve her grupta eşit sayıda deney hayvanı kullanıldı.

Grup-1 (Kontrol Grubu):

Bu gruptaki deney hayvanlarına, deney süresince herhangi bir uygulama yapılmadı (n:7).

Grup-2 (Sialoadenektomi + Serum Fizyolojik) :

Deney hayvanlarının genel anestezileri, 10 mg / 100 gr canlı vücut ağırlığı dozunda Ketamin HCl (Ketalar-Eczacıbaşı) + 0.8 mg / 100 gr canlı vücut ağırlığı dozunda % 2'lik Xylazin (Rompun-Bayer) ile intraperitoneal olarak yapıldı. Boyun bölgesinin transversal ensizyonu yapılarak, submandibular tükürük bezi, total olarak çıkarıldı (n:7).

30 gün sonra, 1 ml / 300 gr canlı vücut ağırlığı dozunda, orogastrik sonda ile serum fizyolojik verildi. Uygulamadan sonraki 24 saat içinde, deney hayvanlarına sadece içme suyu verildi. Daha sonra, Ketamin HCl'nin letal dozu kullanılarak, deney hayvanları ötenazi edildi.

Grup-3 (Alkol Grubu):

Bu gruptaki deney hayvanlarının çene altı bölgesine, deri ensizyonu yapıldı. Ensizyonu takiben 30. günde, 1 ml / 300 gr canlı vücut ağırlığı dozunda, orogastrik sonda ile mutlak etil alkol (%99,5) verildi. Uygulamayı takiben 24 saat sadece içme suyu verildi. Daha sonra deney hayvanları, Ketamin HCl ile ötenazi edildi (n: 7).

Grup-4 (Sialoadenektomi+Alkol Grubu):

Deney hayvanlarının genel anestezileri, 10 mg / 100 gr canlı vücut ağırlığı dozunda Ketamin HCl (Ketalar-Eczacıbaşı) + 0.8 mg / 100 gr canlı vücut ağırlığı dozunda %2'lik Xylazin (Rompun-Bayer) ile intraperitoneal olarak yapıldı. Boyun bölgesinin transversal ensizyonu yapılarak, submandibular tükürük bezi, total olarak çıkarıldı (n:7).

Sialoadenektomi operasyonundan 30 gün sonra, 1 ml / 300 gr canlı vücut ağırlığı dozunda, orogastrik sonda ile mutlak etil alkol verildi. Uygulamayı takiben 24 saat sadece içme suyu verildi. Daha sonra deney hayvanları Ketamin HCl ile ötenazi edildi.

Deney sonunda aşağıdaki incelemeler yapıldı:

1.Ötenaziden sonra, midenin özofagus girişinden başlayarak piloris bölgesine doğru ensizyon yapılarak, mukozada şekillenen değişikliklerin makroskopik incelemesi yapıldı. Lezyon bölgelerinin makroskopik resimleri, E-OS 500 Canon (close up'lı) fotoğraf makinası ile çekildi.

2. Histolojik inceleme amacıyla mide dokusundan örnekler alındıktan sonra kalan mide dokusunda, mide mukus miktarı, spektrofotometre ile Corne, Morrissey ve Woods' un aşağıdaki metoduna göre ölçüldü (45).

Mukus ölçümü: Mukus tayini için sıçanların midelerinden alınan doku örnekleri iki saat Alsiyen mavisi solüsyonu içinde tutuldu. 15. ve 45. dakikalarda, sükröz çözeltisine batırıldı. Daha sonra absorbe ettiği boyayı vermek üzere, 37°C' deki benmaride, MgCl₂ solüsyonu içinde 2 saat süre ile bekletildi. Daha sonra MgCl₂ solüsyonun 605 nm'deki absorbansı, Unicam 8625 U.V. spektrofotometre ile ölçülerek yaş dokuda, µg/g biriminde mukus miktarı ölçüldü. Elde edilen veriler, istatistiksel olarak Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance testi ve Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi (46).

3. Işık mikroskopik inceleme amacıyla, midenin fundus bölgesinden doku örnekleri alınıp, Bouine fiksatifine bırakılarak tespit edildi. Rutin histolojik takiplerden elde edilen 4-5 µm kalınlığındaki parafin kesitler, Hematoksilen-Eozin (Mayer's Hematoksileni) ve Periodik Asit Schiff (PAS) boya ları ile boyanarak, ışık mikroskopik değerlendirilmesi yapıldı (47). Tespit edilen lezyonların, Olympus-BH2 mikroskobu ile mikro fotoğrafları çekildi.

4. Elektron mikroskopik inceleme, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Elektron Mikroskobu Ünitesi'nde yapıldı. İnce yapının incelenmesi amacıyla, mideden küçük doku örnekleri alınarak, % 2'lik gluteraldehitte (pH: 7.2 fosfat tamponlu) 24 saat süre ile tespit edildi. Yıkama işlemi, fosfat tamponu ile yapıldı. Her 15 dakikada bir değiştirmek şartı ile 3 saat süre ile uygulandı.

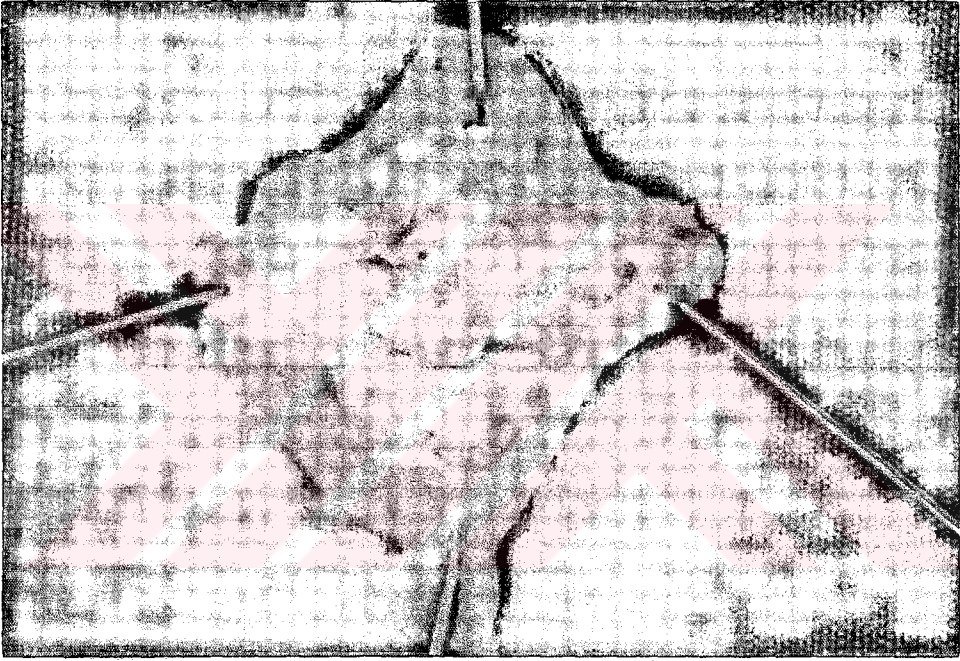
Postfiksasyon, 2 saat süre ile %1'lik osmiyum tetroksit ile yapıldı. Tespitten sonra dokular, fosfat tamponu ile 10'ar dakika olmak üzere, 2 kez yıkandı. Dehidrasyon işlemi amacıyla dokular, %30, %50 ve %70'lik alkollerde 2'şer kez 15 dakika süre ile bekletildi. Dokular %70'lik alkolde, bir gece buzdolabında bırakıldı. Ertesi gün uranil boyası taze olarak hazırlandıktan sonra dokular bu boya içinde, 2 saat süre ile buzdolabında tutuldu. %90 ve %100'lük alkollerde 2'şer kez 30 dakika bekletildi. Ara geçiş solüsyonu olan propilen oksitte dokular 2 kez olmak üzere, 30'ar dakika bekletildi. Gömme ortamı olan araldit Cy-212 ile propilen oksit yarı yarıya karıştırılarak dokular bu karışımda, 1 gece süre ile buzdolabında tutuldu.

Ertesi gün blok yapmak için taze olarak hazırlanmış araldit karışımında dokular, oda ısısında, rotatorda (2 rpm / dakika) 2 saat süre ile döndürüldü ve kalan araldit ile bloklama yapıldı. Sertleştirme amacı ile bloklar, etüvde 24 saat süre ile 45°C'de ve 24 saat süre ile de 60°C'de tutuldu. Bloklar etüvden çıkarılmadan soğumaya bırakıldı. Etüvden çıkarıldıktan sonra, doku tamamen çıkacak şekilde, cam bıçak ile yüzeyi ve yanları tıraşlandı. 1'er mikron kalınlığında, yarı ince kesitler alındı. Kesitler, toluidin mavisi ile 5 dakika süre ile boyandı. Yarı ince kesitler lam üzerine alınarak, kuruduktan sonra entalen ile kapatıldı. Yarı ince kesitler ile blok karşılaştırılarak, istenilen yer dışında kalan kısımlar tıraşlandı. İnce kesitler, Reichert Supernova ultramikrotomunda alındı. Kesitler, formuarla kaplanmış bakır gridler üzerine alındı. Uranil asetat boyası ile 30 dakika ve kurşun sitrat boyası ile 5 dakika süre ile boyandıktan sonra Karl Zeiss EM-900 kodlu transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile incelendi (48).

4. BULGULAR

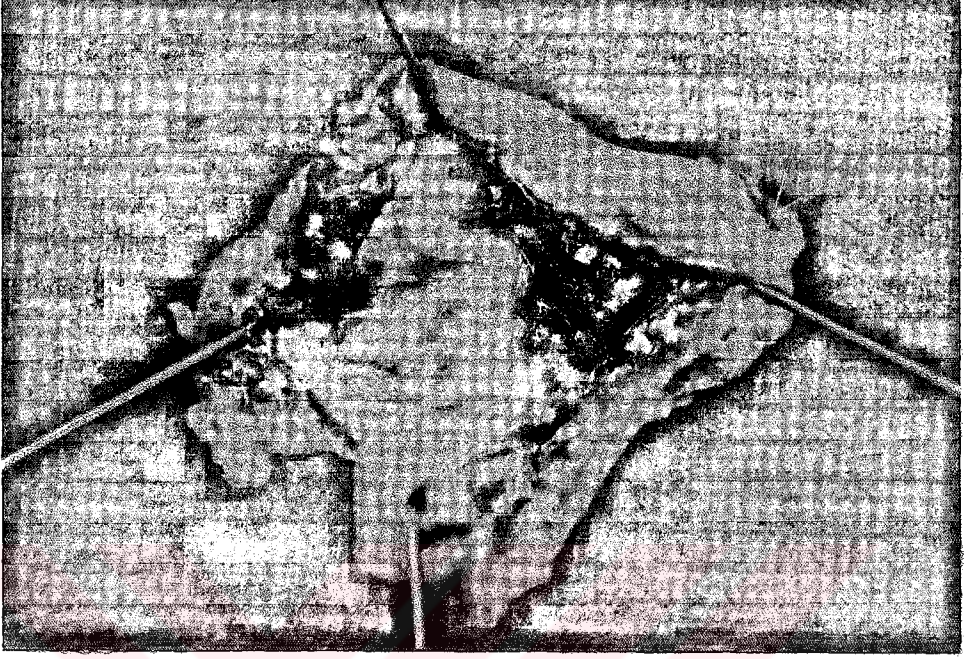
4.1. Mide Mukozasında Şekillenen Makroskopik Lezyonlar

Kontrol grubuna ait deney hayvanlarının midelerinin makroskopik incelenmesinde, normal yapı izlendi. Mide yüzeyinde yer alan rugalar, normal görünümdeydi (Resim 2).



Resim 2 : Kontrol grubuna ait midenin makroskopik görünümü.

Alkol grubuna ait deney hayvanlarının midelerinin makroskopik incelenmesinde, midenin mukoza yüzeyinde yer alan ruga yapılarının silindiği, yer yer peteşial kanama (toplu iğne başı büyüklüğündeki kanama) ve bazı bölgelerde yaygın kanama odakları izlendi (Resim 3).



Resim 3: Alkol grubuna ait midenin makroskopik görünümü.

Sialoadenektomi (Sx) edilip serum fizyolojik verilen deney hayvanlarının mide yüzeyinde yer alan rugalar normal yapılarını korurken, mide mukozasında peteşial kanama odakları gözlemlendi (Resim 4).



Resim 4: Sialoadenektomi (Sx)+serum fizyolojik grubuna ait midenin makroskobik görünümü.

Sialoadenektomi+alkol (Sx+A) grubunda, mide mukoza yüzeyindeki lezyonlar, alkol grubuna oranla daha şiddetli idi. Rugaların tümünden ortadan kalktığı ve kanamanın yaygın olduğu gözlemlendi (Resim 5).



Resim 5: Sialoadenektomi+alkol (Sx+A) grubuna ait midenin makroskobik görünümü.

4.2. Spektrofotometrik Olarak Mide Mukus Düzeyindeki Değişiklikler

Deney sonunda, dört gruba ait deney hayvanlarının mide dokusundan örnekler alınıp, spektrofotometrik yöntemle mide mukus miktarı ölçüldü (Tablo- 2). Ölçümlerin sonuçları, istatistiksel olarak Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance testi ve Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi (Tablo -3, Grafik- 1).

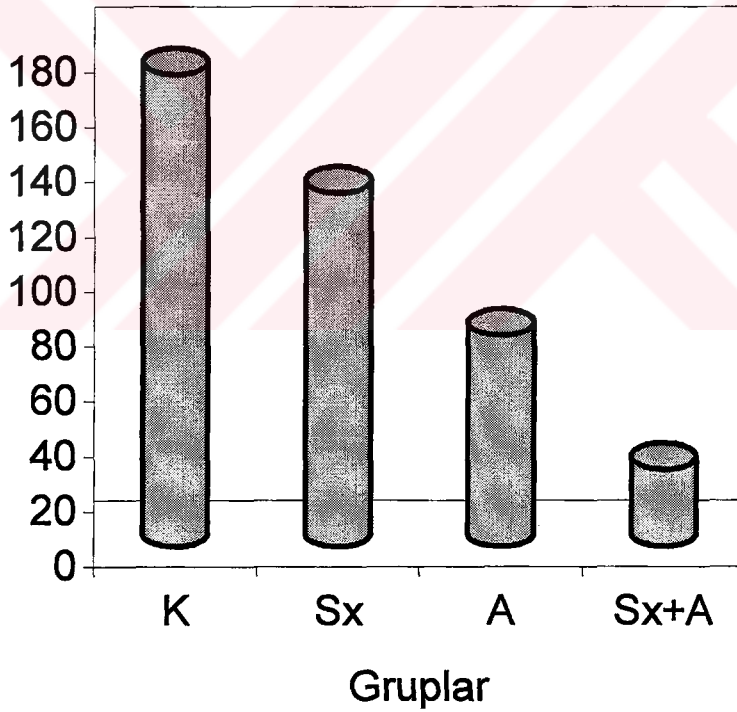
Tablo -2 : Kontrol ve deney gruplarına ait mide mukus miktarları ($\mu\text{g/ g}$ yaş doku)

GRUPLAR			
Kontrol	Sialadenektomi	Alkol	Sialadenektomi+Alkol
164,52	160,07	142,16	80,28
167,36	157,05	136,18	75,26
163,28	154,36	123,78	82,46
165,16	150,18	135,36	70,96
162,52	155,01	146,32	92,28
166,66	164,22	132,6	80,66
160,17	151,12	130,66	85,14

Tablo-3: Kontrol ve deney gruplarındaki mide mukus değerlerindeki değişiklikler.

Gruplar	Denek sayısı (n)	Gruplardaki değerlerin sıra numaraları toplamı ($\mu\text{g/g}$ yaş doku)
Kontrol (K)	7	172.000
Sialoadenektomi (Sx)	7	129.000
Alkol (A)	7	77.000
Sialoadenektomi (Sx)+ Alkol (A)	7	28.000

Kruskal-Wallis testi istatistik değeri =24.762 ($p<0.001$).



Grafik- 1: Gruplar arasındaki mide mukus değerlerinin değişimi

Grupların mide mukus ortalama değerleri arasındaki fark, Mann-Whitney U testi ile değerlendirilerek, aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

Tablo- 4: Kontrol ve sialoadenektomi gruplarının mide mukus değerlerindeki değişiklikler.

Gruplar	Denek Sayısı (n)	Gruplardaki değerlerin sıra numaraları toplamı ($\mu\text{g/ g yaş doku}$)
Kontrol (K)	7	74.000
Sialoadenektomi (Sx)	7	31.000

Mann-Whitney U testi istatistik değeri=3.000

Sialoadenektomi edilen deney hayvanlarının mide mukus miktarında, kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı bir dūřuř olduęu gōzlendi (Tablo- 4, $p<0.05$).

Tablo-5: Kontrol ve alkol gruplarının mide mukus değerlerindeki değişiklikler.

Grup	Denek Sayısı (n)	Gruplardaki değerlerin sıra numaraları toplamı ($\mu\text{g/ g yaş doku}$)
Kontrol (K)	7	70.000
Alkol (A)	7	35.000

Mann-Whitney U testi istatistik değeri=42.000

Alkol verilen deney hayvanlarının mide mukus miktarında, kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı bir dūřuř olduęu gōzlendi (Tablo -5, $p<0.05$).

Tablo-6: Kontrol ve sialoadenektomi+alkol gruplarının mide mukus değerlerindeki değişiklikler.

Grup	Denek Sayısı (n)	Gruplardaki değerlerin sıra numaraları toplamı ($\mu\text{g/ g yaş doku}$)
Kontrol (K)	7	77.000
Sialoadenektomi (Sx) + Alkol (A)	7	28.000

Mann-Whitney U test istatistik değeri=**49.000**

Sialoadenektomi edilen ve alkol verilen deney hayvanlarının mide mukus miktarında, kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu gözlemlendi (Tablo-6, $p < 0.01$).

4.3. Işık Mikroskopik Bulgular

4.3.1. Mide Yüzeyinde Yer Alan Mukus Tabakasındaki Değişikliklerin Işık Mikroskopik Değerlendirilmesi

Işık mikroskopunda, mide ve ince barsaktaki mukus tabakasını göstermede, başlıca Periodik Asit Schiff ve Alsiyan mavisi histokimyasal boyaları kullanılmaktadır. Periodik Asit Schiff boyası ile mide mukus tabakası, pembeden erguvan rengine, Alsiyan mavisi ile maviden yeşile değişen bir renk ile boyanmaktadır (47).

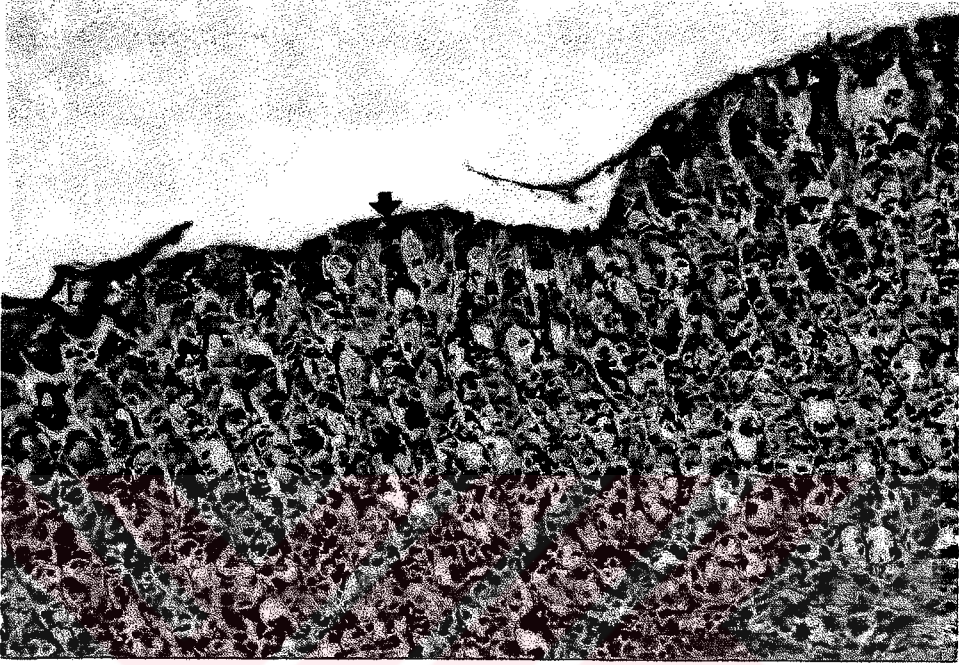
Kontrol grubu ile deney gruplarına ait mukus tabakası ile midenin mukoza tabakasının karşılaştırılmasında aşağıdaki değişiklikler saptandı:

Grup-1: Kontrol grubuna ait mide kesitlerinde, mukus tabakası normal olarak izlendi. Midenin mukoza tabakasının bütünlüğünde bir değişiklik gözlenmedi (Resim 6).



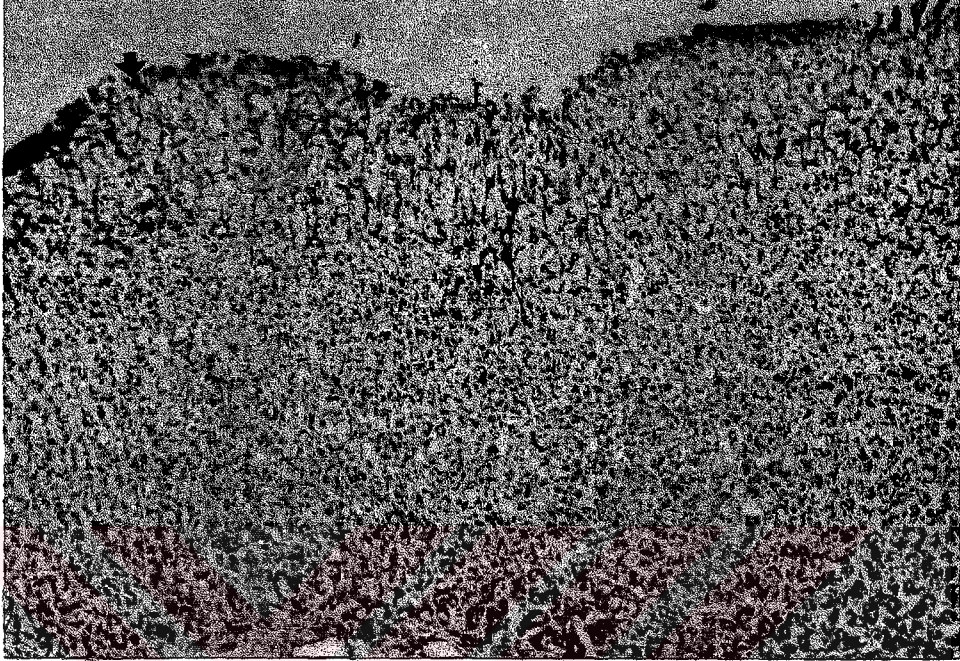
Resim 6: Kontrol grubuna ait mide kesiti. Ok, mide mukus tabakasını gösteriyor (Boyama: PAS, orijinal büyütme: X 100).

Grup-2: Submandibular tükürük bezi çıkarılan sıçanların mide mukus tabakasında, kontrol grubuna oranla azalmanın olduğu, mukozada yer yer erozyon odakları tespit edildi (Resim 7).



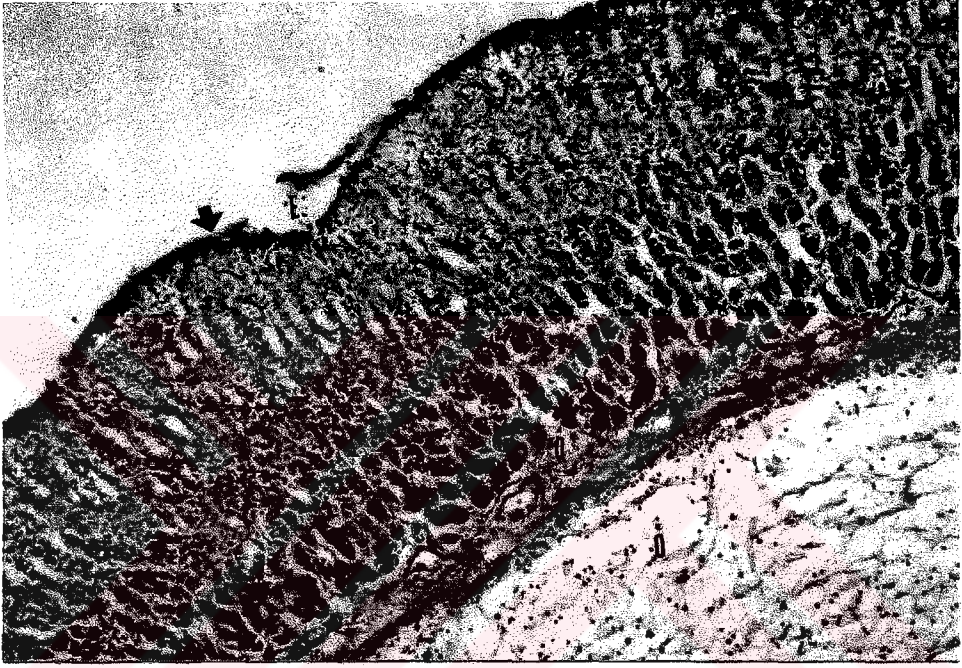
Resim 7: Sialadenektomize edilen gruba ait midenin görünümü. Ok, mide mukus tabakasını gösteriyor. E, erozyon odakları (Boyama: PAS, orijinal büyütme: X 200).

Grup-3: Alkol verilen grubun mide kesitlerinde, mide mukus tabakasının azaldığı ve yer yer ortadan kalktığı dikkat çekici düzeydeydi (Resim 8).



Resim 8: Alkol grubuna ait mide kesiti. Ok, mide mukus tabakasını gösteriyor. E, geniş erozyon odağı. (Boyama: PAS, orijinal büyütme: X 100).

Grup-4: Sialoadenektomi (Sx) uygulanması sonrası mutlak etil alkol verilmesi sonucu, mide mukus tabakasının tümden ortadan kalktığı, bu gruba ait mide kesitlerinin, PAS (-) olarak boyandığı gözlendi (Resim 9). Ayrıca mide kesitlerinde erozyon odaklarının, lamina propria ve submukoza tabakasında ödem genişlediği gözlendi (Resim 9).

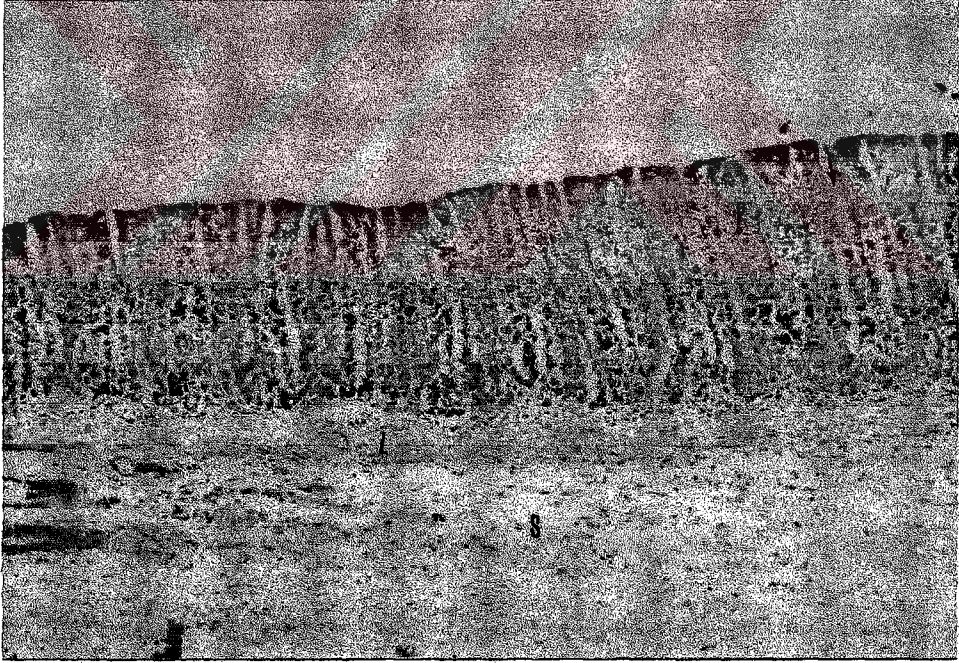


Resim 9: Sialoadenektomi+ alkol (Sx+A) grubuna ait midenin görünümü. Ok, yüzeyin PAS (-) boyandığını gösteriyor. Submukozada ödem (), mide yüzeyinde belirgin erozyon odakları (E) izlenmektedir (Boyama: PAS, orijinal büyütme: X 200).

4.3.2. Mide Mukoza Tabakasındaki Histolojik Değişikliklerin Işıık Mikroskobik Değerlendirilmesi

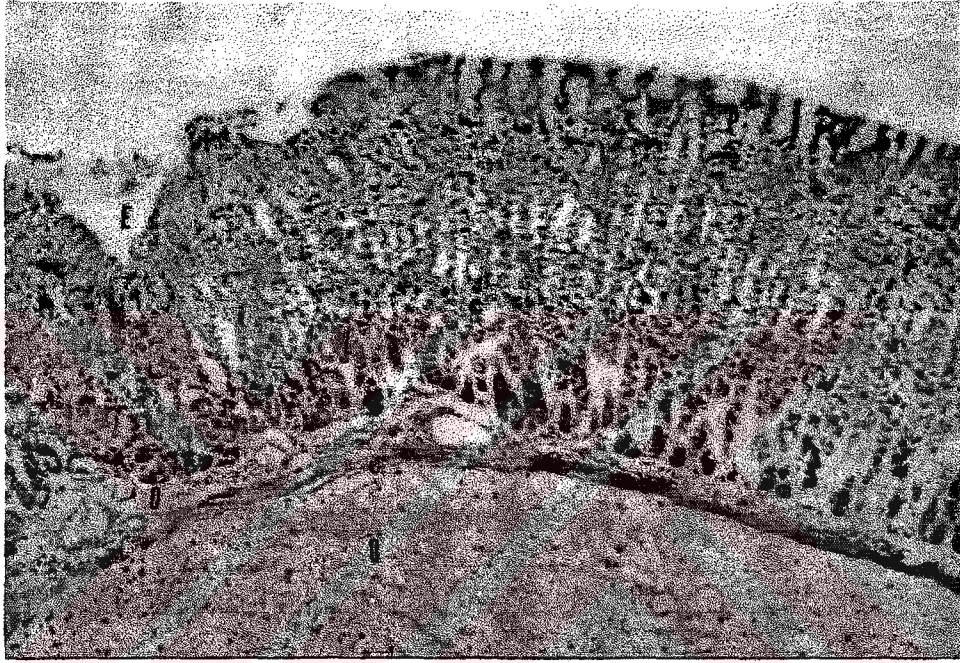
Kontrol grubu ile deney gruplarına ait örneklerin mide kesitlerinde mide mukoza tabakasının karşılaştırılmasında, aşığıdaki histopatolojik değişiklikler saptandı:

Grup-1: Kontrol grubuna ait sıçanların mide kesitlerinde, mukoza tabakasının bütünlüğünü koruduğu gözlemlendi ve herhangi bir histopatolojik değişikliğe rastlanmadı (Resim 10).



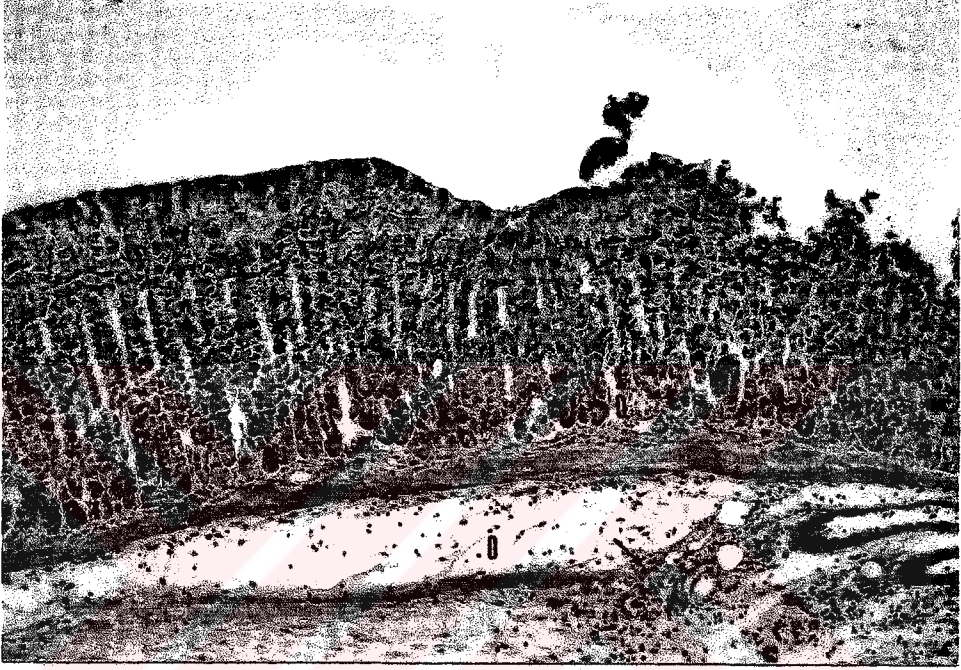
Resim 10: Kontrol grubuna ait mide kesitinin normal görünümü. Düzenli plika gastrikalar (P), foveola gastrika (ok), lamina muskularis mukoza (L), submukoza (S) izlenmektedir (Boyama: Hematoksilen-Eozin, orijinal büyütmeye: X 100).

Grup-2: Submandibular tükürük bezi çıkarılan sıçanlarda plika gastrikaların düzensiz bir hal aldığı, mukozal tahribatın şekillendiği, fokal erozyon odakları ve midenin lamina propria, submukoza tabakasında, orta şiddetli ödem dikkati çekmekteydi (Resim 11).



Resim 11: Sialoadenektomi grubuna ait midenin görünümü. Düzensiz plika gastrikalar (P), mide mukozasında erozyon odakları (E), lamina propria ve submukozada ödem (Ö) alanları izlenmektedir (Boyama: Hematoksilen-Eozin, orijinal büyüme X 200).

Grup-3 : Alkol grubuna ait sıçanların mide mukozasında, tahribatin şiddetinin arttığı gözlemlendi. Mide kesitlerinde erozyonun yaygınlaştığı, lamina propria ve submukozadaki ödem şiddetinin, sialoadenektomi grubuna oranla arttığı açıkça gözlemlendi. Ayrıca midenin submukoza tabakasındaki ödemin yanısıra, mukozal tahribata bağlı olarak mononükleer hücre infiltrasyonu (iltihabi durum) gözlemlendi (Resim 12).



Resim 12: Alkol grubuna ait midenin görünümü. Mukoza tabakasında yaygın erozyon odakları (E), lamina propria ve submukoza tabakasında ödem (Ö) ve mononükleer hücre infiltrasyonu (ok) izlenmektedir (Boyama: Hematoksilen-Eozin, orijinal büyütme: X 100).

Grup-4 : Submandibular tükürük bezinin çıkarılmasından 30 gün sonra alkol verilmesine bağlı olarak, midenin histolojik yapısının oldukça bozulduğu gözlemlendi. Mide mukoza tabakasının ileri derecede erozyona uğradığı, lamina propria ve submukoza tabakasında ödem şiddetinin arttığı, plika gastrikaların düzeninin bozulduğu ve mukozada yer yer geniş hemorajik (kanama) alanlar olduğu görüldü (Resim 13).



Resim 13: Sialadenektomi+alkol grubuna ait midenin görünümü. İleri derecede erozyon bölgesi (E), lamina propriada yaygın hemoraji alanları (ok), lamina propriada ödem (Ö), düzensiz plika gastrikalar (P) izlenmektedir. (Boyama: Hematoksilen-Eozin, orijinal büyütme: X 200).

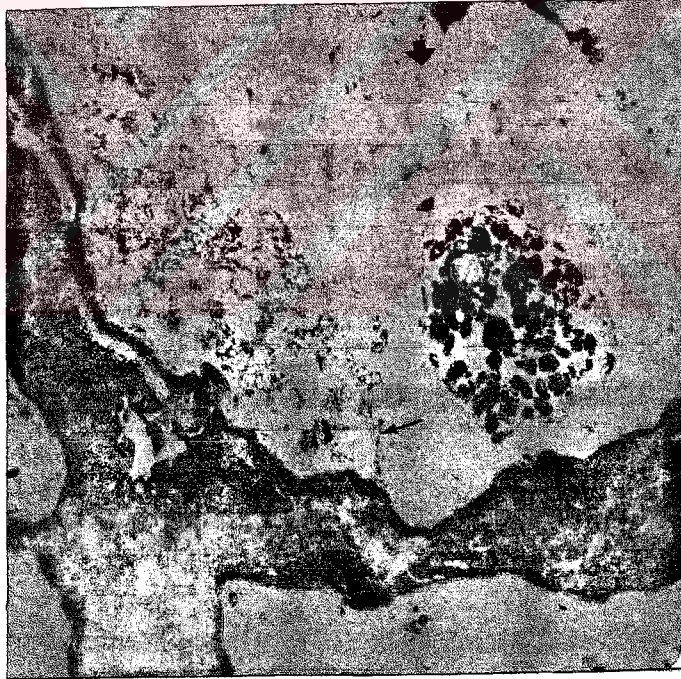
4.4. Mide Mukozasında Şekillenen Değişikliklerin İnce Yapı Düzeyinde Değerlendirilmesi

Kontrol grubu ile deney gruplarının mide mukoza tabakasında yeralan hücrelerin ince yapı düzeyinde karşılaştırılmasında, aşağıdaki histopatolojik değişiklikler saptandı:

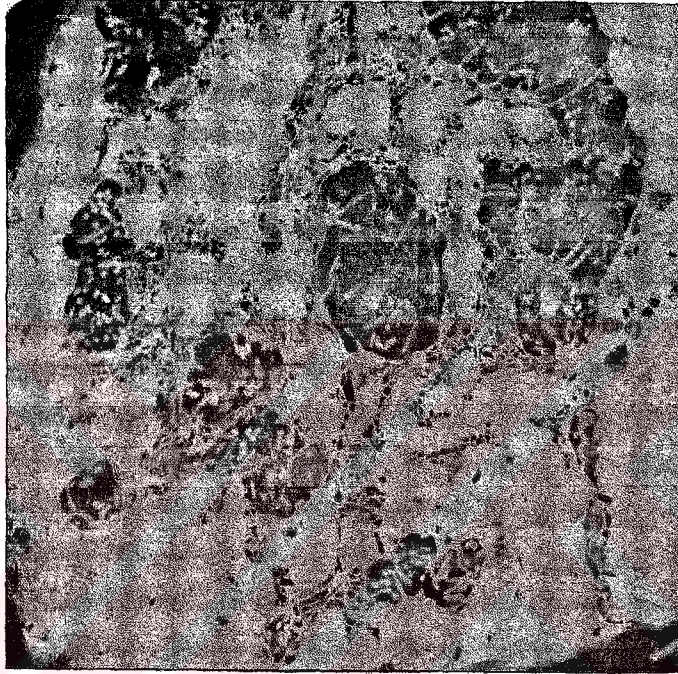
Grup-1: Kontrol grubuna ait sıçanların mide mukoza tabakasına ait hücrelerin normal yapıda olduğu gözlemlendi.

Midenin yüzey ve boyun müköz hücreleri arasında bağlantı biriminin normal yapıda olduğu ve hücrelerin apikal sitoplazmalarının iri ve yoğun salgı granülleri ile dolu olduğu izlendi (Resim 14).

Kontrol grubuna ait mide mukozal hücrelerden parietal hücreler de normal yapıda idi (Resim 15).



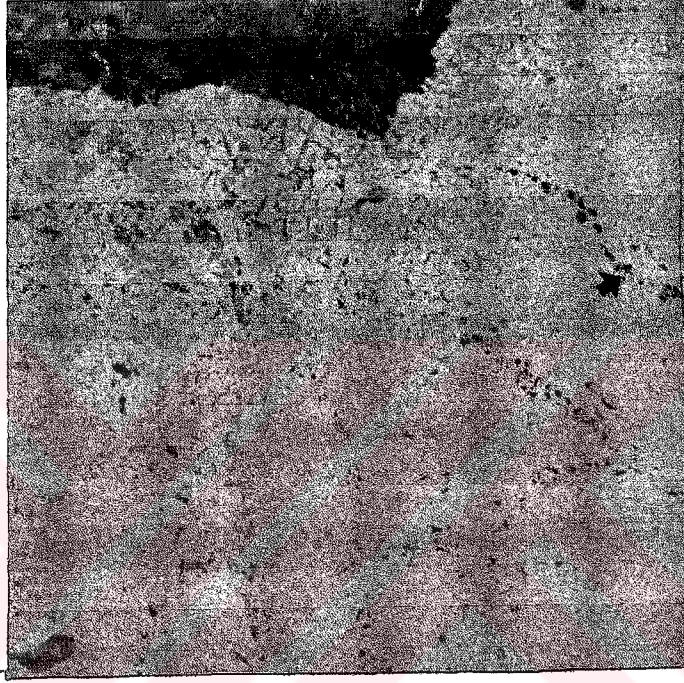
Resim 14: Kontrol grubuna ait midenin ince yapı düzeyindeki görünümü. Hücrelerin bazal bölgesi arasındaki bağlantı birimlerinin normal görünümü (ince ok) ve hücrelerin apikal bölgelerinde yoğun ve iri mukus granülleri (kalın ok) izlenmektedir (Boyama: Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 3000).



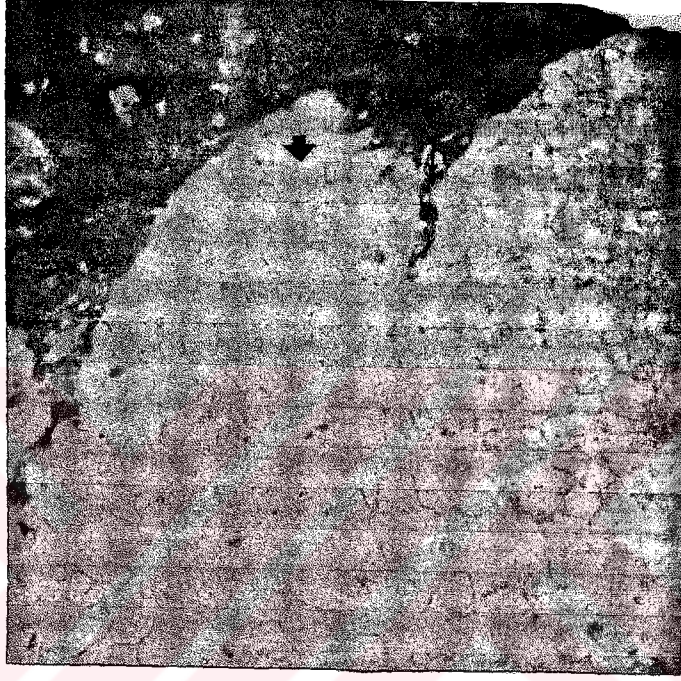
Resim 15: Kontrol grubuna ait midenin ince yapı düzeyindeki görünümü. Parietal hücrenin normal görünümü izlenmektedir (Boyama: Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 7000).

Grup-2: Sialoadenektomi grubuna ait mide mukozasını oluşturan epitel hücrelerinde oluşan değişikliklerin, diğer deney gruplarına oranla daha hafif olduğu gözlemlendi. Sialoadenektomi grubu, kontrol grubuna daha yakın bir görünüm sergilerken, kısmen apikal hücre bağlantı dejenerasyonu gözlenmektedir. Bu grupta yüzey ve boyun muköz hücreleri, yoğun salgı granülleri içermektedir (Resim 16, 17).

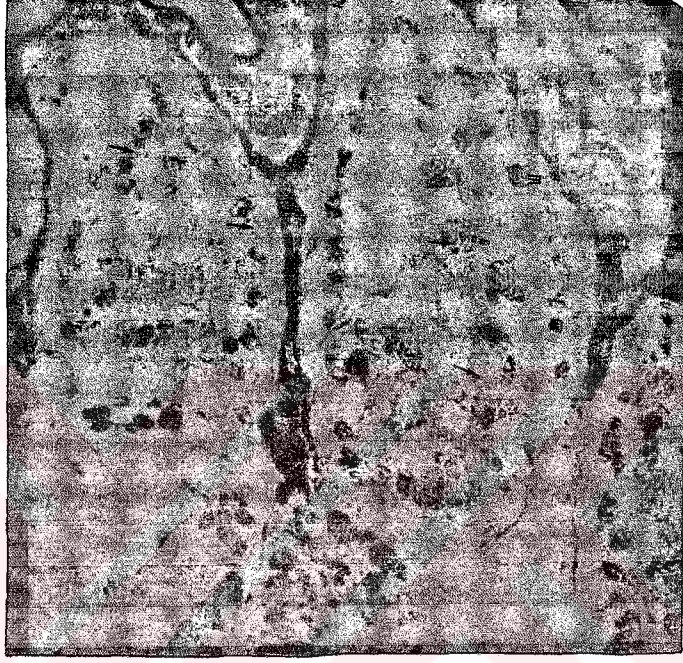
Parietal hücrelerin, kontrol grubu parietal hücrelerine benzer görünüm sergileyerek, normal hücrelerden biraz fazla intrasitoplazmik kanalikül ve mikrovilluslara sahip olduğu izlendi (Resim 18, 19,20).



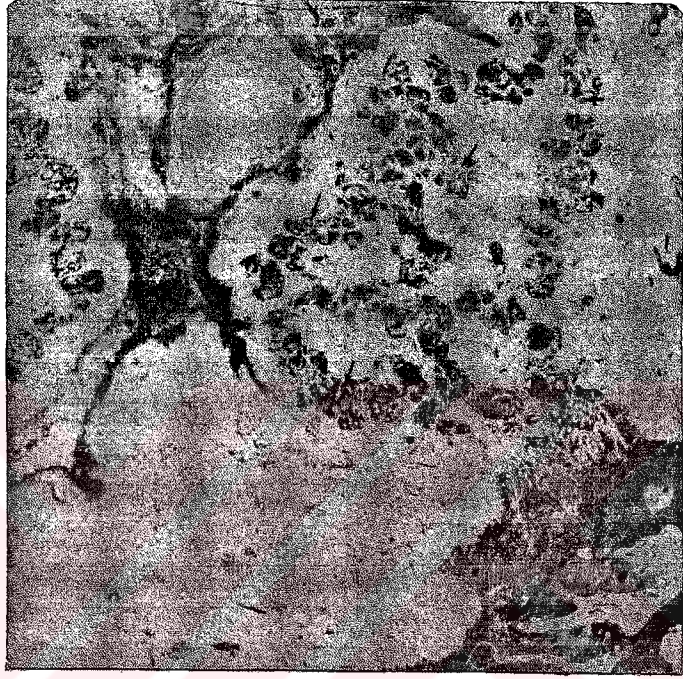
Resim 16: Sialadenektomi grubuna ait midenin ince yapı düzeyindeki görünümü. Yüzey epitel hücrelerinin bazal bölgesindeki bağlantı birimlerinde hafif düzeyde bozulmanın olduğu (ok) izlenmektedir (Boyama: Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 3000).



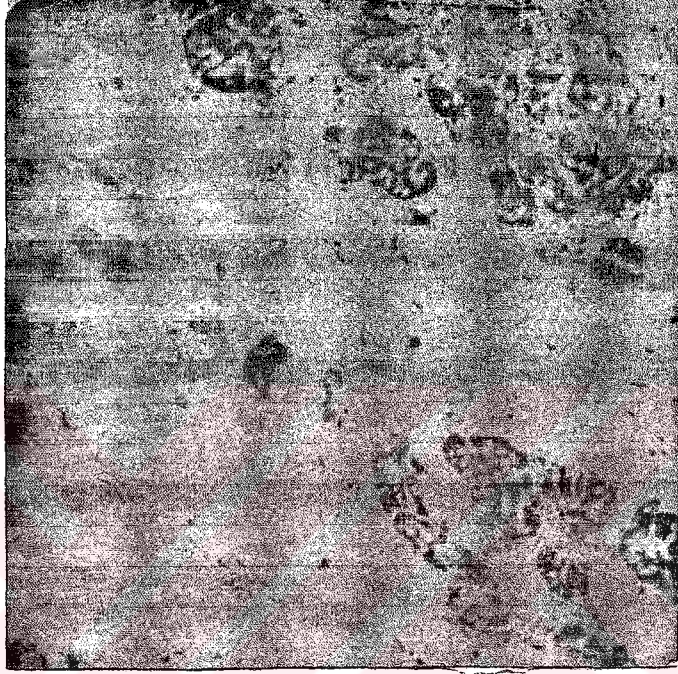
Resim 17: Sialoadenektomi grubuna ait midenin ince yapı düzeyindeki görünümü. Yüzey epitel hücrelerinin daha büyük büyütmeli görünümünde, apikal hücre bölümleri arasındaki bağlantı birimlerinin hafif dejenerasyonu (ince ok) ve hücrelerin apikal sitoplazmalarında iri mukus granülleri ile dolu (kalın ok) olduğu izlenmektedir (Boyama: Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 7000).



Resim 18: Sialoadenektomi grubuna ait midenin ince yapı düzeyindeki görünümü. Parietal hücrelerde intrasitoplazmik kanaliküller (ince oklar) ve mitokondriümlar (m) izlenmektedir (Boyama: Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 3000).



Resim 19: Sialadenektomi grubuna ait midenin ince yapı düzeyindeki görünümü. Epitel hücreleri arasında bol intrasitoplazmik kanaliküllere sahip (ince oklar) parietal hücreler gözlenmektedir (Boyama: Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 3000).



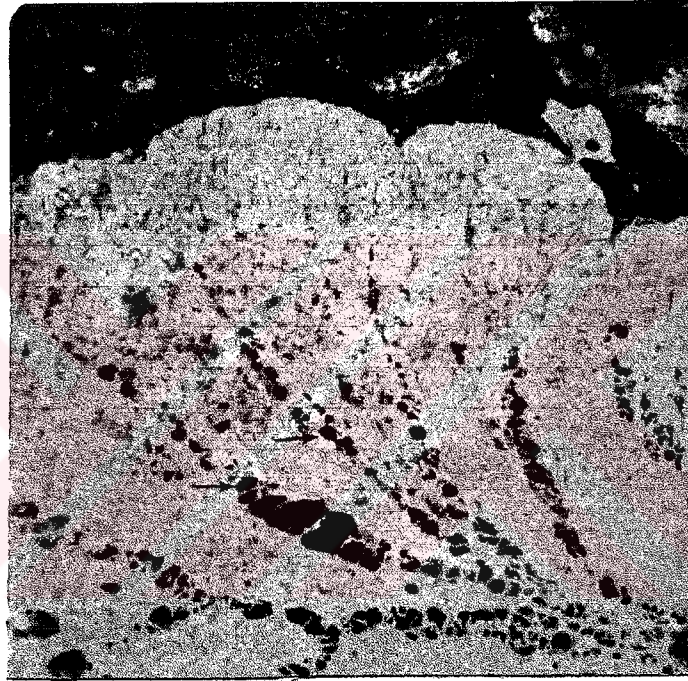
Resim 20: Sialoadenektomi grubuna ait midenin ince yapı düzeyindeki görünümü. İyi gelişmiş intrasitoplazmik kanalikülleri ile daha büyük büyütmede iki parietal hücre ve kanaliküllere sarkmış çok sayıda mikrovillus (ince oklar) görülmektedir. Bu hücrelerin sitoplazmalarının tubuloveziküllerden fakir olduğu izlenmektedir (Boyama: Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 7000).

Grup-3 : Alkol grubuna ait mide mukozasını oluşturan epitel hücrelerinde, kontrol grubuna oranla değişikliklerin olduğu saptandı.

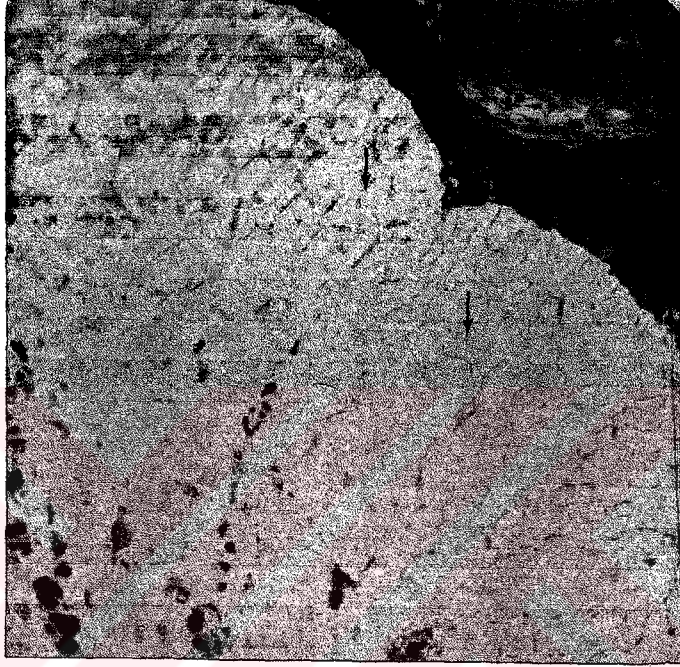
Alkol, yüzey ve boyun müköz hücrelerinde, hücreler arası bağlantı birimlerinin yapısını bozarak (Resim 21), bazalde hücre bölünmesini ve yeni boyun müköz hücresi yapımını olumsuz etkilemektedir.

Bu grupta, hem yüzey hem de boyun müköz hücrelerinde apikal hücre granülleri tamamen salgı ile dolu olmasına rağmen, parietal hücrelerde HCl sentezinin arttığını gösteren ultrastrüktürel bulgular, yüzey epitelinin tam olarak korunamadığını göstermektedir (Resim 22, 23).

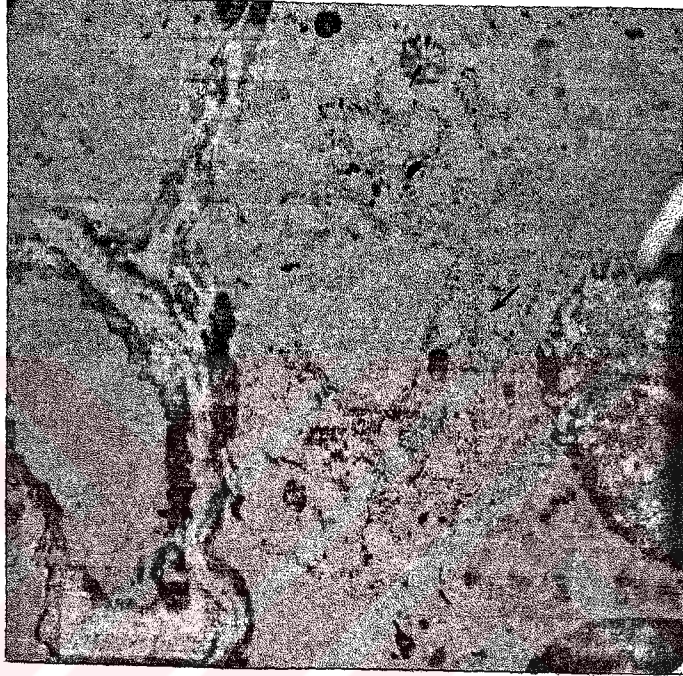
Intrasitoplazmik kanaliküllerin son derece belirgin oluşu ve içlerinin mikrovilluslar ile dolu oluşu, parietal hücrelerin aktif hücreler olduğunun kanıtıdır (Resim 24).



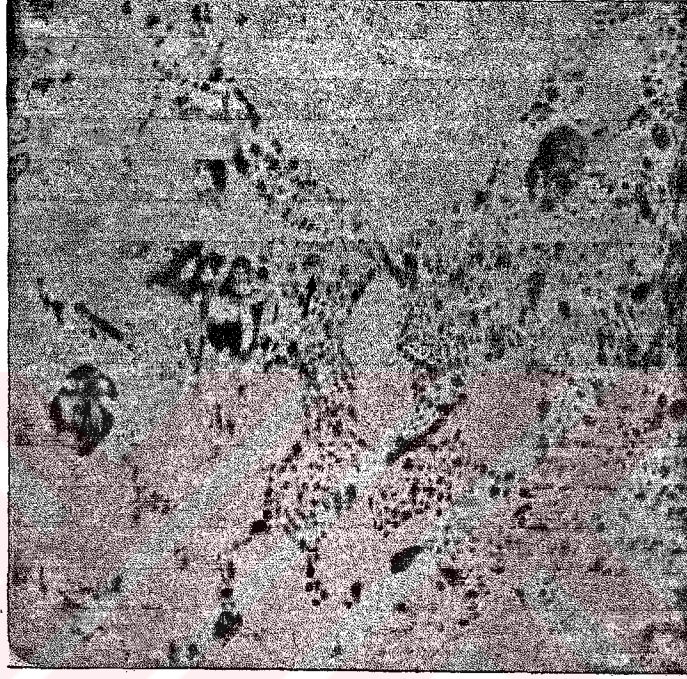
Resim 21: Alkol grubuna ait midenin ince yapı düzeyindeki görünümü. Oklar, yüzey epitel hücrelerinin özellikle bazal bölgesindeki bağlantı birimlerinin bozulmuş olduğunu göstermektedir (Boyama: Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 3000).



Resim 22: Alkol grubuna ait midenin ince yapı düzeyindeki görünümü. Yüzey epitel hücreleri apikalinin iri mukus granülleri ile dolu olduğu (ok) izlenmektedir (Boyama: Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 7000).



Resim 23: Alkol grubuna ait midenin ince yapı düzeyindeki görünümü. Parietal hücrelerde son derece gelişmiş intrasitoplazmik kanaliküller (tek oklar) ve mikrovillus sayısının artışı gözlenmektedir (Boyama: Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 4400).



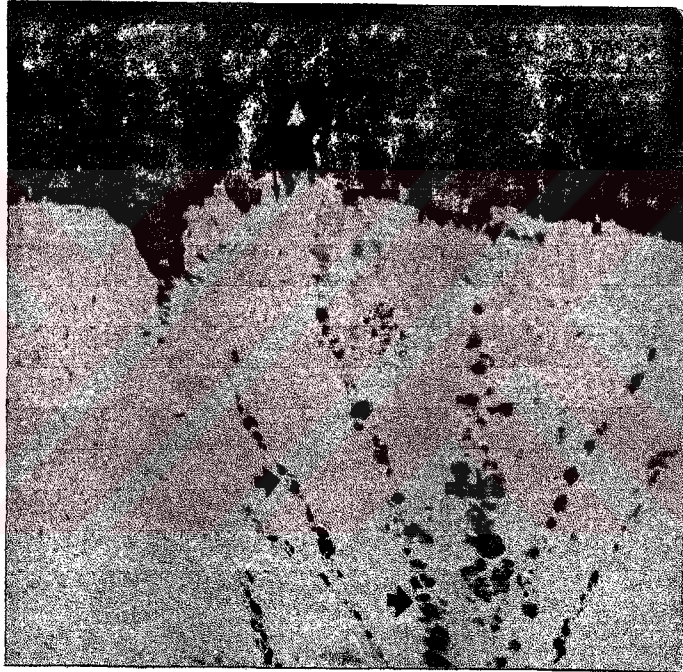
Resim 24: Alkol grubuna ait midenin ince yapı düzeyindeki görünümü. Parietal hücrenin daha büyük büyütmesinde intrasitoplazmik kanaliküllerde artan mikrovillus yapısı (oklar) gözlenmektedir. Kanaliküllerin tamamen mikrovilluslar ile dolu yapıları izlenmektedir (Boyama: Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 12000).

Grup-4: Sialoadenektomi+alkol grubunda, ince yapı düzeyinde, dikkate değer değişiklikler gözlemlendi. Öncelikle yüzey ve boyun muköz hücrelerin apikal zar dejenerasyonu belirgin idi. Bu hücrelerde, salgı granüllerinin son derece azalması, mukus içeriğinin de belirgin azalışının bir göstergesiydi (Resim 25, 26).

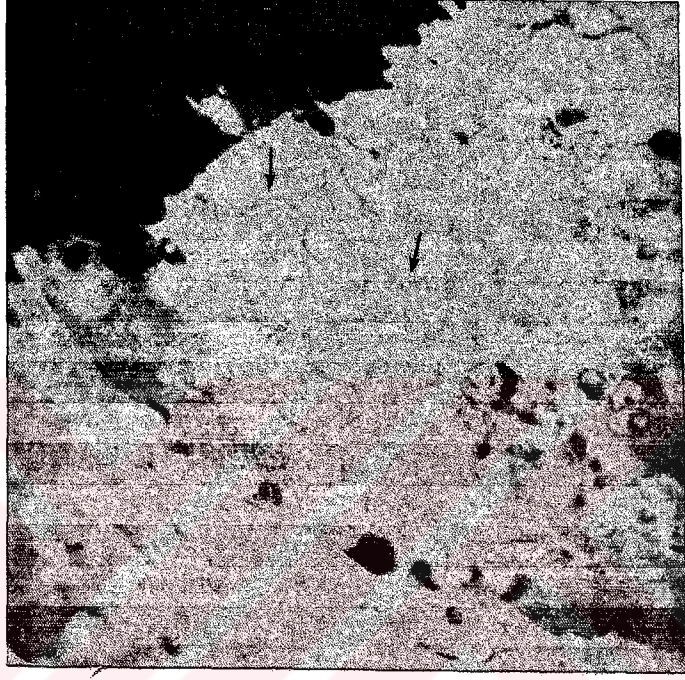
Ayrıca bu grupta da hücrelerarası bağlantı birimlerinde dejenerasyon gözlemlendi. Parietal hücreler, aktif hücre yapısı sergilemekteydi. Bu durum, asit sekresyonunun inhibisyona uğramadığının göstergesidir (Resim 27).

Parietal hücrelerin aktif hücre yapısında oluşu, EGF'nin etkinliğinin ortadan kalkmasıyla açıklanabilir.

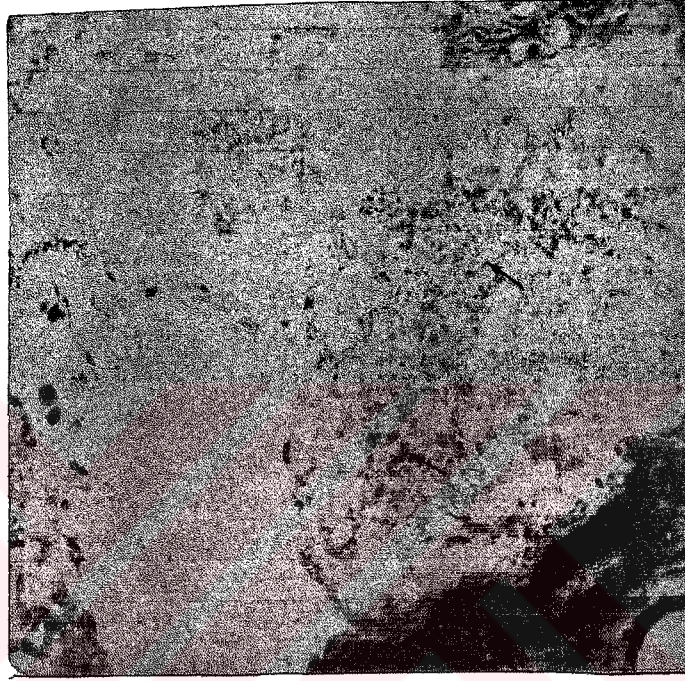
Bazı parietal hücrelerde ise artan intrasitoplazmik tubuloveziküller ve azalan kanaliküller, mikrovilluslar, inaktif hücre ultrasütrüktürünü sergilemekteydi. Bu ender bulgu, çok az sayıdaki parietal hücrenin ince yapısında gözlemlendi (Resim 28).



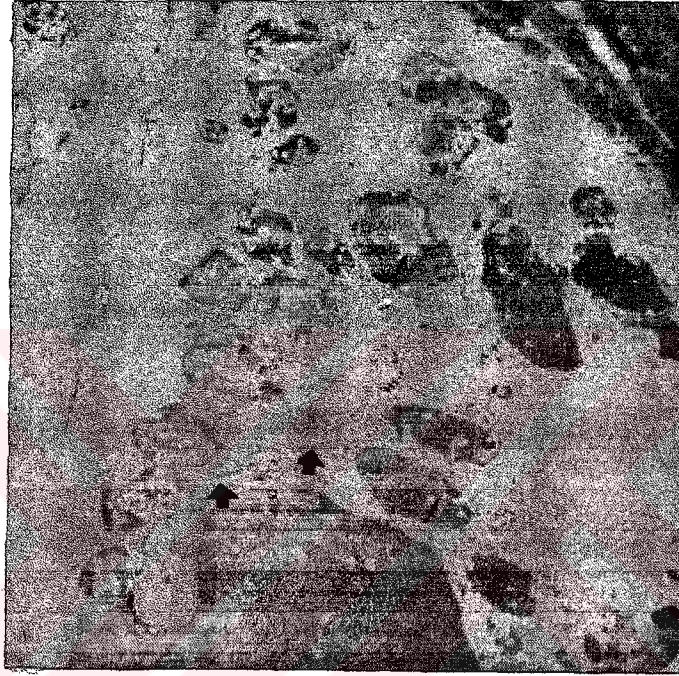
Resim 25: Sialoadenektomi+alkol grubuna ait midenin ince yapı düzeyindeki görünümü. Küçük büyütmede hücrelerarası apikal ve bazal bağlantı birimleri tamamen dejenere görünümde (kalın oklar), apikal hücre zarı parçalanmış durumda ve belirgin olarak salgı granüllerinde sayısal azalma (ince ok) izlenmektedir (Boyama: Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 3000).



Resim 26: Sialadenektomi+alkol grubuna ait midenin ince yapı düzeyindeki görünümü. Oklar, yüzey hücrelerinde mukus granüllerinin son derece azaldığını göstermektedir (Boyama: Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 12000).



Resim 27: Sialoadenektomi+alkol grubuna ait midenin ince yapı düzeyindeki görünümü. Bu grupta bazı parietal hücreler alkol grubundaki hücelere benzer özellik göstermektedir. Hücrelerde intrasitoplazmik kanalliküllerin son derecede gelişmiş yapıları (ince oklar) izlenmektedir (Boyama: Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 4400).



Resim 28: Sialoadenektomi+alkol grubuna ait midenin ince yapı düzeyindeki görünümü. Bazı parietal hücreler ise az sayıda mikrovillus (ince oklar) ve çok sayıda sitoplazmik tubuloveziküller (kalın oklar) ile inaktif hücre görünümü sergilemektedir (Boyama: Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 7000).

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Bu çalışmada, sıçanların submandibular tükürük bezinin tamamen çıkarılması ile alkolün mide mukozası üzerinde etkinliğini artırıp artırmadığı konusu; makroskobik, ışık mikroskobu, histokimyasal, mide mukus miktarının kantitatif değerlendirilmesi ve elektron mikroskobu düzeylerinde araştırıldı.

Submandibular tükürük bezinin çıkarılması ve orogastrik sonda ile mutlak etil alkol uygulanmasının oluşturduğu etkiler, çeşitli metodlar ile incelenmesine karşın, mide mukozasının elektronmikroskobik incelenmesi yapılmamıştır.

Araştırmamızda, standart ülser modeli oluşturmak üzere etanol uygulanması seçilip, 300 gr vücut ağırlık için, 1 ml mutlak etil alkol orogastrik sonda ile verilmiştir. Uygulamayı takiben 24 saat sonra mide ülserlerinin şekillendiği, makroskobik olarak gözlenmiştir.

Mizui ve Doteuchi (5), tipik gastrik lezyonların, % 40'ın üzerindeki etil alkol ile oluşabileceğini bildirmişlerdir. Ancak Tepperman ve Soper (21), mutlak etil alkol uygulanmasını takiben bir saat sonra mide lezyonlarının şekillendiğini gözlemlemişlerdir.

Sıçanlara etanol verilmesine bağlı olarak mide koruyucu epitelinde kayıp, kanama, lenfosit infiltrasyonu ve submukoza tabakasında ödemin gözlemlenmesi, daha önce yapılan çalışmalar ile uyum içindedir (1, 5-8).

Deney hayvanlarında Epidermal Growth Factor'ün salındığı organlar arasında en büyük payı, submandibular tükürük bezi alır (9).

Sıçanların submandibular tükürük bezinin çıkarılmasını takiben ortalama 21 gün sonra plazma EGF düzeyinin düştüğü, mide mukozasında ufak ülseratif değişikliklerin şekillendiği ve iritan maddelere (aspirin, antiinflamatuvar ve etanol) duyarlılık kazandığı önceki çalışmalarda ortaya konulmuştur (12, 20-25).

Çalışmamızda, kontrol grubuna ait sıçanların mide mukozalarının makroskobik incelenmesinde, herhangi bir değişiklik ve kanama odağı gözlenmedi. Alkol grubunda midedeki ruga yapılarının silindiği ve yer yer kanama odakları olduğu izlendi (Resim 2).

Sialoadenektomi edilen sıçanların mide dokularının makroskobik incelenmesinde, peteşial kanama odakları izlendi (Resim 4). Sialoadenektomi sonrası alkol uygulanmasının, mide mukozasını daha duyarlı hale getirdiği

gözlendi. Mide rugalarının silindiği ve kanama odaklarının genişlediği (Resim 5) görüldü.

Tepperman ve Soper (32), sialoadenektomi sonrası alkol vererek, mide ülserinin şekillendiğini tespit etmişlerdir. Dışarıdan verilen EGF'nin ülserlerin ortadan kaldırılmasında yetersiz kaldığını gözlemlemişlerdir. Bu bulguları, plazma EGF düzeyinin, mide mukozasını korumada daha etkin olduğu savını desteklemektedir.

Konturek ve arkadaşları (33), sialoadenektomi sonrası hareketsizlik stresi sonucu makroskobik olarak benzer bulguları gözlemlemişlerdir.

İndometazin kaynaklı ülserlerin giderilmesinde eksojen verilen EGF etkin olmasına karşın (34), kortizon gibi nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların şekillendirdiği mide mukozal bozukluklarda etkisiz kalmaktadır. Buna karşın, etanolün şekillendirdiği ülserlerde EGF önemli ölçüde mide asit sekresyonunu inhibe ederek, mukozal yenilenmeyi artırarak etki göstermektedir (29, 43).

Mide dokusunun histokimyasal incelenmesinde PAS boyası kullanılarak, mide koruyucu epitel yüzeyinde bulunan mukus kaybı incelendi. Kontrol grubunda yüzey mukus tabakası normal izlenirken, sialoadenektomi, alkol ve sialoadenektomi+alkol gruplarında, bu tabakanın ortadan kalktığı gözlendi. Sialoadenektomi+alkol grubunun tümüden PAS (-) boyandığı çarpıcı olarak izlendi.

Histokimyasal bulgularımız, Sarosiek, Freng ve Mccallum'un (57) çalışmaları ile uyum içindedir.

Kontrol grubuna ait sıçanların mide mukozal epitel hücrelerinin yüzey ve boyun müköz hücreleri arasındaki bağlantı birimlerinin normal yapıda olduğu ve apikal sitoplazmalarında iri ve yoğun granüller içerdikleri izlendi (Resim 14). Ancak sialoadenektomi grubunda hücreler arasındaki bağlantı birimlerinin bozulduğu gözlendi. Sialoadenektomi ile sağlanan EGF eksikliği sonucu, parietal hücrelerde, kontrol grubundaki parietal hücrelere oranla intrasitoplazmik kanaliküllerin ve mikrovillus yapılarının gelişmiş olduğu dikkat çekiciydi.

Murayeme, Miyagawa ve Higashiyama (23), yaptıkları immunohistokimyasal çalışmada, midenin fundus bölgesindeki parietal hücrelerin plazma membranı ile sitoplazmalarında, EGF reseptörlerinin varlığını ortaya koymuşlardır. Bu araştırma, midenin fundus bölgesinin, EGF'ye duyarlı hedef bir durumda olduğunu göstermektedir.

Sialoadenektomi sonrası ince yapı düzeyindeki incelemede parietal hücrelerin bu denli etkilenmesi, reseptör düzeyinde bir etkilenmeyi düşündürmektedir.

Sialoadenektomi sonucu asit sekresyonundaki artış, parietal hücrelerden kaynaklanmaktadır. Bu olgu, daha önce yapılan çalışmalar ile uyum içindedir (21,25).

Alkol grubunda, ince yapı düzeyindeki incelemede, bozuklukların daha açık olduğu gözlemlendi. Hücreler arasındaki bağlantı birimlerinin bozulduğu, bazı hücre bölünmelerinin kesintiye uğradığı ve boyun müköz hücrelerinin şekillenmesini olumsuz yönde etkilediği belirlendi. Ayrıca parietal hücrelerin aktif hücreler olması, mide mukozal epitelinin bozulmasını kamçılayan etkenleri açıklamaktadır.

Etanol grubunda gözlenen bulgular, Evangelista ve arkadaşlarının (25) çalışmaları ile uyum içindedir.

Sialoadenektomi+alkol grubunda, mide yüzey hücreleri ve boyun müköz hücrelerinin apikal zar dejenerasyonu oldukça belirgin idi. Hücrelerin apikal sitoplazmalarında salgı granüllerinin son derece azalması, mukus miktarının düşüşünü göstermektedir. Bu bulgu, histokimyasal ve mide mukus miktarı tayini sonucu elde ettiğimiz bulgularımızı desteklemektedir. Sialoadenektomi+alkol grubunda, parietal hücrelerde mikrovillus yapılarının azalmasına karşın, sitoplazmik tubuloveziküllerin artması, ilginç bulgularımızdandır (Resim 28).

Okita ve arkadaşları (20), EGF'nin, koruma ve mide lezyonlarını onarmadaki etkinliğini ortaya koymuşlardır. Çalışmalarının histokimyasal bölümünde, hEGF uygulanmasından sonra sıçanların fundus bezlerinin, PAS ile pozitif boyanması, boyun müköz hücrelerini olumlu yönde etkileyerek mukus sentezini arttırdığını göstermişlerdir. İnce yapı düzeyindeki incelememizde, deney gruplarının boyun müköz hücrelerinde salgı granüllerinin azalması, EGF eksikliğinin sonucunu yansıtmakta, bu bulgumuz daha önceki çalışmaları desteklemektedir (20, 22).

EGF, mide asiditesine duyarlılığı ortadan kaldırmakta ve mideyi eroziv etkilerden korumaktadır. EGF'nin antiülser etkilerinden biri, mide sekresyonunu inhibe etmesidir.

Bu çalışmada, mide mukozal bariyerinin önemli komponentlerinden olan mukus miktarında, sialoadenektomi, alkol ve sialoadenektomi+alkolün neden

olduğu değişiklikler de incelendi. Kontrol grubuna göre diğer üç grupta, mukus miktarında anlamlı düzeyde düşme olduğu gözlemlendi.

Deney sonunda mide dokusundan örnekler alınıp, spektrofotometre ile mukus miktarı ölçüldü. Kontrol grubunda mukus miktarı normal olmasına karşın, sialoadenektomi, alkol ve sialoadenektomi+alkol gruplarında önemli ölçüde düşüş gözlemlendi. En belirgin düşüş, sialoadenektomi +alkol grubunda idi (Tablo -3, Grafik - 1).

Mide mukoza bütünlüğünün korunmasında, endojen ve eksojen koruyucu faktörlerin etkileri ve mukozal savunma bariyerinin komponentlerinin çeşitli zararlı ajanlara karşı koruyucu mekanizmaları ile ilgili çok sayıda çalışma mevcuttur. Çok sayıda karanlık noktanın aydınlatılmasına karşın henüz açıklanamamış mekanizmalarla ilgili tartışmalar devam etmektedir.

Sialoadenektomi sonucu EGF salgılanması inhibisyonunun, gastrik hasara yol açtığı gösterilmiştir (12, 17, 19, 25).

Sialoadenektomi sonucu mide hasarları ile ilgili yapılan çalışmaların çoğunda, plazma EGF düzeyleri düşük bulunmuş fakat bu düşüşün anlamlı olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu durumda, dolaşımdaki EGF'nin sialoadenektomili hayvanların mide mukozası üzerine koruyucu etkisinin önemli olmadığı ve tükürük EGF'sinin koruyucu etkili olduğu sonucu çıkarılabilir (17).

EGF, epitelial dokularda, *in-vivo* ve *in-vitro* olarak değişik dokularda proliferasyonda ve biyolojik yanıtların oluşmasında önemli rol oynamaktadır (14,23).

Gastroduodenal mukus tabakası, asit diffüzyonuna karşı fonksiyonel bir bariyer oluşturur. EGF, mukozal savunma hattının mukus tabakasındaki yüzey aktif fosfolipit salgılanmasına yol açıp, hidrofobilitiyi güçlendirerek önemli fizyolojik rol oynamaktadır (49).

Mide mukozasının iritan ajanlara karşı korunmasında ve mukozanın uygun bir mikro çevre şartlarının sürdürülmesinde, jelatinöz mukus tabakasının rolü tartışılmazdır (50).

Son zamanlarda mide mukozal bariyeri üzerinde, endojen ve eksojen iritan ajanlara karşı EGF'nin etkisi ile ilgili yoğun çalışmalar yapılmaktadır.

Etanol intragastrik olarak uygulandığında, mide mukozasının hidrofobilitisini ve mukusun fiziksel özelliklerini bozduğu öne sürülmüştür (51).

Alkolün, deney hayvanlarında, akut eroziv gastritlerin oluşumunda rol aldığı, gastrik mukozada ülserasyonlara varan lezyonlar oluşturduğu, bir çok araştırmada ortaya konulmuştur (12, 52, 53).

Sialoadenektomi sonucu, EGF'nin mide mukozal bariyeri üzerine olan koruyucu etkisinin kalkmasının (16,40) yanında, alkolün lipid peroksidasyonunu uyarması sonucu, hidroksil radikali oluşumu artar (54). Serbest oksijen radikalleri, birçok dokuda olduğu gibi, mide mukozasında da hasara neden olur (55,56). Bu olgu, sialoadenektomi+alkol grubunda, neden en düşük mukus değerini saptadığımızı açıklar.

Sarosiek, Freng ve Mccallum (57), sialoadenektomi yapılan sıçanlarda, gerek özofagus, gerekse mide mukus kalınlığının, fosfolipit yapısının ve musinin mukus içeriğinin azaldığını göstermişlerdir. Bizim spektrofotometrik bulgularımız, Sarosiek ve arkadaşlarının çalışmaları ile uyum içindedir.

Mide mukozasındaki mukus sentezi ve salgılanmasının, sialoadenektomi ve etanol uygulanması ile doğrudan veya dolaylı yolla bozulmasının, ülserlerin etmenlerinde önemli rol oynadığını söyleyebiliriz.

Sonuç olarak, sialoadenektomi sonucu EGF'nin mukus arttırıcı etkisinin ortadan kalkması ve parietal hücreler üzerindeki HCl asit sentezini inhibe edici etkisinin yok olması ile alkolle indüklenen gastrik ülser, son derece ileri ultrastrüktürel dejenerasyonları açıkça sergilemektedir. Bu bulgular, EGF'nin koruyucu etkisini desteklemektedir.

6. KAYNAKLAR

- 1- MUTOH, H., HIRAISHI H., OTA, S., TEROAO, A., OGURA, K., LUEY, K.J., SUGIMOLO, T. 1995. Relationships Between Metal Ions And Oxygen Free Radicals In Ethanol-Induced Damage to Cultured Rat Gastric Mucosal Cells. *Dig. Dis. Sci*, 40:2704-2711.
- 2- MILLER, T.A. 1983. Protective Effects Of Prostaglandins Aganist Gastric Mucosal Damage: Current Knowledge and Proposed Mechanisms, *Am. J. Physiol*, 245:601-623.
- 3- EPSTEIN, F.H. 1988. Mechanisms of Disease. *Eng. J. Med.*, 319: 1639-1650.
- 4- KOHUT, A., MOJZIS, J. 1993. Effect of Allopurinol And Suroxide Dismutase on Indomethacin-Induced Gastric Lesions in The Rat. *Physiol. Res.*, 42: 273-276.
- 5- MIZUI, T., DOTEUCHI, M. 1986. Lipid Peroxidation : A Possible Role In Gastric Damage Induced by Ethanol in Rats. *Life Sci.* ,33: 2163-2167.
- 6- GALLI, S.J., WERSHIL, B.K., BOSE R, WALKER , P.A., SZABO, S. 1987. Ethanol-Induced Acude Gastric Injury In Mast Cell-Defficient And Congenic Normal Mice. *Am. J. Pathol.* , 128: 131-140.
- 7- YÜNCÜ, M., KALKAN, S., ÇERÇİ, M., DUMAN, S., AKTAN, M., CÜCE, H. 1996. The Effect of Acute Ethanol Intake on Gastric Mast Cellls of Rats. *Türkiye Tıp Dergisi*. 3: 213-220.
- 8- KOÇYIĞIT, Y., DENLİ, O., KETANİ, M.A. 1999. The Protective Effect of Radical Scavenger and Anti-Oxidand on Gastric Mucosa Injured Ethanol. *Türkiye Tıp Dergisi*, 6(3): 151-156.
- 9- KURACHI, H., OKAT, T. 1985. Changes In Epidermal Growth Factor Concentrations Of Submandibular Gland, Plasma and Urine of Normal and Sialoadenectomized Female Mice During Various Reproductive Stages. *Journal of Endocrinology*, 106 : 197-202.
- 10- TSUTSUMI, O. , KURACHI, H., OKA, T. 1986. A Physiological Role of Epidermal Growth Factor In Male Reproductive Function. *Science*, 233:975-977.
- 11- ELDER, J.B., WILLIAM, G., LACEY, E., GREGORY, H. 1978. Cellular Localization of Human Urogastrone/Epidermal Growth Factor. *Nature*, 271:466-467.

- 12- KONTUREK, S.J., BRZOZOWSKI, T., KONTUREK, P.K., MAJKA, J., DEMBINSKI, A. 1991. Role of Salivary Glands And Epidermal Growth Factor (EGF) in Gastric Secretion And Mucosal Integrity in Rats Exposed to Stress. *Regulatory Peptides*, 32 : 203-215.
- 13- NEXO, E., POULSEN, S.S. 1987. Does Epidermal Growth Factor Play A Role in The Action Of Sucralfate ? *Gen. Pharmacol.*, 127 : 65-69.
- 14- COHEN, S., SAVAGE, C.R., JR. Part II. 1974. Recent Studies on The Chemistry And Biology Of Epidermal Growth Factor. *Recent Progress in Hormone Research* , 30: 551-574.
- 15- CHRISTOPHER, J., SHORROCK, B.S., WYNNE, D.W. 1988. Overview Of Gastroduodenal Mucosal Protection. *Am. J. Med.*, 84 (suppl 2A): 25-34.
- 16- BICKEL, M., KAUFMAN, G. 1981. Gastric Mucus Gel Thickness: Effect of Distension, 16,16-Dimethylprostaglandin E2 and Carboenoxolone. *Gastroenterology*, 80:770-775.
- 17- HILLS, B.A., BUTLER, B.D., LICHTENBERGER, L.M. 1983. Gastric Mucosal Barrier: Hydrophobic Lining to The Lumen of The Stomach. *Am J. Physiol*, 244:561-568.
- 18- ITOH, M., GUTH, P. 1985. Role Of Oxygen Derived Free Radicals in Hemorrhagic Shock-Induced Gastric Lesions in Rat. *Gastroenterology*, 88: 1162-1167.
- 19- SZABO, S. 1981. Sulphydryl Compounds May Mediate Gastric Cytoprotection. *Science*, 214: 200-2002.
- 20- OKITA, K., KARITA, M., NAKANISHI, N., TAKEMOTO, T. 1991. Role Of Epidermal Growth Factor in Protection and Repair of Gastric Mucosal Injury. *J. Clin. Gastroenterol.* , 13 (suppl. 1) : 103-108.
- 21-TEPPERMAN, B.L., SOPER, B.D. 1990. Effect of Sialoadenectomy on Gastric Mucosal Integrity and Growth in The Rat. *Digestive Disease and Sciences*, 35 (8) : 943-949.
- 22-KONTUREK, S.J., BRZOZOWSKI, T., DEMBRINSKI, A. 1988. Comparison of Solcoseryl and Epidermal Growth Factors (EGF) In Healing Of Chronic Gastroduodenal Ulcerations and Mucosal Growth In Rats. *Hepato-Gastroenterol.*, 35 : 25-29.

- 23-MURAYAMA, Y., MIYAGAWA, J.C., HIGASHIYAMA, S. 1995. Localization of Heparin-Binding Epidermal Growth Factor-Like Growth Factor in Human Gastric Mucosa. *Gastroenterology*, 109: 1051-1059.
- 24- KONTUREK, S.J., BRZOZOWSKI, A., DEMBINSKI, Z. 1988. Interaction Of Growth Hormone-Releasing Factor And Somatostatin on Ulcer Healing and Mucosal Growth in Rats: Role Of Gastrin And Epidermal Growth Factor. *Digestion*, 41 : 121-128.
- 25-EVANGELISTA, S., MAGGI, C.A. 1991. Influence Of Sialoadenectomy on Capsaicin-Sensitive "Gastric Defence Mechanism" in Rats. *Japan J. Pharmacol.*, 56: 377-380.
- 26-MOTILVA, V., LOPEZ, M.J., MARTIN, C., 1996. Cytoprotectiveactivity of Cisapride on Experimental Gastric Mucosal Lesions Induced by Ethanol. Role of Endogenous Prostaglandins. *Prostaglandins*, 52 : 63-74.
- 27-GORDON, J.L. 1985. Role of The Salivary Glands in Protecting The Stomach Against Ethanol. *Alcohol & Alcoholism*, 20 (3) : 305-311.
- 28- KUWAHARA, Y., SUNAGAWA, Y., IMOTO, Y., OKABE, S. 1990. Effects of Orally Administered Human Epidermal Growth Factor On Natural and Delayed Healing of Acetic Acid-Induced Gastric Ulcers In Rats. *Japan J. Pharmacol.*, 52 : 164-167.
- 29- KONTUREK, S.J., BRZOZOWSKI, T., MAJKA J, DEMBINSKI, A., SLOMIANY, A., SLOMSANY, B.L. 1992. Transforming Growth Factor Alpha and Epidermal Growth Factor in Protection and Healing of Gastic Mucosal Injury. *Scand. J. Gastroenterol.* , 27 (8) : 649-655.
- 30- WINGREN, U., BROWN, B.M., WATKINS, G.M. 1989. Delayed Gastric Ulcer Healing After Extirpation of Submandibular Glands Is Sex-Dependent. *Scand. J. Gastroenterol.*, 24 (9) : 1102-1106.
- 31- HANSEN, G., MÜLLER, C., SINHA, P. 1989. Gastric Ulcer Is Accompanied by a Decrease of Epidermal Growth Factor In Gastric Juice and Saliva. *J. Clin. Chem. Clin Biochem.* ,27 : 539-545.
- 32-TEPPERMAN, B.L., SOPER, B. 1990. Effect Of Sialoadenectomy on Ethanol – Induced Gastric Mucosal Damage in The Rat : Role Of Neutrophils. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 68 : 207-210.

- 33-** KONTUREK, J.W., BRZOZOWSKI, T., KONTUREK, S.J. 1991. Epidermal Growth Factor in Protection, Repair, And Healing of Gastroduodenal Mucosa. *J. Clin. Gastroenterol.*, 13(1): 88-97.
- 34-** JOSEPH, J.F., WELLS, C.L. 1989. Effect Of Epidermal Growth Factor on Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug-Induced Intestinal Damage. *Agents and Actions*, 27 (3-4) : 294-296.
- 35-** KONTUREK, S.J., DEMBINSKI, A., WARZECHA, Z. 1988. Epidermal Growth Factor (EGF) in The Gastroprotective And Ulcer Healing Actions of Colloidal Bismuth Subcitrate (De-Nol) In Rats. *Gut*, 29: 894-902.
- 36-** KUWAHARA, Y., OKABE, S. 1989. Effect of Human Epidermal Growth Factor On Natural and Delayed Healing of Acetic Acid-Induced Gastric Ulcers In Rats. *Scand J. Gastroenterol. Suppl.*, 162: 162-165.
- 37-** WANG, S.L., WUWANG, C.Y., SLOMIANY, A., SLOMIANY, B.L. 1994. Effect of Acute Ethanol Treatment on Epidermal Growth Factor receptor in The Rat Stomach. *Alcohol*, 11(1) : 11-15.
- 38-** TEPPERMAN, B.L., SOPER, B.D. 1994. Effect of Epidermal Growth-Factor, Transforming Growth-Factor-Alpha and Nerve Growth Factor on Gastric Mucosal Integrity and Microcirculation in The Rat. *Regulatory Peptides*, 50(1): 13-21.
- 39-** MAKOTO, I., TAKASHI, J. 1988. Experimental and Clinical Studies on Epidermal Growth Factor For Gastric Mucosal Protection And Healing of Gastric Ulcers. *J. Clin. Gastroenterol.*, 10 (1) : 7-12.
- 40-** OLSEN, S.P., POULSEN, S.S., KIRKEGAARD, P., NEXO, E. 1984. Role Of Submandibular Saliva and Epidermal Growth Factor in Gastric Cytoprotection. *Gastroenterology*, 8 :103-108.
- 41-** KINOSHITA, M., KUME, E., IGARASHI, S., SAITO, N., NARITA, H. 1999. Role of Salivary Mucin in Protection, of Rat Esophageal Mucosa From Acid and Pepsin Induced Injury. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 277(4): 796-800.
- 42-** RAO, R.K., THOMAS, D.W., PEPPERL, S., PORRECA, F. 1997. Salivary Epidermal Growth Factor Plays a Role in Protection of Ileal Mucosal Integrity. *Digestive Diseases and Sciences*, 42 (10): 2175-2121.

- 43-** SCHEIMAN, J.M., MEISE, K.S., GREENSON, J.K., COFFEY, R.J. 1997. Transforming Growth Factor-Alpha (TGF α) Levels in Human Proximal Gastrointestinal Epithelium Effect of Mucosal Injury and Acid Secretion. *Digestive Diseases and Sciences*, 42 (2): 333-341.
- 44-** YANG, J., TYLER, L.W., DONOFF, R.B., SONG, B.Z., TORIO, A.J. 1996. EGF Regulates Eosinophil-Derived TGF α Expression in Hamster Oral Wounds. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 33(1): 191-202.
- 45-**CORNE, S.J., MORRIESSEY, S.M., WOODS, R.J. 1974. A Method For Quantitative Estimation of Gastric Barrier Mucus. *J. Physiol*, 242:1169-1179.
- 46-** SAUNDERS, R.D., TRAPP, R.B. 1974. Basic and Clinical Biostatistics, 2nd ed., Appleton& Lange Prentice-Hall, NORLWAK.
- 47-** REYNOLDS, G., 1990. Handbook of Histological Techniques. 2nd edition, Department of Histopathology, LONDON.
- 48-** DEMİR, R, 2001. Histolojik Boyama Teknikleri. Birinci baskı. Palme Yayıncılık, ANKARA.
- 49-** LUGEA, A., MOURELLE, M., DOMINGO, A., SALAS, A. 2001. Epidermal Growth Factor Increases Surface Hydrophobicity and Resistance To Acid In The Rat Duodenum. *Am J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 43: 774-789.
- 50-** WALLACE, J.L., WHITTLE, B.J.R. 1986. Role Of Mucus in The Repair of Gastric Epithelial Damage in The Rat. *Gastroenterology*, 91: 603-611.
- 51-**MOSINIER, P., RAYSSIGUIER, Y., MOTTA, C., PELISSIER, E., BOMMELAER, G. 1993. Effect of Ethanol on Rat Gastric Surfactant : A Fluorescence Polarization Study. *Gastroenterology*, 104: 179-184.
- 52-** MATSUMOTO, T., MORIGUCHI, R., YAMADA, H. 1993. Role of Polymorpho-Nuclear Leucocytes and Oxygen-Derived Free Radicals in The Formation of Gastric Lesions induced by HCl/Ethanol and Possible Mechanism of Protection by Anti-Ulcer Polyaccharide. *J. Pharm Pharmacol.*, 45: 535-539.
- 53-**TREIR, J.S., SZABO, S., ALLAN, C.H. 1987. Ethanol Induced Damage to Mucosal Capillaries of Rat Stomach: Ultrastructural features and effects of PGF 2β and Cysteamine. *Gastroenterology*, 92:13-22.
- 54-**KOHUT, A., MOJZIS, J. 1993. Effect of Allopurinol and Superoxide Dismutase on Indomethasine-Induced Gastric Lesions in The Rat. *Physiol Res.*, 42:273-276.

55-ROSS, D. 1988; Glutathione, Free Radicals and Chemotherapeutic Agents; Pedent Protection. *Pharmacol Ther.* 37:231-249.

56-VICTOR, B.E., SCHMIDT, K.L., SMITH, G.S. 1989. Prostaglandin Induced Gastric Mucosal Protection Against Stress Injury. Absence at. A Relationship To Tissue Glutathione Levels. *Ann Surg.*, 209: 289-296.

57-SAROSIEK, J., FRENG, T., MCCALLUM, R.W. 1991.. The Interrelationship Between Salivary Epidermal Growth Factor and The Functional Integrity of The Esophageal Mucosal Barrier In The Rat. *Am J Med. Sci.*, 302(6): 359-363.



7. ÖZGEÇMİŞ

1973 yılında, Diyarbakır'da doğdum. İlköğrenimimi 1987 yılında, ortaöğrenimimi 1990 yılında, Diyarbakır'da tamamladım. Yüksek öğrenimimi, 1990-1994 yılları arasında, Dicle Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde gördüm. 1994 yılında, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. 1995 yılında, Dicle Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilimleri Eğitimi Bölümü Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalı'nda, araştırma görevlisi olarak göreve başladım. "Ratlarda Hamilelik Döneminde Verilen Nikotinin, Neonatal Dönemde Molar Dişler Üzerindeki Etkileri" konulu tezimle, 1996 yılında yüksek lisans eğitimimi tamamladım. Aynı yılda, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimime başladım.

Evli ve bir çocuk annesiyim.

**TC YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANİYON BİRİMİ**