



T.C.

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

İNSAN MİDESİNDEKİ ENTEROENDOKRİN HÜCRELERİN

HİSTOKİMYASAL VE İMMÜNHİSTOKİMYASAL

OLARAK İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OKŞAN UYAR GAZEZOĞLU

Danışman: Prof. Dr. Feral ÖZTÜRK

Bu çalışma MSKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No:15/265

TEMMUZ, 2017

MUĞLA



T.C.

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

İNSAN MİDESİNDEKİ ENTEROENDOKRİN HÜCRELERİN

HİSTOKİMYASAL VE İMMÜNHİSTOKİMYASAL

OLARAK İNCELENMESİ

OKŞAN UYAR GAZEZOĞLU

Sağlık Bilimleri Enstitüsünde

“Yüksek Lisans”

Diploması Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 22/08/2017

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 14/08/2017

Tez Danışmanı : Prof.Dr.Feral ÖZTÜRK

Jüri Üyesi : Prof.Dr.Meltem KURUŞ

Jüri Üyesi : Yrd.Doç.Dr.Hülya ELBE

Enstitü Müdürü : Prof. Dr.Feral ÖZTÜRK

TEMMUZ, 2017

MUĞLA

TUTANAK

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün ~~17/07/2017~~ tarih ve ~~17/3~~ sayılı toplantısında oluşturulan jüri, Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ~~24/6~~ maddesine göre, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Okşan Uyar Gazezoğlu'nun "İnsan Midesindeki Enteroendokrin Hücrelerin Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi" adlı tezini incelemiş ve aday ~~14/08/2017~~ tarihinde saat ~~11:00~~'da jüri önünde tez savunmasına alınmıştır.

Adayın kişisel çalışmaya dayanan tezini savunmasından sonra ~~90~~ dakikalık süre içinde gerek tez konusu, gerekse tezin dayanağı olan anabilim dallarından sorulan sorulara verdiği cevaplar değerlendirilerek tezin ~~kabul~~ olduğuna ~~oybirliği~~ ile karar verildi.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Feral ÖZTÜRK

Üye

Prof. Dr. Meltem KURUŞ

Üye

Yrd. Doç. Dr. Hülya ELBE

YEMİN

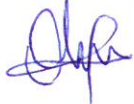
Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “İnsan Midesindeki Enteroendokrin Hücrelerin Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi” adlı çalışmanın, tarafımdan bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurulmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin Kaynakça’da gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanmış olduğumu belirtir ve bunu onurumla doğrularım.

15/06/2017

OKŞAN UYAR GAZEZOĞLU



YÜKSEKÖĞRETİM KURULU DOKÜMANTASYON MERKEZİ**TEZ VERİ GİRİŞ FORMU****YAZARIN** **MERKEZİMİZCE DOLDURULACAKTIR.****Soyadı : UYAR GAZEZOĞLU****Adı : Okşan****Kayıt No:****TEZİN ADI****Türkçe : İnsan Midesindeki Enteroendokrin Hücrelerin Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi****Y. Dil : Histochemical and Immunohistochemical Investigation of Enteroendocrine Cells in Human Stomach****TEZİN TÜRÜ: Yüksek Lisans****Doktora****Sanatta Yeterlilik****X****O****O****TEZİN KABUL EDİLDİĞİ****Üniversite :****Fakülte :****Enstitü :****Diğer Kuruluşlar :****Tarih :****TEZ YAYINLANMIŞSA****Yayınlayan :****Basım Yeri :****Basım Tarihi :****ISBN :****TEZ YÖNETİCİSİNİN****Soyadı, Adı : ÖZTÜRK FERAL****Ünvanı : Prof.Dr.**

TEZİN YAZILDIĞI DİL : TÜRKÇE TEZİN SAYFA SAYISI:95	
TEZİN KONUSU (KONULARI) :	
1.İnsan Midesindeki Enteroendokrin Hücreler	
2.Mide Enteroendokrin Hücrelerinin Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi	
TÜRKÇE ANAHTAR KELİMELEER :	
1.Mide	
2.Gastrin	
3.Somatostatin	
4.İmmünohistokimyasal Boyama	
İNGİLİZCE ANAHTAR KELİMELEER: Konunuzla ilgili yabancı indeks, abstract ve thesaurus'u kullanınız.	
1.Stomach	
2.Gastrin	
3.Somatostatin	
4.Immunohistochemical Staining	
1- Tezimden fotokopi yapılmasına izin vermiyorum	O
2- Tezimden dipnot gösterilmek şartıyla bir bölümünün fotokopisi alınabilir	
3- Kaynak gösterilmek şartıyla tezimin tamamının fotokopisi alınabilir	X
Yazarın İmzası : 	Tarih : 15/06/2017

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	II
KISALTMALAR DİZİNİ.....	VI
ÖZET.....	VIII
ABSTRACT.....	X
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Mide Embriyolojisi.....	3
2.2 Midenin Anatomisi.....	5
2.2.1 Midenin Bölümleri.....	6
2.2.2 Midenin Duvarları.....	7
2.2.3 Midenin Ostiumları.....	7
2.2.4 Midenin Ligamentleri.....	8
2.2.5 Midenin Arterleri.....	8
2.2.6 Midenin Venleri.....	9
2.2.7 Midenin Lenf Drenajı.....	9
2.2.8 Midenin Sinirleri.....	9

2.3 Midenin Histolojisi.....	9
2.3.1 Tunica Mukoza.....	11
2.3.2 Tunica Submukoza.....	18
2.3.3 Tunica Muskularis.....	18
3.3.4 Tunica Seroza.....	19
2.4 Midenin Fizyolojisi.....	19
3. ENTEROENDOKRİN HÜCRELER.....	26
3.1 Genel Bilgiler.....	26
3.2 G Hücreleri.....	30
3.3 D Hücreleri.....	31
3.4 Enterokromaffin Benzeri Hücreler.....	33
3.5 Enterokromaffin (EC) Hücreleri.....	34
3.6 X (A) Hücreleri.....	35
4. ENTEROENDOKRİN HÜCRELERE ÖZGÜ GÜMÜŞ BOYAMA	
VE İMMÜNHİSTOKİMYASAL BOYAMA YÖNTEMLERİ.....	37
4.1 Gümüş Boyama Yöntemleri.....	37
4.1.1 Argirofil Hücre Gümüş Boyama Yöntemleri.....	38
4.1.2 Argentaffin Hücre Gümüş Boyama Yöntemleri.....	38
4.2 PAS Boyama Yöntemi.....	39

4.3 Polipeptit Hormon Görüntüleme Yöntemleri.....	40
4.3.1 Elektronmikroskopik Yöntemler.....	40
4.3.2 Histokimyasal Yöntemler.....	40
4.3.3 İmmünohistokimyasal Yöntemler.....	41
5.MATERYAL VE METOT.....	46
5.1 Materyal.....	46
5.2 Kesit Alma ve Boyamaya Hazırlık.....	46
5.3 Histokimyasal Boyamalar.....	46
5.3.1 Hematoksilen-Eozin (H-E) Boyama.....	46
5.3.2 Periyodik asit Schiff (PAS) Boyama.....	47
5.4 İmmünohistokimyasal Boyamalar.....	48
6. BULGULAR.....	51
6.1 Hematoksilen-Eozin Boyama Bulguları.....	51
6.2 PAS Boyama Bulguları.....	59
6.3 Antigastrin İmmün Boyama Bulguları.....	61
6.4 Antisomatostatin İmmün Boyama Bulguları.....	70
7.TARTIŞMA.....	77
8.SONUÇ.....	83
KAYNAKÇA.....	85

EKLER

EK-1 ÖZGEÇMİŞ

EK-2 MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR VE YAYIN ETİĞİ KURULU DEĞERLENDİRME FORMU



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimin her aşamasında bilgisi, kaynakları ve tecrübesiyle ilgi ve desteğini hiç bırakmayan, usta çırak ilişkisini yaşayabilmekten dolayı onur duyduğum, tezimde büyük katkıları olan hocam Prof. Dr. Feral Öztürk'e sonsuz teşekkür ediyorum.

Yüksek lisans eğitimimde bana bilgi ve tecrübelerini aktararak destek olan Yrd. Doç. Dr. Hülya Elbe'ye, MSKÜ Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Özgür İlhan Çelik ve Yrd. Doç. Dr. Yelda Dere' ye, teknisyenimiz Mehmet Ertemur'a teşekkürü bir borç bilirim.

Akademik çalışma yolunda ışık olan Doç. Dr. Bülent HUDDAM'a, tecrübelerinden faydalandığım, hayata bakış açımı değiştiren Uzm. Dr. Dilek GİBYELİ GENEK'e, çalışmam boyunca bana destek olan MSKÜ Hemodiyaliz Ünitesindeki tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ediyorum.

Eğitim sürecimi sabırla bekleyen başta kızlarım Duru, Berrak ve sevgili eşim Sumur GAZEZOĞLU'na, bugünlere gelmemde pay sahibi olan anne, baba ve kardeşime sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

ŞEKİLLER DİZİNİ**Sayfa No**

Şekil-1: Embriyolojik gelişim sırasında midenin dönme hareketi.....	4
Şekil-2: Midenin komşuluğunda olan organların ve midenin anatomik bölümleri.....	5
Şekil-3: Mideye ait bölümlerin ve damarlarının görünümü.....	6
Şekil-4: Mide bölümleri ile büyük ve küçük kurvaturalar.....	7
Şekil-5: Mide duvarı tabakaları.....	11
Şekil-6: Mide duvar yapısı ve bez hücrelerinin şematik görünümü.....	14
Şekil-7: Mide kök hücrelerinin diğer hücrelere farklılaşmasının şematik görünümü.....	17
Şekil-8: Mide pariyetal hücrelerinde HCl ve su üretimi ile kanal iyon değişimleri.....	23
Şekil-9: Mide, T. mukozaya ait tabakalar H-E boyama.....	51
Şekil-10: Mide, T.submukoza alanı H-E boyama.....	52
Şekil-11: Mide, T.submukoza alanı H-E boyama.....	52
Şekil-12: Mide, submukozal tabaka H-E boyama.....	53
Şekil-13: Mide, muskularis tabakası ve seroza tabakası H-E boyama.....	53
Şekil-14: Mide, foveola ve mukus hücreleri, mide bez yapısı H-E boyama.....	54
Şekil-15: Mide, yüzey mukus hücreleri H-E boyama.....	55
Şekil-16: Mide, boyun mukus hücreleri ve pariyetal hücreler H-E boyama.....	56

Şekil-17: Mide, bezleri, esas hücreler ve pariyetal hücreler H-E boyama.....	56
Şekil-18: Mide, lamina muskularis mukoza tabakası H-E boyama.....	57
Şekil-19: Mide, Myenterik (Auerbach) pleksusu H-E boyama.....	58
Şekil-20: T. seroza tabakasına ait mezotel hücresi ve bağ dokusu H-E boyama.....	58
Şekil-21: Yüzey mukus ve boyun mukus hücrelerine ait histolojik kesit PAS boyama.....	59
Şekil-22: Yüzey mukus ve boyun mukus hücrelerine ait histolojik kesit PAS boyama.....	60
Şekil-23: Yüzey mukus ve boyun mukus hücrelerine ait histolojik kesit PAS boyama.....	60
Şekil-24: Mide, lamina propria tabakası antigastrin immünreaktivitesi.....	61
Şekil-25: Antigastrin immünreaktivitesi.....	62
Şekil-26: Mide, bez orta tabakası değişen derecelerde antigastrin immünreaktivitesi.....	62
Şekil-27: G hücreleri antigastrin immünreaktivitesi ve granüllü hücre yapısı.....	63
Şekil-28: G hücre antigastrin immünreaktivitesi ve granüler yapısı.....	64
Şekil-29: Mide, antigastrin immünreaktivitesi gösteren açık tip enteroendokrin hücre.....	65

Şekil-30: Mide, antigastrin immünreaktivitesi gösteren açık tip ve kapalı tip hücreler.....	65
Şekil-31: Antigastrin immünreaktivitesi gözlenen hücrelerde granül yapısı.....	66
Şekil-32: Antigastrin immünreaktivitesi gözlenen hücrelerin sitoplazmik granül dağılımı.....	66
Şekil-33: Lümene ulaşan, açık tip, G hücresi.....	67
Şekil-34: Antigastrin immünreaktif hücrelerde gastrin granülleri.....	67
Şekil-35: Antigastrin immünreaktif hücre çekirdekleri.....	68
Şekil-36: G hücrelerine ait hücre granülleri ve çekirdek yapısı.....	68
Şekil-37: G hücrelerinin ortalama sayıları.....	69
Şekil-38: Bez, boyun ve taban kısımlarındaki antisomatostatin immünreaktif hücreler.....	70
Şekil-39: Antisomatostatin immünreaktivitesi gösteren D hücreleri.....	71
Şekil-40: Bezler arasında boyanmış seyrek D hücreleri, antisomatostatin immünreaktivitesi.....	71
Şekil-41: İmmünboyama ile farklı şekillerde tespit edilmiş D hücreleri	72
Şekil-42: Yuvarlak çekirdekli D hücreleri.....	72
Şekil-43: Bez epiteli arasına dağılmış D hücreleri	73
Şekil-44: Kapalı tip D hücreleri.....	74

Şekil-45: Açık tip D hücreleri.....	74
Şekil-46: Aynı bezde yerleşmiş D hücreleri.....	75
Şekil-47: Açık tip ve kapalı tip enteroendokrin D hücreleri.....	75
Şekil-48: Lümeneye açılan, açık tip enteroendokrin D hücresi.....	76
Şekil-49: D hücrelerinin ortalama sayıları.....	76



KISALTMALAR DİZİNİ

ABC	Avidin Biotin Complex
AEC	Amino -9-etilkarbazol
APAAP	Alkalinfosfataz Antialkalinfosfataz
APUD	Amin Prekürsör Uptake and Decarboxylation
bFGF	Basic Fibroblast Growth Factor
C	Cilt
CCK	Kolesistokinin
DNES	Diffüz Nöroendokrin Sistem
EC	Enterokromaffin
ECL	Enterokromaffin Like
GAG	Glukoz oksidaz – anti-glukozoksidaz
GER	Granüllü Endoplazmik Retikulum
GHRH	Growth Hormon Releasing Hormon
GRP	Gastrin Releasing Peptid
HCl	Hidroklorik Asit
HCO ₃ ⁻	Bikarbonat
H-E	Hematoksilen ve Eosin
HRP	Horse Radish Peroksidaz

5-HT	5-hidroksitriptamin
PACAP	Pituiter Adenilat Siklazı Aktive Eden Polipeptit
PAP	Peroksidaz Antiperoksidaz
PAS	Periyodik Asit Schiff
PBS	Phosphate Buffer Saline
ss	Sayfa sayısı
S	Sayı
SS	Somatostatin
T	Tunica
VMAT-2	Vesiküler Monoamin Transporter Tip 2

ÖZET

Konu: İnsan Midesindeki Enteroendokrin Hücrelerin Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi

Amaç: Bu çalışma; sağlıklı insan antral mukozasında mevcut enteroendokrin hücrelerden olan, gastrin ve somatostatin hormonlarını salgılayan G ve D hücrelerinin yerleşim, morfoloji ve sıklıklarının immünohistokimyasal teknikler kullanılarak gösterilmesi amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada materyal olarak, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü arşivlerindeki, 2016 yılında 30 hastadan alınmış mide biyopsi örneklerinden patolojik olmayan antrum bölgesine ait doku blokları seçilmiştir. İmmünohistokimyasal boyamada kontrol olarak Bouin solusyonunda tespit edilmiş sıçan duodenum ve pankreas doku blokları kullanılmıştır. Bloklardan elde edilen kesitlere Hematoksilen Eozin, PAS, antigastrin ve antisomatostatin immünboyalı uygulanmıştır. Bu kesitler ışık mikroskopunda incelenmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda somatostatin immünreaktivitesi gösteren hücreler bezlerin boyun ve bazal bölgelerinde daha yoğun iken, gastrin immünreaktivitesi gösteren hücreler bezlerin boyun kısımlarında daha yoğun olarak gözlemlendi.

Hücreler (+) ile (+++) arasında değişen yoğunlukta immünreaktivite gösterdi. Gastrin immünreaktivitesi gösteren hücreler çoğunlukla piramidal şekilli idi. Bu hücrelerin büyük kısmının kapalı tip enteroendokrin hücre olduğu, az bir kısmının ise lümeneye ulaşan açık tip olduğu görüldü. Somatostatin immünreaktivitesi gösteren hücreler ise yuvarlak, eliptik veya piramidal değişik şekillerde izlendi. Bu hücreler de açık tip veya kapalı tip enteroendokrin hücreler olarak gözlemlendi.

Sonuç: Antigastrin ve antisomatostatin boyamaları ile insan midesi antrum bölgesindeki enteroendokrin hücreler izlendi. Antigastrin ve antisomatostatin ile pozitif boyanan hücrelerin bezlerde belirli bölgelere yerleştiği, kendilerine özgü şekilleri ve sıklıkları olduğu tespit edildi.

Gastrin ve somatostatin hormonlarına ait hücre yapısındaki ve sayılarındaki göreceli değişiklikler ve bunların salgıları genellikle sindirim sisteminin normal işlevlerini etkilemekte, hatta klinik belirtilere neden olmaktadır. Sağlıklı hücelere ait yerleşim ve dağılımların belirlenmesinin, hastalık durumlarındaki yapısal değişikliklerle karşılaştırılıp hastalık ve hücrelerarası ilişkilerin ortaya konulmasında kaynak olacağı düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Mide, Enteroendokrin Hücreler, Gastrin, Somatostatin, İmmünohistokimyasal Boyama



ABSTRACT

Subject: Histochemical and Immunohistochemical Investigation of Enteroendocrine Cells in Human Stomach

Objective: The aim of this study is to investigate the location, morphology and the frequency of the enteroendocrine cells named as G and D cells, which secrete gastrin and somatostatin hormones consequently, in healthy human antral mucosa samples using immunohistochemical techniques.

Materials and Methods: Tissue blocks of antral mucosa specimens of 30 patients that were evaluated as histopathologically normal in 2016 are obtained from Mugla Sıtkı Kocman University Training and Research Hospital Pathology Unit archive. Rat duodenum and pancreatic tissue blocks which were fixed in Bouin solution are used as control specimens. Hematoxylin-Eosin, PAS, antigastrin and antisomatostatin immunoassays are applied to the sections and examined under light microscope.

Results: In this study, while somatostatin immunoreactivity showing cells were observed as more frequent in neck and base of the glands, gastrin immunoreactivity presenting cells were found to be more frequently located at the neck of the glands.

Density of the immunoreactivity present in the cells are rated as (+), (++) and (+++). Gastrin immunoreactivity showing cells were mostly pyramidal in shape. Majority of these cells were found to be closed type enteroendocrine cell and few were open and in contact with the lumen. Cells showing somatostatin immunoreactivity were observed in round, elliptical or pyramidal shapes. These cells were also observed as open type or closed type enteroendocrine cells.

Conclusion: Antigastrin and antisomatostatin enteroendocrine cell stainings were observed in human gastric antrum. Antigastrin and antisomatostatin positive cells were found to have specific patterns, locations and frequencies in the glands.

Relative changes in structure and number of gastrin and somatostatin secreting cells and their secretions, usually effect the normal function of the digestive system and even cause clinical symptoms. We suggest that comparison of the healthy and the pathological cells in the way of their location and distribution, will lead us to make a statement on the structural changes of the enteroendocrine cells in different diseases.

Keywords: Stomach, Enteroendocrine Cells, Gastrin, Somatostatin, Immunohistochemical Staining



1.GİRİŞ VE AMAÇ

Mide, insan beslenmesinde önemli rolü olan sindirim sistemine ait bir organdır. Mide salgı, motor ve humoral işlevlere sahiptir. Bu faaliyetler ayrı ve farklı olmayıp, normal sindirim sürecini başlatmak için gerekli olan birbiriyle ilişkili fonksiyonları temsil eder.

Mide birkaç özel salgı ürününe sahiptir. Midenin en önemli salgısı olan mide asidine ek olarak, pepsinojen, mukus, bikarbonat (HCO_3^-) da salgıları arasındadır. Ağızda tükürük enzimleri aracılığıyla başlatılan besin sindirimi de bu salgılar ile devam eder. Bu salgıların bazıları sindirim işlevine ek olarak mideyi hasarlanmaya karşı korur. Midenin ayrıca gıdaların özefagustan alımını, gastrik sekresyonlarla karışmasını ve parçacık boyutunun azaltılmasını ve kısmen sindirilmiş kimusun duodenum içine girmesini düzenleyen birkaç önemli motor fonksiyonu da vardır. Ayrıca midede hem endokrin hem de parakrin etkilere sahip iki önemli humoral ajan olan gastrin ve somatostatin üretilir. Bu peptidler mide salgısının düzenlenmesinde öncelikle önemlidir.

Midenin bölümleri (kardiya, korpus, fundus, pilor/antrum) kendi arasında bezlerinin dizilimi ve içerdikleri hücrelerin değişken dağılımlarıyla ayrılırlar. Midenin fundus bölümünde uzun tübüler bezler genellikle dallara ayrılarak sonlanırken, kardiya bölgesinin tübüler bezleri sıklıkla kıvrımlı gözlenmektedir. Pilor bölgesinin bezleri ise genellikle düz seyirli olup muskularis mukoza yakınında kıvrımlı görünüm almaktadır. Mide duvarının temel yapısı tüm gastrointestinal sistemle benzerdir. Mukoza, submukoza, musküler ve seröz tabakalar tüm gastrointestinal kanal boyunca bulunmaktadır (1).

Gastrik mukozanın ana görevlerinden biri olan asit salınımının büyük kısmını sağlayan korpus mukozası ve antral mukoza arasında hücrelerin yerleşim ve dağılımları ile ilgili birtakım farklılıklar mevcuttur. Mide kardiya bölgesindeki bezlerde çoğunlukla yüzey mukus hücreleri bulunurken az sayıda da enteroendokrin hücre vardır. Korpus ve fundusta hücre çeşitliliği fazla olup tüm hücre çeşitlerinden (pariyetal hücre, esas hücre, enterokromaffin like cell (ECL) hücreleri, müköz hücreler) bol miktarda bulunmaktadır. Midenin pilor/antrumundaki bezlerde mukus

hücreleri, enteroendokrin hücreler bulunurken az sayıda da esas hücre ve pariyetal hücre bulunur. Sindirim sisteminde bulunan enteroendokrin hücrelerin salgısı peptit yapısında hormon ya da hormon benzeri maddeler olup komşuluk ya da kan dolaşımı yoluyla hedef hücrelerin fonksiyonlarını düzenlerler. Enteroendokrin hücrelerin yerleşimleri ve dağılımları, hem mide bölümleri hem de bez tabakaları arasında farklılıklar göstermekle birlikte antrumda daha sık gözlenmektedir (2).

Enteroendokrin hücreler sindirim sistemi mukozasında bulunan hormon üreten hücrelerdir ve mideden kolona kadar dağılmışlardır. Epitel içinde bulunan küçük piramidal hücreler olup embriyonik endodermden köken alırlar. Mide bezlerinde, intestinal bezlerde ve villuslarda yaygın olarak bulunan enteroendokrin hücreler mukozaya sınırlı yerleşmişlerdir (2). Enteroendokrin hücrelerden olan, mide antrum mukozasında yerleşik gastrin ve somatostatin salgılayan G ve D hücreleri sindirim mekanizmasında oldukça önemlidir. Mide bölümleri arasında bu hücrelerin yerleşimleri de farklılıklar göstermektedir.

Bu çalışmada; sağlıklı insan antral mukozasında mevcut enteroendokrin hücrelerden olan, gastrin ve somatostatin hormonlarını salgılayan G ve D hücrelerinin yerleşim, morfoloji ve sıklıklarının histolojik boyama yöntemlerinden olan immünohistokimyasal teknikler kullanılarak gösterilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Midenin Embriyolojisi

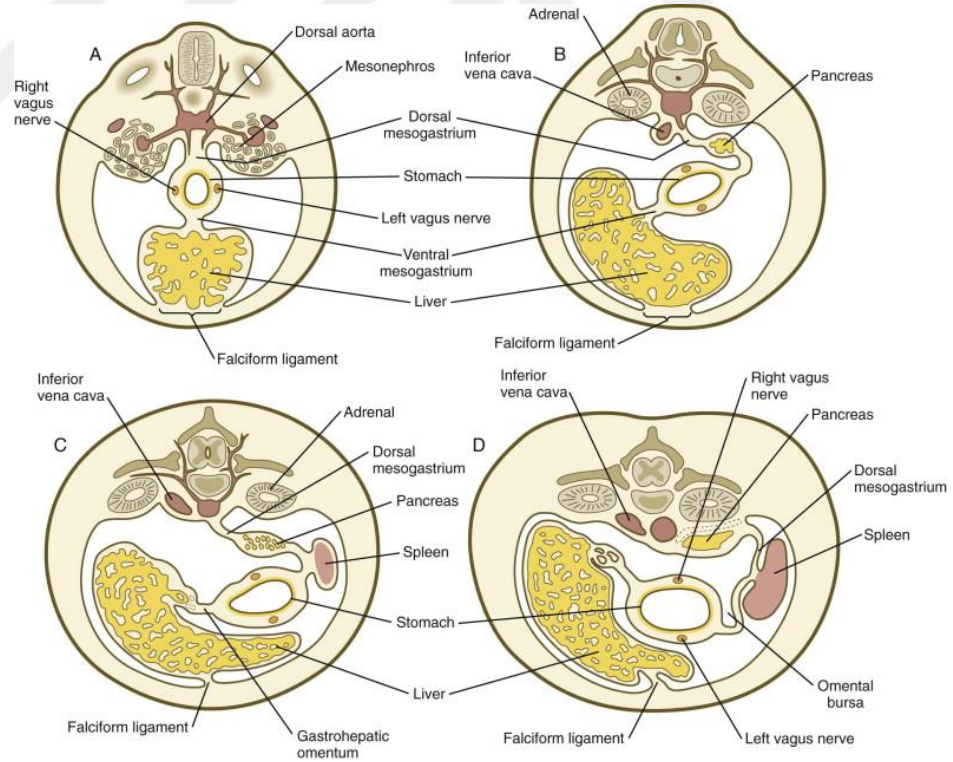
Embriyo erken dönemlerde öncül germ yaprakları olan ektoderm, mezoderm ve endodermden oluşan üç tabakalı yassı disk şeklindedir. Endodermlle kaplı ventral yüzeyi vitellüs kesesiyle ilişkilidir (2). Sindirim sistemine ait organlar menşeyini embriyonun ventral tarafında endodermin kıvrılması sonucunda meydana gelen primitif barsak kanalından alırlar (3). Primitif barsak epitelinin büyük bir kısmı ve sindirim kanalının bezleri endodermden gelişir. Sindirim kanalının duvarına katılan kas, bağ dokusu ve diğer tabakalar ise primitif barsağın endodermini çevreleyen splanknik mezenşimden gelişir (4).

Primitif barsak kanalı farinksten anüse kadar forgut (ön barsak), midgut (orta barsak) ve hindgut (son barsak) olmak üzere üç bölüme ayrılır. Bu bölümlerin her birinden farklı yapılar gelişir (5). Ön barsaktan farinks, özefagus, mide, duodenumun proksimal parçası, karaciğer, safra kesesi ve pankreas gelişir. Orta barsaktan duodenumun kalan kısmı, jejunum, ileum, çekum, çıkan kolon ve proksimal transvers kolon gelişir. Son barsaktan da transvers kolonun kalan kısmı, inen kolon, sigmoid kolon, rektum ve anal kanalın üst kısmı şekillenir (2). Kıvrılma sırasında lateral ve ventral vücut duvarı oluşur ve vitellüs kesesinin bir kısmı orta barsağa (midgut) katılarak embriyo içine alınır. Orta barsağın vitellüs kesesi (yolk salk) ile bağlantısı, vitellüs sapı şeklinde daralır (6).

İntrauterin 4. haftada özefagus taslağının hemen altında primitif barsak borusunda iğ biçiminde bir genişleme sonucu mide taslağı oluşur (7). Primordiyal mide genişler ve ventrodorsal olarak büyür. Bu hızlı gelişme bölgesi midenin büyük kıvrımını (büyük kurvatür) oluşturur. Mide genişledikçe, uzun eksenini boyunca saat yönünde 90° dönmeye başlar. Ventral kenar (küçük kurvatür) sağa doğru, dorsal kenar ise (büyük kurvatür) sola doğru yer değiştirir. Dönme hareketi öncesi, midenin kranial ve kaudal uçları medyan düzlemdeyken, midenin büyümesi ve dönme hareketi sırasında, kranial bölge sola ve hafifçe aşağıya doğru kayar. Kaudal bölgesi ise sağ üste doğru yer değiştirir. Mide dönme hareketi sonrasında, uzun eksenini vücudun uzun eksenini çaprazlayacak şekilde en son halini alır (Şekil-1) (8).

Midenin dönme hareketi ve büyümesi, erişkinde sol vagal sinirin midenin ön duvarında, sağ vagal sinirin ise midenin arka duvarında sinir ağı oluşturmasının nedenini açıklamaktadır (9).

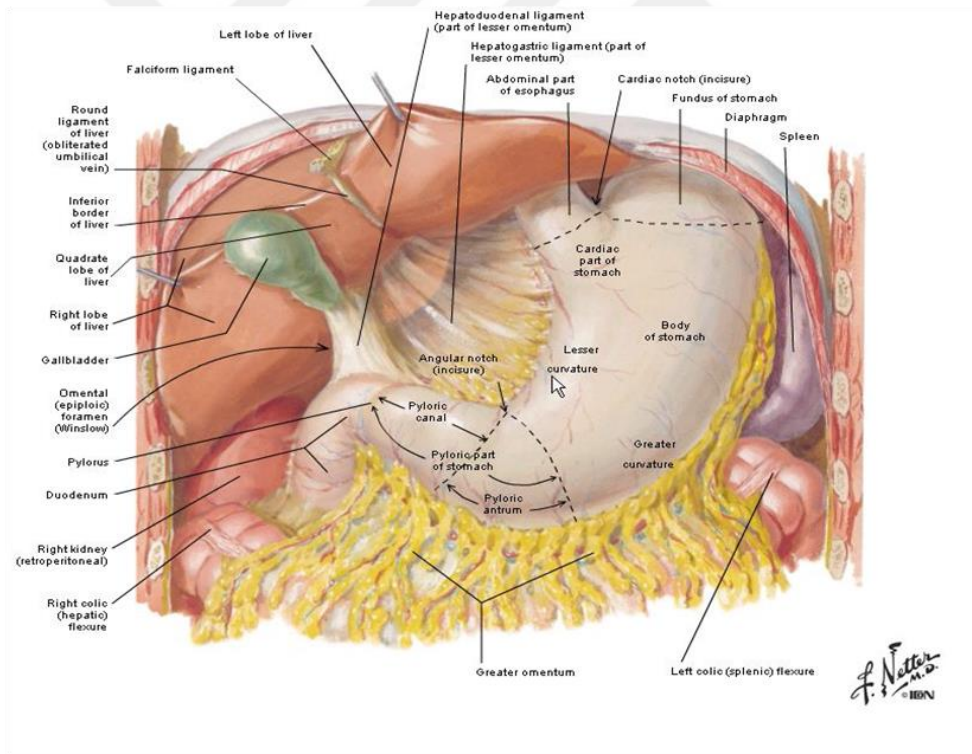
Bu şekilde mide taslağı çok küçük olmakla beraber şekil ve durum bakımından embriyonal hayatın 7. haftasında erişkin insan midesine benzer bir hal alır (10). Mukozanın erken glandüler differansiasyonu fetus boyu 80 mm'ye ulaştığında oluşur. Enzim ve asit üretimi ilk olarak fetal hayatın 4. ayında oluşur (11). Mide, karın boşluğu dorsal duvarına dorsal mezenter -primordiyal dorsal mezogastrium- aracılığı ile asılıdır. Bu mezenter, ilk önce medyan düzlemde yer alırken, midenin dönme hareketi sonrası sol tarafa doğru taşınır. Primordiyal ventral mezogastrium, mide ve duodenumun karaciğere ve ön karın duvarına tutunmasını sağlar (9).



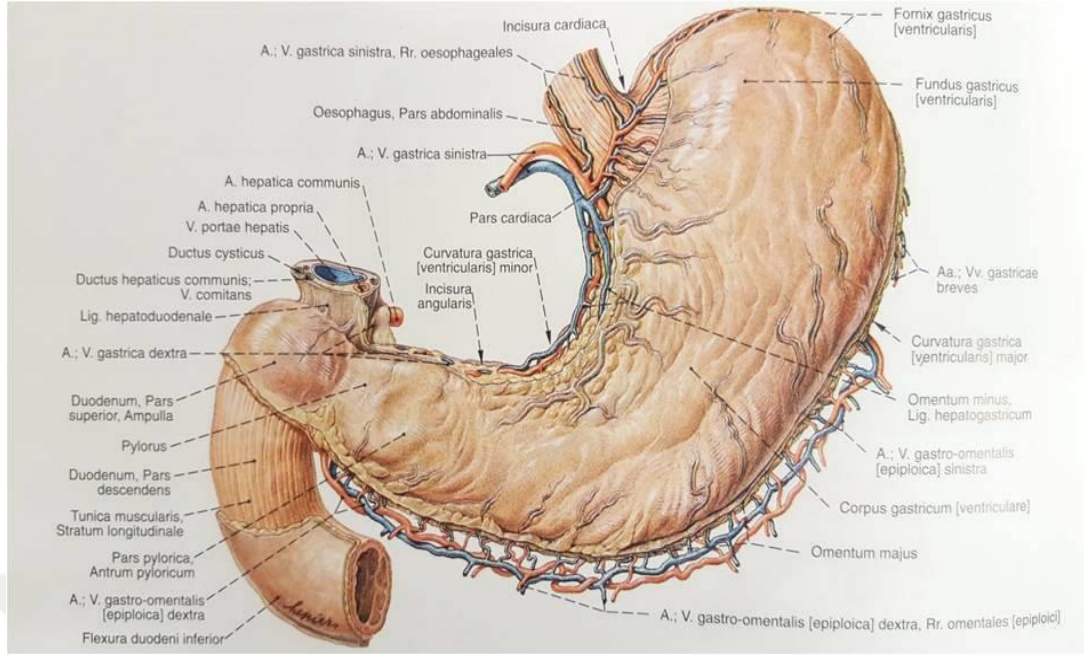
Şekil-1:Embriyolojik gelişim sırasında midenin dönme hareketi (8)

2.2 Midenin Anatomisi

Mide diafragma altında, epigastrik, umbilikal ve sol hipokondriak bölgede yer alan sindirim sisteminin en geniş bölümüdür. Özefagogastrik bileşke T12 hizasındadır, pilor ise L1 hizasındadır (12). Midenin ön duvarı ve arka duvarı uzun eksen boyunca sağ ve solda birer eğrilikle birleşmişlerdir. Sağdaki konkav eğriliğe ‘kurvatura minör’, sol taraftaki konveks eğriliğe ‘kurvatura major’ denir. Özefagogastrik bileşkeden ve insisura angularisten çekilen iki horizontal çizgi ile mide bölümlere ayrılır (Şekil-2) (13). Özefagogastrik bileşkeden çekilen çizginin üzerindeki bölüme ‘fundus’, her iki çizgi arasında kalan bölüme ‘korpus’, insisura angularisten çekilen çizginin altındaki alana ‘antrum’ denir (14). Mide kabaca J harfi şeklinde olup iki kurvaturu, iki duvarı (ön ve arka),iki deliği (ostium kardiakum ve ostium pilorikum) ve dört bölümü vardır (Şekil-3) (15).



Şekil-2:Midenin komşuluğunda olan organların ve midenin anatomik bölümleri (13)



Şekil-3: Mideye ait bölümlerin ve damarlarının görünümü (15)

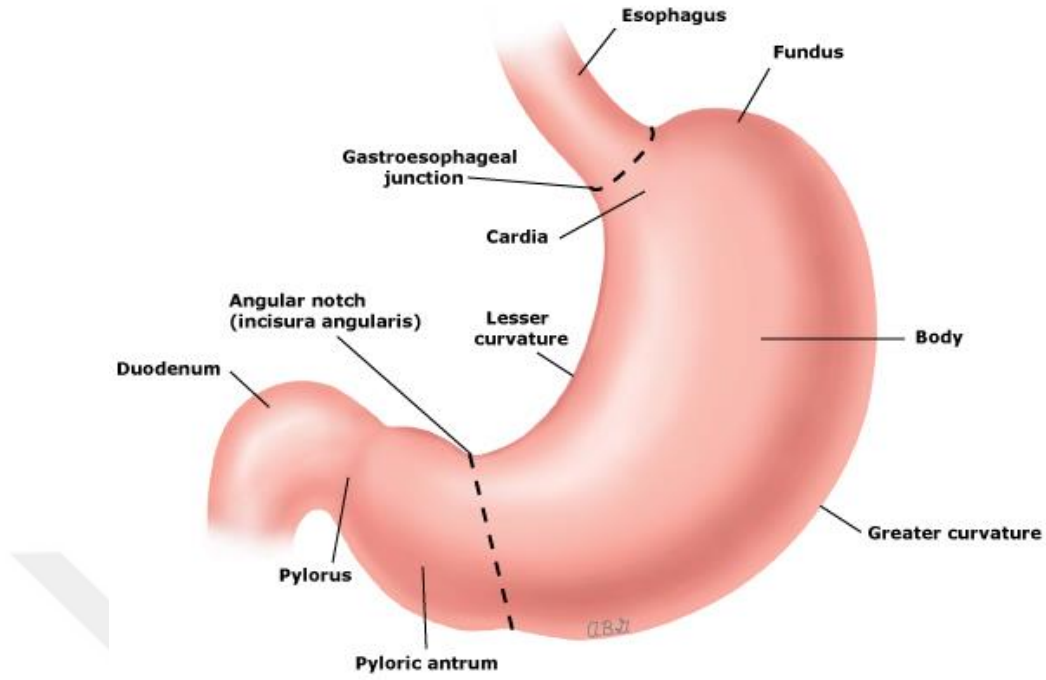
2.2.1 Midenin Bölümleri:

Kardia: Üst kısmı ince alt kısmı geniş olan bu alan, üstte diafragma altında ostium cardiacum ile özefagusa açılır, fundus ile devam eder. Midenin diğer bölümleri kadar belirgin değildir (16).

Fundus: Midenin kardia düzeyinin üzerinde kalan kubbe şeklindeki bölümdür.

Korpus: Midenin orta bölümü olup fundus ile antrum arasındaki bölgedir.

Pilor ve Antrum: İnsisura angularisten başlayarak midenin 1/3 distal kısmını oluşturur. (Şekil-4) (17). Midenin korpustan sonraki antrum ve pilorik kanalın olduğu bölümdür. Pilor kanalının sonunda bulunan pilorik sfinkter, mide içeriğinin duodenuma geçişini kontrol eder (14). Pilor duvarının kalınlığı duodenumdan farklıdır.



Şekil-4: Mide bölümleri ile büyük ve küçük kurvaturalar (17).

2.2.2 Midenin Duvarları:

Küçük kurvatura omentum minus yapışır. İki yaprağı arasında sağ ve sol gastrik damarlar seyredir. Büyük kurvatur üstte gastrointestinal ligaman, altta omentum majus ile bağlantılıdır. Omentum majusun iki yaprağı arasında sağ ve sol gastroepiploik damarlar bulunur. Mide boş iken yukarıya ve aşağıya, dolu iken arkaya ve öne bakar. Bu nedenle yüzlere ‘anterosuperior ve posteroinferior yüzler’ denir (16). Anterosuperior yüzün sol yarı kısmı diyafragma, üst ve sol kısmı dalak ile sağ yarı kısım karaciğerin sol lobu ile komşuluk yapmaktadır. Posteroinferior yüz diyafragma, sol suprarenal bez, sol böbreğin ön yüzünün üst parçası, splenik arter, pankreasın ön yüzü, kolonun splenik fleksurası ve transvers mesokolonun üst yaprağı ile komşudur (Şekil-2).

2.2.3 Midenin Ostiumları:

Ostium Cardiacum; özefagusun mideye giriş yaptığı yerdir. Anatomik bir sfinkter olmamasına rağmen burada var olan fizyolojik bir mekanizma mide içeriğinin özefagusu geri dönmesini engeller (18).

Ostium Pyloricum; Canalis pyloricus'tan oluşan 2.5 cm' lik bir kısımdır. Midenin sirküler kas tabakasının çok daha kalın olduğu ve anatomik bir sfinkter olarak görev yapan bu kısma 'sphincter pylorici' adı verilir. Pilor, planum transpyloricum seviyesinde bulunur ve mide üzerindeki daralmadan tanınabilir (18).

2.2.4 Midenin Ligamentleri:

1) Hepatogastrik ligament (Küçük omentum): Bu ligament küçük omentumun proksimal kısmıdır. Porta hepatisten mide küçük omentumuna ve abdominal özefagusun ventral mezenteri olarak yukarıya doğru uzanır. Ligament içinde sol gastrik arter ve ven, vagus sinirinin hepatik bölümü, vagus sinirinin ön ve arka mide bölümü (laterjet siniri) ve lenf nodülleri bulunur. Nadiren sağ gastrik arter ve venin dalları ile aberan hepatik arter de bulunabilir.

2) Hepatoduodenal ligament: Karaciğerden duodenum ilk 2.5 cm'ne uzanan küçük omentumun distal parçasıdır. Serbest kenar hepatik pleksus ve lenf nodları yanında hepatik arter, portal ven ve koledoktan oluşan hepatik triadı içerir.

3) Gastrokolik ligament: Mide büyük kurvaturu ve duodenum ilk kısmından transvers kolona uzanan ligamenttir.

4) Gastrosplenik ligament: Mide büyük kurvaturundan dalağa uzanan ligamenttir.

5)Gastrofrenik ligament: Hepatogastrik ligamanın devamıdır, üst kısmı avaskülerdir, alt kısmı kısa gastrik arter, venleri ve lenf nodüllerini içerir (19).

2.2.5 Midenin Arterleri

Mide trunkus çölyakus'un her üç dalından da kan alır (20). Küçük kurvaturda ilerleyen a.gastrika sinistra (tr.çölyakusun dalı) ve a.gastrika dekstra (a.hepatika kommunis'in, bazende a.hepatika propria'nın dalı), a.gastromentalis sinistra ve aa.gastrika breves (a.splenika'nın dalları) mideyi besler. Bu arterlerden ayrılan dallar, peritonun altında ön ve arka yüzde uzanarak kas lifleri arasına girer, daha sonrada tunica (t.) submukozaya gelerek bir ağ oluştururlar. Midenin fundus kısmını aa.gastrika breves (a.splenika'nın dalları) besler (21).

2.2.6 Midenin Venleri

Arterleri takip ederler ve aynı ismi alırlar. Midenin venleri, portal sisteme drene olurlar. V. gastrika sinistra ve v.gastrika dekstra direkt olarak vena portaya dökülürler. Vv. gastrika breves ve v. gastro-omentalis sinistra, v. lienalise katılırlar. V. gastro-omentalis dekstra ise v. mesenterika superiora dökülür. Kardia bölümündekiler de özefagusun venleri ile önemli anastomoz (porto-kaval) yaparlar (22).

2.2.7 Midenin Lenf Drenajı

Midenin lenf damarları büyük ve küçük kurvatur boyunca arterlerine eşlik eder (19). T. submukozada ve t. seroza altında iki pleksus oluştururlar. Bu pleksuslardan çıkan lenf damarları, midenin ön ve arka yüzlerinde kenarlarına doğru uzanarak buralarda bulunan nodi lymphatici gastrici'lere açılırlar. Bu nodüllerden çıkan lenf damarları da midenin arterlerini takip ederek nodi lymphatici coeliaci'ye bağlanırlar (21).

2.2.8 Midenin Sinirleri

Parasempatikler n. vagus'tan gelirler. Preganglionik sempatikleri 6-9. Torakal medulla spinalis segmentlerinden çıkan n. splanchnicus'lar aracılığı ile pleksus çöliyakusa gelir. Bu lifler ganglion çöliyakumda nöron değiştirirler. Postganglionik lifleri midenin damarları etrafında ağlar oluşturarak mideye giderler. Mideden kaynaklanan ağrı duyusunu ileten lifler sempatik liflerle birlikte seyrederek ve bu ağrı göbeğin üstünde epigastrium bölgesinde hissedilir (22).

2.3 Midenin Histolojisi

Mide yiyecekleri sindiren ve hormon salgılayan hem ekzokrin hem de endokrin bir organdır (23). Mide sindirim kanalının en genişlemiş parçası olup özefagus ve incebarsağı bağlayan fibromusküler bir kesedir. Yetişkinlerde 1,5-3 litre kapasiteye sahiptir. Yiyecekleri karıştırır ve geçici olarak depolar (2). Özefagustan ıslatılarak yumuşatılmış yiyecekleri bolus olarak alır. Midede yiyeceklerin karıştırılması ve gastrik salgılarıyla kısmi sindirimi ile kimus denen bir karışım oluşur.

Bu kimus daha ileri sindirim ve absorpsiyon için incebarsağa geçer (24). Midede histolojik olarak dört bölge tanımlanır:

1-Kardiya: Özefagusun bitip midenin başladığı 2-3 cm genişliğindeki bölgedir. Özefagusun alt ucunu sarar. Kardiya bezlerini içerir.

2-Fundus: Kardiyanın solunda yer alır. Özefagus alt ucundan geçen horizontal çizginin üstünde kalan bölümdür. Midenin fundus bezlerini (gastrik bezleri) içerir.

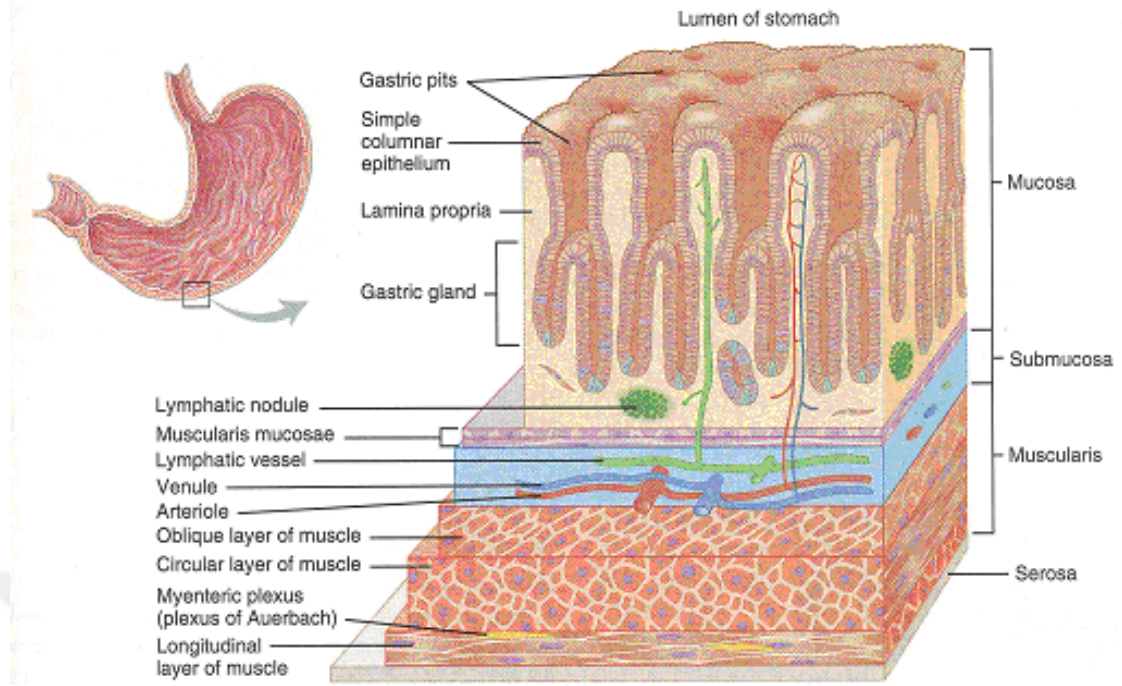
3-Korpus: Kardiya ile pilor arasında uzanan geniş merkezi bölgedir. Bu bölge midenin fundus bezlerini içerir.

4-Pilor-Antrum: Mide ile duodenum arasında bulunan dar sfinkterik alandır. Pilor bezlerine sahiptir. Midenin duodenuma açıldığı yerde son bulur.

Midenin motilite özellikleri esas alındığında; ‘orad alan’, fundus ve korpusun üst kısmından ibarettir, yutkunma esnasında gevşer. ‘Kavdad alan’, korpusun alt kısmından ve antrumdan ibarettir, mide boşalmasının düzenlenmesine katılır (25).

Boş midenin iç yüzeyinin incelenmesi ile ‘ruga’ adı verilen birkaç longitudinal katlantı ya da kabartı görülür. Rugalar midenin dar bölgelerinde daha belirgindir, üst kısmında ise az gelişmiştir. Mide tam olarak gerildiğinde mukoza ve altındaki submukozadan oluşan rugalar fiilen kaybolur. Rugalar toplam yüzey alanını değiştirmez. Bunlar midenin genişlemesine ve dolmasına uyumu sağlamaktadır.

Mide yüzeyinde, yüzeyi şişkin, düzensiz alanlara bölen oluklar ya da sığ çukurlar bulunur. Bu oluklar salgılama için yüzey alanında bir miktar artış sağlar. Daha büyük büyütmede mukozal yüzeyde çok sayıda girinti izlenebilir. Bunlar ‘gastrik çukurcuklar’ ya da ‘foveola’lardır. Gastrik bezler gastrik çukurcukların tabanına açılır (24). Gastrointestinal kanalın tamamı bazı genel yapısal özellikler gösterir. Ortasında değişen çaplarda bir lümen içerir (Şekil-5) (25). Bu lümen 4 ana tabakadan oluşan bir duvarla çevrilidir; içten dışa doğru sırasıyla t. mukoza, t. submukoza, t. muskularis ve t. seroza olarak adlandırılmaktadır. (23).



Şekil-5: Mide duvarı tabakaları (25)

2.3.1 Tunica Mukoza

Lamina epitelyalis, lamina propria ve lamina muskularis mukoza tabakalarından oluşmuştur. Mukoza sıklıkla ‘müköz membran’ olarak isimlendirilir (23).

a-Lamina Epitelyalis: Midenin yüzeyini ve gastrik çukurcuklarını döşeyen epitel tek katlı prizmatiktir. Prizmatik hücreler ‘yüzey müköz hücreleri’ olarak adlandırılır. Her hücre müsinojen granüller ile dolu büyük bir apikal yüzeye sahiptir. Böylece, glandüler bir hücre tabakası meydana gelir (24). Yüzey mukus hücreleri tarafından oluşturulan bu bariyer, mukoza yüzeyini korur. Yüzey mukus hücreleri, apikal Periyodik Asit Schiff (PAS) pozitif granüller içerir ve sıkı bağlantılarla birbirine bağlanır (26). Gastrik çukurcuklar ve bezler, mukus salgısı, asit salgısı ve sindirim enzimleri salgısı için geniş bir yüzey oluşturur (2).

b-Lamina Propria: Gevşek bağ dokusu özelliğinde olan lamina propria, foveolalara açılan mide bezleri ile işgal edilmiştir. Mide bezleri, dallı tübüler bezlerdir. Bağ

dokusu içinde, makrofajlar, plazma hücreleri, eozinofil lökositler, mast hücreleri v.b. bulunur (27).

Mukoza bezlerin çok sayıda ve çok yoğun olmasından dolayı lamina proprianın görülmesi zor ve genellikle yetersizdir. Ana gastrik bezler uzun, düz ve sıklıkla çatallaşmıştır. Bez lümeni bez epiteli denilen tek katlı bir epitelle döşelidir. Epitelde farklı histolojik yapı ve fonksiyona sahip hücreler yer alır. Uzunlamasına kesitte bezler (özellikle fundusta olanlar) üç bölüme sahiptir. Üst bölüm 'istmus' gastrik çukura açılır. Yüzey mukus hücreleri ile döşelidir. Orta bölge 'boyun' boyun mukus hücreleri ve pariyetal hücrelerden oluşur. Hem istmus hem de boyun bölgesinde bezlerdeki hücreleri arttıran kök hücreler de burada bulunur. 'Taban bölge'sinin üst kısmı pariyetal ve bir miktar mide esas (chief) hücresi içerir, alt kısımda tabanda ise çoğunlukla esas hücreler bulunur. Her üç bölgede de enteroendokrin hücreler bulunabilir (2). Midenin genel yapısal planı aynı olan ancak bölgesel farklılıklar gösteren 3 tip bezi vardır:

Kardiya Bezleri: Özefagus girişinin olduğu küçük bir bölgede bulunan en kısa ve sayısı en az olan bezlerdir. Mide mukozasının % 10'dan daha azını kaplar (2). Basit ya da dallanmış tübüler kardiya bezlerdir. Bu bezlerin son kısımları genellikle kıvrımlıdır ve geniş bir lümeneye sahiptir. Salgı yapan hücrelerin çoğu mukus ve lizozim üretir ancak arada hidroklorik asit (HCl) salgılayan birkaç pariyetal hücre bulunabilir. Bu bezler yapı olarak özefagusun son parçasındaki kardiya bezlere benzer (23). Özefagusa yakın bölümde foveolalar sık ve seyrek (27).

Fundus ve Korpus Bezleri: En büyük ve en fazla bez korpus ve fundusta bulunur. Bu bezler ana gastrik bezlerdir ve mukozanın yaklaşık %75'ini oluşturur (2). Bu bölümlerin lamina propriası dallanmış gastrik bezler ile doludur. Gastrik bezler beş tip hücre içerir. Bunlar;

- Boyun mukus hücreleri,
- Kök hücreleri,
- Esas hücreler,
- Pariyetal hücreler ve
- Enteroendokrin hücrelerdir.

Bezlerin istmus bölümü yüzey mukus hücrelerinden oluşur. Boyun parçasında kök, pariyetal ve boyun mukus hücreleri, tabanında ise pariyetal, esas ve enteroendokrin hücreler bulunur (28). Tipik olarak tek bir gastrik çukurcuğa birkaç bez açılır. Her bir bezin dar, nispeten uzun bir 'boyun segmenti' ve kısa, geniş tabanı ya da 'fundik segmenti' bulunmaktadır. Bezin tabanı genellikle iki ve bazen üç dala bölünerek muskularis mukoza yakınında hafifçe sarmal haline gelir (24).

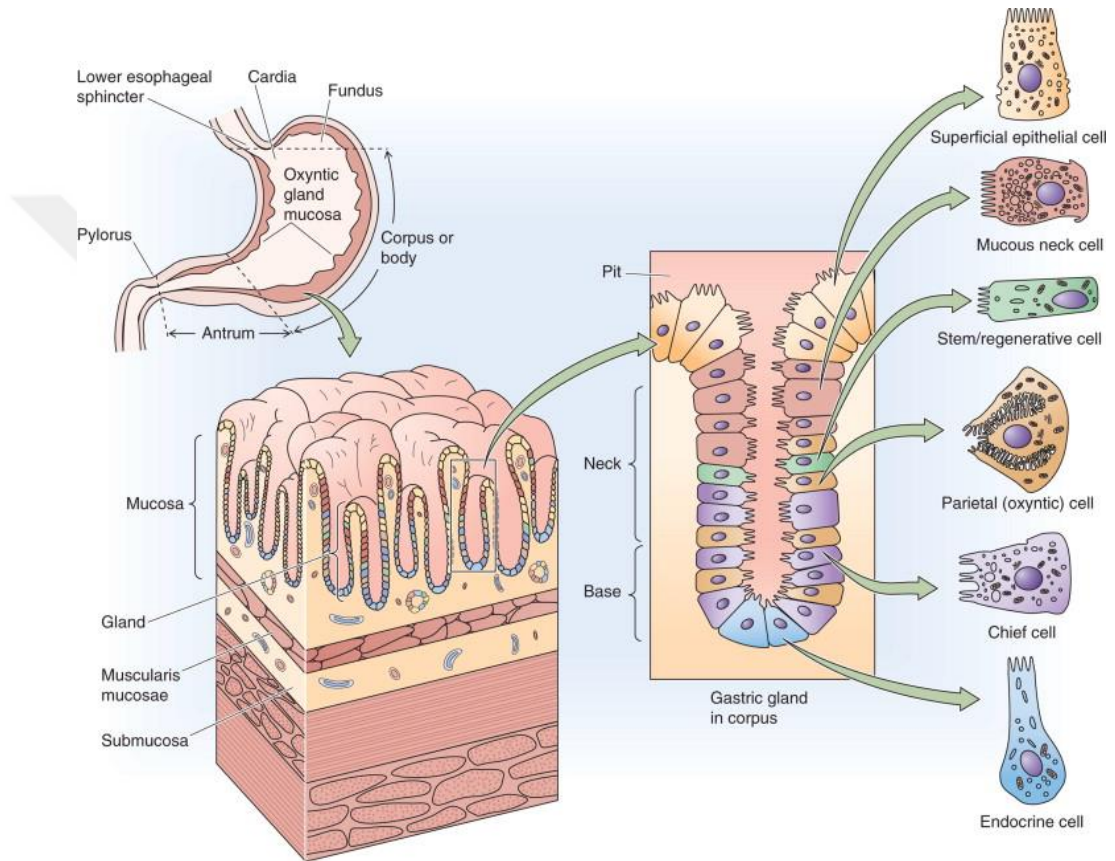
Pilor Bezleri: Pilor bezleri midenin duodenuma yakın son 4-5 cm'lik kısmında, pilorik antrumda bulunur. Mide mukozasının yaklaşık %15-20'sini oluşturur (28). Pilor bölümünde foveolalar midenin diğer bölümlerine oranla daha derindir (27). Buradaki bezler dallı sarmallaşmış tübüler bezlerdir. Lümen nispeten geniştir ve salgılayıcı hücreler görünüm olarak yüzey mukus hücrelerine benzemektedirler ve bu görünüm nispeten visköz bir salgı ürettiklerini düşündürmektedir.

Enteroendokrin hücreler, seyrek pariyetal hücreler ile beraber bez epiteli içerisine karışmıştır. Bezler mukozanın kalınlığının yarısını işgal eden derin gastrik çukurcuklara boşalır (24). Pilor bezleri; mukus hücreleri, pariyetal hücreler, enteroendokrin hücreler ve kök hücrelerini içerir (28). Bu bezler dikkate değer miktarda lizozim enzimi yanı sıra mukus salgılar. Gastrin salgılayan G hücreleri pilor bezinin mukus hücrelerinin arasında bulunur. Gastrin, gastrik bezlerin pariyetal hücrelerinden asit salgılanmasını uyarır. Diğer enteroendokrin hücrelerden olan D hücreleri somatostatin salgılar. Bu hormon gastrin dahil diğer hormonların salgılanmasını inhibe eder (23).

Mide bezlerinde bulunan salgı yapan hücreler, midenin anatomik bölümlerine göre farklılık gösterir. Bezleri döşeyen epitelde birbirinden farklı özelliklere sahip beş tür hücre vardır:

1-Boyun Mukus Hücreleri: Bu hücreler gastrik bezlerin boyun bölgesinde bulunur (29). Boyun mukus hücresi, yüzey mukus hücresinden daha kısadır ve apikal sitoplazmasında daha az müsinojen granül içerir. Bu nedenle bu hücreler belirgin bir

müköz kadeh sergilemezler. Aynı zamanda yüzey mukus hücresinin belirgin, uzun çekirdeği ile kıyaslandığında boyun mukus hücresinin çekirdeği küre şekilli olma eğilimindedir (24). Bu hücrelerin şekilleri düzensiz ve çekirdekleri hücre bazalindedir (30) (Şekil-6) (31). Hematoksilen ve Eosin (H-E) boyalı kesitlerde görülmeleri zordur. PAS ile daha iyi görünürler. Mukusları alkalen olan yüzey hücrelerinden farklı olarak boyun mukus hücreleri daha asitli veya siyalomusin gibi daha nötral mukus üretirler (2).



Şekil-6: Mide duvar yapısı ve bez hücrelerinin şematik görünümü (31)

2- Esas (Chief) Hücreler: Daha çok bezlerin alt yarısında bulunan, protein sentezleyen hücrelerdir (27). Bez hücrelerinin çoğunluğunu oluşturduklarından 'esas (chief) hücre' olarak adlandırılırlar (30). Protein sentezi yapan ve salgılayan hücrelerin bütün özelliklerine sahiptirler (23). Bazal sitoplazmaları iyi gelişmiş granüllü endoplazma retikulumu (GER) nedeni ile bazofil, apikal sitoplazmaları içerdiği protein yapısındaki salgı granülleri nedeni ile asidofil boyanır. Bu granüllere aynı zamanda 'zimojen granül' de denir (27).

Özellikle bazofili bu hücrelerin H-E kesitlerinde kolayca tanınmasına olanak sağlamaktadır. Salgı vezikülleri yeterince korunmadığında eozinofili soluk olabilir ya da bulunmaz (24). İyi gelişmiş golgi kompleksi supranükleer bölgede yerleşmiştir. Mitokondriyonlar sitoplazma içinde dağınık şekildedir ve özellikle hücre salgılama durumundayken geniş ve çok sayıdadır. Golginin konkav yüzünden gelişen geniş, elektron yoğun membranla sınırlı salgı vezikülleri apikal sitoplazmanın en belirgin özelliğidir (2).

Esas hücreler kardiya bezlerinde yoktur ve pilor antrumunda nadir bulunur. Esas hücreler ekzokrin pankreasın zimojen hücreleriyle yapısal bir benzerliğe sahiptirler (26). Esas hücreler pepsinojen I ve II olarak adlandırılan iki ayrı proteolitik enzim grubunu, aktif olmayan proenzim olarak üretir. Piramit şekilli her bir hücre bazal laminaya oturur ve apikal sınırı gastrik bez lümeniyle ilişkilidir (2). Pepsinojen içeren salgı granülleri (zimojen granüller) hücrenin apikal bölgesinde gözlenir. Pepsinojen, zimojen granüllerde depolanan bir proenzimdir, bezin lümenine salgılanır ve midenin asit ortamında çoğu proteinleri sindirebilen proteolitik bir enzim olan pepsine dönüştürülür. Pepsinojenin dışa verilmesi hızlıdır ve yemekle stimüle edilir (26). İnsanda bu hücreler ayrıca lipaz enzimini de üretirler (32).

3-Pariyetal (Oksintik) Hücreler: Fundus bezlerinin boyun kısmında, boyun mukus hücrelerinin arasında ve bezin daha derin kısmında bulunurlar. Boynun üst ve orta kısmında daha fazla sayıda bulunma eğilimindedirler (24). Büyük (20 µm çapında), yuvarlak, tek, merkezi yerleşimli çekirdekleri vardır. Pariyetal hücreler mitokondriyondan zengin ve GER'den göreceli olarak fakir olduğu için sitoplazması koyu eozinofilik boyanır (2). Kesitlerde üçgene benzer şekilde, apeks bezin lümenine doğru, taban ise bazal laminaya oturmuş biçimde görünürler. Boyutları ve belirgin boyanma özellikleri fundus bezinde bulunan diğer hücrelerden kolayca ayırt edilmelerini sağlar (24).

Elektron mikroskop ile incelendiğinde; en belirgin özellikleri apikal plazma membranının yaptığı derin sirküler invajinasyonlar (intrasellüler kanaliküller) ve çok sayıda bulunan mitokondriyonlardır. Dinlenme halindeki hücrenin apikal bölgesinde

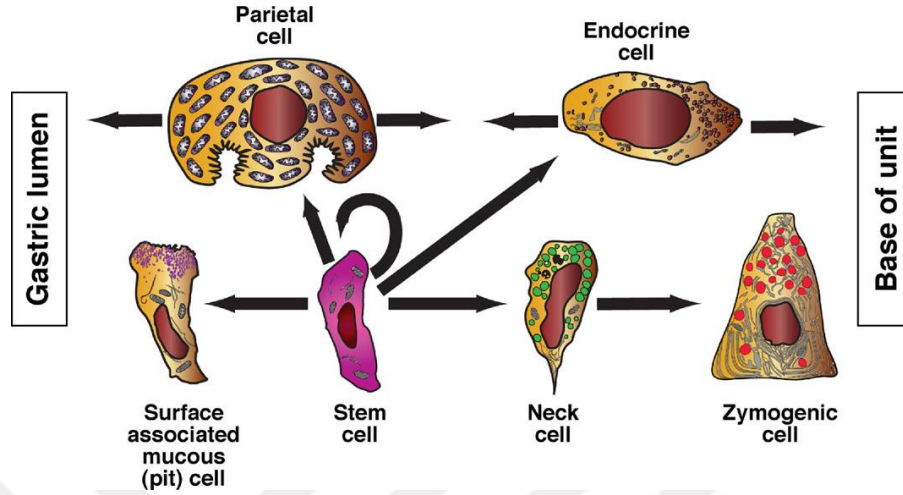
sitoplazmanın hemen altında çok sayıda tübüloveziküler yapılar görülebilir. Bu aşamada hücre az sayıda mikrovillusu sahiptir. HCl salgısı için uyarıldığında, tübüloveziküler hücre membranı ile kaynaşır ve daha fazla mikrovillus oluşur. Böylece hücre membranı yüzeyinde büyük bir artış sağlanmış olur (23).

Tübüloveziküller arasında, bu yapıların etkileşimlerinde rolleri olduğu sanılan aktin filamentleri bulunur (32). Kanalikül ve mikrovillus membranları asit salgılanması için proton pompası H^+,K^+ -ATPase içerir. Sitoplazmada kristaları yoğun matriks granülleriyle dolu mitokondriyonlar hücre hacminin %40'ını oluşturur ve iyon taşınması için gerekli enerjiyi sağlar. Lizozomlar yaygın olup organellerin otofagositozuyla ilişkilidir. Cl^- ve K^+ ileten kanallara sahip tübüloveziküler sistem aynı zamanda hücre yüzeyine ve kanaliküllere yakındır. HCl üretmeyen dinlenme dönemindeki hücreler çok sayıda tübüloveziküllere sahiptir. Aktif salınım sırasında tübüloveziküller kanalikül membranları ile birleşirler. Tübülovezikül sayısında ortaya çıkan düşüş beraberinde mikrovillus ve kanaliküllerde büyük bir artışa sebep olur. Aktif olarak taşınan H^+ iyonları apikal hücre membranına geçer ve lümende Cl^- iyonlarıyla HCl oluşturmak için birleşirler. Cl^- değişiminde HCO_3^- taşınmasını kolaylaştırmak için bazal plazma membranının içe katlantısı yüzey alanını artırır. Bazal membranda asetilkolin, gastrin ve asit salınımını tetikleyen histamin için reseptörler vardır (2).

Parietal hücrelerin bir salgısı da 'intrinsic faktör'dür. İntrinsic faktör bir glikoproteindir. B_{12} vitamini ile kompleks yaparak ileum tarafından absorbe edilmesini sağlar (32). Bu işlev için hücre küçük bir golgi kompleksi, birkaç serbest ribozom ve GER içerir (2).

4-Farklılaşmamış Yetişkin Kök Hücreleri: Boyun bölgesinde bulunur. Alçak prizmatik hücrelerdir. Oval çekirdekleri hücre bazaline yakındır. Bu hücreler yüksek mitotik aktiviteye sahiptir, bazıları çukurcuk ve yüzey mukus hücrelerinin yerini almak üzere yüzeye doğru hareket eder. Mukus hücrelerinin turnover süresi 4-7 gündür. Diğer yavru hücreler bezlerin daha derin kısımlarına göç eder ve boyun

mukus hücreleri ile pariyetal, esas ve enteroendokrin hücelere farklılaşırlar (Şekil-7) (33). Bu hücreler yüzeyde olanlardan çok daha yavaş yenilenirler (23).



Şekil-7: Mide kök hücrelerinin diğer hücelere farklılaşmasının şematik görünümü (33)

5-Enteroendokrin Hücreler: Gastrik bezlerin her bölgesinde bulunabilirler ancak en sık taban bölgesinde bulunurlar. Küçük, oval ya da piramidal şekilli hücrelerdir (32). Enteroendokrin hücrelerde az miktarda golgi kompleksi ve az gelişmiş GER ve bol serbest ribozom bulunur. Hücrenin granülleri bazale yakın yerleşmiştir ve salgısını bağ dokusuna doğru boşaltır (34). Çekirdeği bazale yakın yerleşmiştir.

Bu hücrelerden bazıları, sindirim kanalının kaslarını etkileyerek peristaltik hareketlerini arttıran serotonin ve pariyetal hücrelerden HCl'nin salınımını uyaran gastrini salgırlar (35). Büyük çoğunluğunun bazal sitoplazmasında yer alan granüllerinin içeriği bağ dokusu içindeki kan damarlarına endokrin yolla salgılanır. Bu hücrelerin tiplerini belirlemek için en uygun yöntemler immünohistokimyasal yöntemlerdir. Midenin fundus bölümünde yer alan enteroendokrin hücrelerden serotonin (EC), pilor bölümünde yer alan hücrelerden gastrin ve somatostatin salgılanmaktadır (27). Sitoplazmik granülleri gümüş veya kromium tuzları ile boyanabilirler. Bu yüzden 'argentaffin' ya da 'enterokromaffin hücreler' olarak adlandırılırlar (32).

c-Lamina Muskularis Mukoza: Lamina propria ile t. submukoza arasında yer alan içte dairesel dışta uzunlamasına seyreden düz kas tabakalarından oluşur (36). Bazı bölgelerde üçüncü bir tabaka bulunabilmektedir ve bu tabakanın yönelimi sirküler olma eğilimindedir (24). Muskularis mukoza, bezlerden salgılanmayı kolaylaştırmak için mukozaya ince kas hücre şeritleri gönderebilir (26). Bu uzantıların kontraksiyonu müköz membrana baskı uygular ve bezlerin boşalmasını kolaylaştırır (32).

2.3.2 Tunica Submukoza

Fibroelastik bağ dokusundan oluşur ve uzunlamasına kıvrımlı bir yapısı vardır (36). Sıkı bağ dokusu, kan ve lenf damarlarından oluşmuştur. Lenfoid hücreler, makrofajlar ve mast hücreleri içerir (23). Submukozal pleksus (Meissner), submukozanın damarlarını ve muskularis mukozanın düz kasını innerve eder (24).

2.3.3 Tunica Muskularis

Üç düz kas tabakasından oluşur. Düz kas hücreleri dış kısımda uzunlamasına, orta kısımda dairesel, iç kısımda ise oblik şekilde yerleşim gösterir:

-Stratum Longitudinale: Bu kas lifleri midenin uzunluğuna paraleldir. Yukarıda özefagusun aşağıda ise duodenumun longitudinal kas lifleri ile devam eder. Longitudinal kas lifleri midenin her bölgesinde aynı yoğunlukta değildir. Özellikle küçük kurvaturda kalın bir tabaka oluşturur. Buna karşın midenin ön-üst ve arka-alt duvarında ince ve aralıklı huzmeler şeklinde seyreder. Pars pylorica da ise kalın huzmeler halinde seyreder (37).

-Stratum Circulare: Bu kas lifleri mideyi uzun eksenine etrafında yukarıdan aşağıya doğru eksiksiz olarak sarar ve pilor kısmında çok kalınlaşır. Bu bölgede musculus sphincter pylori adını alır. Bu sfinkter mideyi duodenumdan ayıran valva pylori adı verilen kapağı meydana getirir. Bu kapak piloru tamamen kapatamadığından ortasında ostium pyloricum adı verilen bir delik bulunur. Bu kapağa mide tarafından (valva pylori) bakınca bir huni gibi görüldüğü halde duodenum tarafından bakılınca ortası delik dairesel bir kapak şeklindedir (38).

-Stratum Obliquae: Bu kas lifleri curvatura ventriculi minör, pars pylorica ve curvatura ventriculi major'un yan sağ tarafında hiç bulunmaz. Bu kas lifleri

kardiyadan başlayarak midenin ön-üst ve arka-alt yüzlerinde aşağı ve sola doğru eğik olarak ilerleyerek *curvatura ventriculi major*'a doğru uzanırlar (39).

Kas tabakalarının düzenlenişi fonksiyonel olarak önemlidir, çünkü sindirim işlemi sırasında kimusun karıştırılmasındaki rolüyle ve kısmen sindirilmiş içeriği ince barsağa doğru itme yeteneğiyle ilişkilidir. Kas tabakalarının arasında gangliyon hücre grupları ve miyelinsiz sinir lifleri bulunmaktadır. Bu yapılar toplu olarak, kas tabakalarının innervasyonunu sağlayan Miyenterik (Auerbach) Pleksusu temsil etmektedir (24).

2.3.4 Tunica Seroza

Mideyi en dıştan örten peritondur. Ön ve arka yüzlerini örten periton, küçük kurvaturda bir araya gelerek omentum minus'u, büyük kurvaturda ise omentum majus'un ön iki yaprağını oluşturur. Midenin damarları ve lenfatikleri, iki periton yaprağı arasında, küçük ve büyük kurvaturalar boyunca uzanır (22). Seroza, periton boşluğuna bakan tek sıra mezotelial hücrelerden, onun altında bazal lamina ve en altta da gevşek bağ dokusundan oluşur. Plevral ve perikardiyal boşlukları çevreleyen mezotelial hücreler gibi bu basit tek katlı olan epitel hücreleri embriyonik olarak mezodermden köken alır. Hücrelerarası bağlantılarla birbirine bağlanan hücreler apikal yüzeylerinde mikrovilluslara sahiptirler. Hücreler, abdominal organların serbestçe hareket etmesine izin veren ve nemli bir yüzeyin oluşmasını sağlayan ince seröz sıvıdan oluşan bir film tabakası üretirler (2).

2.4 Midenin Fizyolojisi

Gastrointestinal sisteme alınan yiyeceklerin ilerleyişi ağızdan anüse kadar senkronize hareketler ile olur, bu işlemlerin sonucunda besin içerikleri vücudun kullanımına sunulur. Bunu gerçekleştirmek için;

1. Besinlerin gastrointestinal kanalda ilerlemesi,
2. Gastrointestinal sistem salgılarının salgılanması ve gıdanın sindirimi,
3. Sindirim sonucu oluşan ürünler, su ve farklı elektrolitlerin emilmesi,
4. Emilim sonrası maddeleri uzaklaştırmak için sindirim sisteminde dolaşımın oluşu,
5. Bu işlevlerin sinirsel ve hormonal olarak kontrolü gerekmektedir (40).

Bu fonksiyonların düzenli işleyebilmesi için çeşitli kontrol sistemleri bulunmaktadır. Başlıca kontrol sistemleri endokrin, parakrin ve nöral sistemlerden oluşur.

Endokrin düzenleme mekanizması gastrointestinal sistemde, enteroendokrin hücrelerden salgılanan peptid veya peptid olmayan hormonların kan yolu ile hedef hücredeki etkilerinin oluşmasıyla gerçekleştirilir. Enteroendokrin hücrelerden salgılanan ürünler mekanik ve kimyasal uyarılar (asid, osmolarite, gıda) sebebiyle salgılanırlar. Endokrin hücrelerinden gastrin, histamin, somatostatin, enkefalin, bombesin, vasoaktif inhibitör peptit, sekretin, kolesistokinin (CCK), ghrelin gibi maddeler salgılanmaktadır. Gastrin, parasempatik sistem aracılığıyla antrumdaki enteroendokrin hücrelerden salgılanır ve midede asid salgılanmasını artırır. Sekretin, incebarsak S hücrelerinden salgılanan bir peptiddir, safra ve pankreas kanallarından bikarbonat sekresyonunu uyararak etki eder. Kolesistokinin, duodenumdan salgılanır ve pankreasın ekzokrin salgılarının lümene akmasını sağlar (41).

Parakrin düzenleme mekanizması, kimyasal aracının veya düzenleyici peptidin sindirim sistemindeki komşu hücrelere etkisi ile oluşur. Histamin en önemli parakrin araçlardan biridir. Histamin enterokromafin hücrelerden salgınır ve pariyetal hücrelerden asid salgısına neden olur. Somatostatin de antral mukozadan asid salgısına cevap olarak salgınır ve gastrin salgılanmasını inhibe eder (42).

Gastrointestinal sistem eş zamanlı ekstrensek ve intrensek sinir sistemi tarafından kontrol edilir. Ekstrensek sinir sistemi otonom sistemin bir parçasıdır. Hem parasempatik hem sempatik innervasyonu vardır. Parasempatik innervasyon n. vagus ile olmaktadır. İntrensek sinir sistemi, organ duvarı içinde bulunan myenterik (Auerbach) ve submukozal (Meissner) pleksuslardan oluşur. Enterik sinir sistemi afferent, internöral ve efferent nöronlardan oluşur, bu nöronal sistem kısmi olarak santral sinir sistemi tarafından kontrolü sağlansa da asıl kendi içinde kısa refleks arkları ile fonksiyon oluşturur. Gastrointestinal sistemde pek çok hormon enterik sistemdeki nöronlarda tespit edilmiştir. Bu peptid ve hormonlar beyin-barsak peptidleri olup bu düzenleme mekanizması beyin-barsak aksı olarak adlandırılır (43).

Mide salgı kapasitesi ile kompleks bir organdır. Mide mukoza ve bezleri midenin lümenine sekresyon salgırlar. Bu sekresyon ürünleri; su, HCl, gastrik intrinsek faktör, pepsinojen, rennin, gastrik lipaz, mukus, HCO_3^- ve prostaglandinleri içerir. Mide gastrik bezleri günde yaklaşık 2-3 litre gastrik sıvıyı sekrete ederler. Sekresyonları şu şekildedir:

- 1- Su; interstisyel bağ dokudaki ekstrasellüler sıvıdan elde edilmiş ve pariyetal hücreler aracılığıyla taşınmıştır.
- 2- HCl ve gastrik intrinsek faktör; pariyetal hücreler tarafından üretilir.
- 3- Enzimler; pepsinojen, rennin ve gastrik lipaz esas hücreler tarafından üretilir.
- 4- Koruyucu glikoprotein olan yüzeyel mukus; yüzey mukus hücreleri tarafından üretilir.
- 5- Çözünabilir mukus; gastrik bez bölümünün oluşturduğu boyun mukus hücreleri tarafından üretilir.

Muskularis eksternanın üç kas tabakası kontraksiyon süresince etkileşirken mide içeriği karıştırılır ve midedeki yiyecekler kimus formuna sıvılaştırılır. Gastrik mukoza ile temas eden kimus muskularis mukoza kontraksiyonlarına bağımlıdır. Myenterik ve submukozal pleksuslar arası etkileşim lümen içi basıncın sürekliliğini sağlar. Muskularis mukozanın koordineli kontraksiyonu ve pilorik sfinkterin anlık gevşemesi mide içeriğinin küçük parçalar halinde duodenuma geçmesini sağlar. Mide içindeki kimusun duodenuma salınma hızı asiditeye, kalori ve yağ içeriğine ve kimusun osmolalitesine bağılıdır (44).

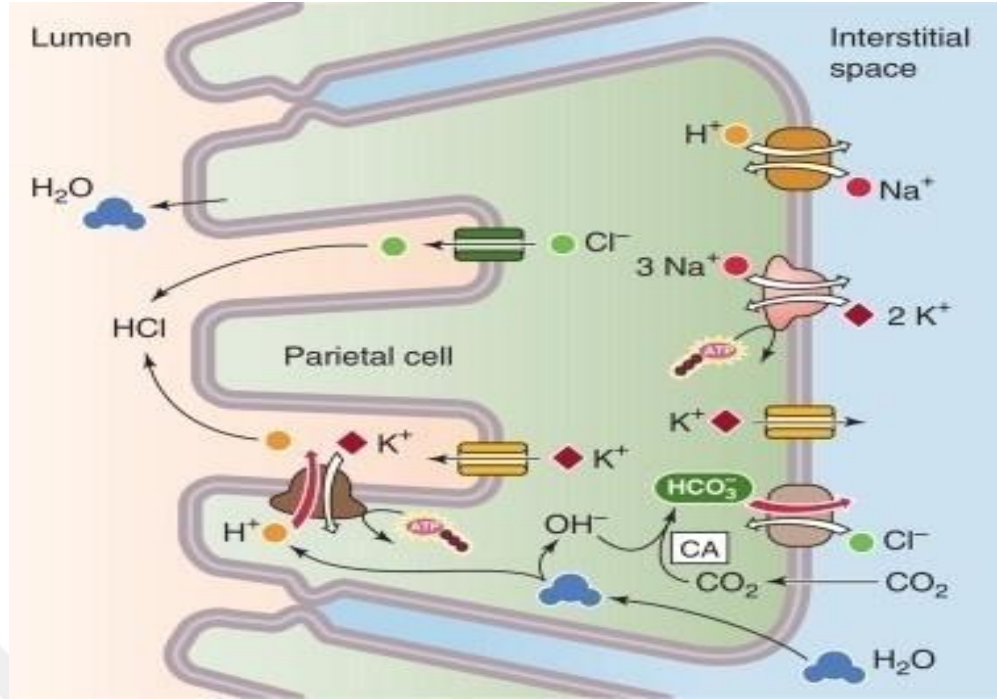
Mide lümeninde asiditeyi sağlayan HCl sekresyonu farklı uyaranlarla üç fazda gerçekleşir:

- 1- Sefalik Faz:** Sekresyona sebep olan fizyolojik faktörler; yiyecek, stres, düşünce, koku, yiyeceğin görüntüsüdür. N. vagustan çıkan parasempatik lifler aracılığıyla korpus ve fundustaki bez hücrelerine direkt etki eden asetilkolin salınımı ile asit ve pepsin sekresyonu artışı gerçekleşir. Vagal stimülasyonun bir etkisinde gastrin serbestleştirici peptid aracılığıyla gastrin sekresyonunu arttırmaktır (45).

- 2- Gastrik Faz:** Midedeki bir kısım yiyecek maddeleri ile mide duvarının gerilmesi parakrin hormonlar olan gastrin, histamin ve asetilkolin tarafından sağlanır. Bunlar da besin midedeyken gastrik sıvı sekresyonuna sebep olurlar. Sekresyonun gastrik fazı toplam gastrik sekresyonun yaklaşık %70'inden sorumludur (37).
- 3- İntestinal Faz:** Gıdalar ince barsaklara geçtiğinde, duodenumdaki G hücreleri tarafından salınan gastrin aracılığıyla sağlanır. Kana geçen aminoasitler ve diğer çeşitli hormonlar veya refleksler ise mide sıvılarının salgılanmasında daha az önemlidir (40).

HCl üretimi gastrin, histamin ve asetilkolinin pariyetal hücre plazma membranına bağlanmasıyla başlatılır. Pariyetal hücreler hücre zarında gastrin, histamin ve asetilkolin reseptörlerine sahiptirler. Özelleşmiş reseptörlere bağlanan sinyal molekülleri hücrelerin şekillenip intrasellüler kanaliküllere HCl salınımını sağlar. Bu işlemler aşağıdaki sırayı takip eder:

- 1- H_2O ve CO_2 birleşimi karbonik anhidraz enzimi aracılığıyla karbonik asit oluşturur, daha sonra karbonik asit pariyetal hücre sitoplazması içinde H^+ ve HCO_3^- 'a ayrılır.
- 2- H^+, K^+ ATPase aracılığıyla hücre içi H^+ , hücre dışına doğru intrasellüler kanaliküllere pompalanır. Aynı zamanda K^+ hücre içine alınır.
- 3- K^+ hücre zarından intrasellüler kanalikül mikrovillusları aracılığıyla etkin bir şekilde hücreye alınır, böylelikle K^+ 'un hücre içi düzeyi artar. Yüksek hücre içi K^+ hücre zarı üzerindeki iyon bağımlı kanallar aracılığıyla hücreden uzaklaştırılır. Böylece K^+ hücre içine ve dışına sürekli sirküle olur.
- 4- Su ekstrasellüler sıvıdan ayrılır, pariyetal hücreye girer daha sonra iyon değişimine bağlı ozmotik gradiyent sonucunda intrasellüler kanaliküllere geçer.
- 5- Cl^- iyonları da pariyetal hücre sitoplazmasından membrandaki Cl^- kanalları aracılığıyla kanalikülün lümenine taşınır. Kanalikülün lümenine taşınmış olan H^+ ve Cl^- den HCl oluşumu gerçekleşir (Şekil-8) (46).



Şekil-8: Mide pariyetal hücrelerinde HCl ve su üretimi ile birlikte kanal iyon değişimleri (46)

Mide mukozası yüksek asidik içerikten boyun mukus hücreleri ve yüzey mukus hücreleri tarafından salgılanan mukus tabakasındaki HCO_3^- tamponu sayesinde korunur. HCO_3^- mukus tabakası içinde H^+ ile birleşerek karbondioksit ve su oluşturur böylece H^+ nin hücre içine difüzyonu engellenir. Üstelik epitelyal hücrelerarası zonula okludens türü bağlantılar HCl'ün lamina propriyaya kaçışını engeller. Böylece mukoza hasardan korunur. Prostaglandinler de yalnızca gastrik mukoza hücrelerini korumayıp aynı zamanda lokal kan akımını arttırarak epitelyal bariyerin bütünlüğünü korurlar. Bu artmış kan akımı sayesinde H^+ lamina propriyadan uzaklaştırılır (47).

Somatostatin, prostaglandin ve Gastrik İnhibitör Peptit (GIP) hormonları gastrik HCl salınımını inhibe ederler. Somatostatin, G ve ECL hücreleri üzerinden onların gastrin ve histamin salgılarını inhibe ederek, prostaglandinler ve GIP ise direkt olarak pariyetal hücrelerin HCl üretimini inhibe ederek etki gösterir. Ek olarak Ürogastron (EGF; Epidermal Growth Faktor, GIP) duodenumdaki Brunner bezleri

tarafından üretilir, direkt olarak pariyetal hücrelerin HCl üretimini inhibe edici etkide bulunur (44).

Besinlerin sindirim sistemi boyunca ilerlemesi, salgıların salgılanması ve gıdanın sindirimi, sindirim sonucu oluşan ürünler, su ve farklı elektrolitlerin emilmesi, emilim sonrası maddeleri uzaklaştırmak için sindirim sistemi kan dolaşımı ve bu işlevlerin sinirsel ve hormonal olarak kontrolü koordineli olarak gerçekleşmektedir. Tüm bu koordineli hareketler 'motilite' olarak tanımlanır. Motilite tanımı ilk kez, bilimsel olarak, 1983 yılında Beaumont tarafından araştırılmıştır. 1899'da Bayliss ve Starling ince barsağın ritmik kasılmalarının nitelik ve niceliğini açıklamıştır. Bu temel gözlemler ve bunları takip eden araştırmalar, barsağın kasılmalarının elektrik aktivitesi ve motilite çalışmalarına temel oluşturmuştur (48).

Mide yapısal olarak tek bir organ olduğu halde iki farklı kısım olarak ele alınmalıdır. Proksimal kısmı oluşturan fundus ve midenin gövdesi primer olarak rezervuar görevi yapar, yutma anında özefagusun genişlemesi ile vagovagal refleks mide dilatasyonunu tetikler. Gövde ve fundusa ait kasılmalar zayıf nitelikli olduklarından gastrik içerik uzun süre karışmadan kalır. Besin girişi oldukça hacim ve basıncı değiştirmeden tutmak için sekresyonlarını artırır. Distal kısım olan antrum ise karıştırma, öğütme ve boşaltma işlemini yapar. Kontraksiyon dalgaları midenin orta kısmından başlar peristaltik olarak pilora doğru ilerleyerek bir 'antral pompa' mekanizması yaratır. Bu mekanizma mide boşalması üzerinde sadece peristaltik kontraksiyonların frekansı ve kuvveti ile değil aynı zamanda antrumun boyutları ile de yakından ilişkilidir (49).

Antrumdaki kasılmalar çok güçlü olduğu için besinler küçük parçalara bölünür. Antrum kasılmaları kimusun duodenuma geçişine kolaylık sağlar. Asetilkolin ve gastrin hormonu mide yavaş dalgasının plato evresinin süresi ve genişliğini artırarak mide kasılmasını uyarır (50). Yiyeceklerin olduğu alanda antrumun dakikada 3 hızındaki ritmik kontraksiyonları pilor ile koordineli olarak yiyeceklerin sıvılaştırılması için mekanik pompa görevi görür ve yiyecekleri duodenuma doğru iletir.

Lipid içeriği zengin yiyecekler yavaş gastrik boşalma gösterir. Bu içerik antral bölgede inhibitör etki ederken pilorik kontraksiyonları uyarır ve proksimal midede maksimum gevşeme yaratır. Bu etki esas olarak kolesistokin'in CCK-1 reseptörleri aracılığıyla olur. Gastrik boşalma süresi değişkenlik gösterir, 5 saate kadar uzayabilir. Hafif yiyecekler ve sıvılar yaklaşık 1 saat içinde boşalır (51).

Gastrointestinal sisteme gıdaların girişi vagal uyarı ile santral sinir sistemini harekete geçirir, bununla birlikte pek çok hümodal faktör de etki eder. Kolesistokin, glukagon benzeri peptid, ghrelin ve peptid YY gibi enteroendokrin hücreden salınan peptidlerin gıda alımını azalttıkları tespit edilmiştir. Ghrelin midedeki endokrin hücrelerden salgılanır, açlık durumunda artar, gıda alımı ile birlikte azalır (52). Tüm bu düzenleme mekanizmaları göz önüne alındığında mide, değişik derecelerde etki altında olan bir pompa olarak görülebilir (53).

3. ENTEROENDOKRİN HÜCRELER

3.1 Genel Bilgiler

Enteroendokrin hücreler gastrointestinal sistem mukozasında bulunan özellik arz eden hücrelerdir. Peptid hormon üreten bu hücreler mideden kolona kadar dağılmışlardır. Epitel içinde bulunan küçük piramidal hücreler olup embriyonik endodermden köken alırlar. Mide bezlerinde, intestinal bezlerde ve villuslarda yaygın olarak bulunan enteroendokrin hücreler mukozaya sınırlı yerleşmişlerdir. Sindirim sisteminde bulunan epitelyal kökenli hücrelerin %1'inden azını oluşturmalarına rağmen bütün halinde vücudun en büyük endokrin organıdır. Metabolik ve boyanma özelliklerine göre farklı isimlerle anılırlar (2):

- Gümüş boyama yöntemleri ile boyandıkları için Argentaffin ve Arjirofil hücreler,
- Bir kısım hücreler amin prekürsörlerini alıp, aminoasit dekarboksilasyonu sağladıkları için APUD (Amine Precursor Uptake and Decarboxylation) hücreleri,
- Tüm gastrointestinal sistem boyunca dağıldıkları için DNES (Diffüz Nöroendokrin Sistem) hücreleri,
- Enterik kanala lokalize hücreler olup, hormon benzeri madde sekrete ettikleri için Enteroendokrin hücreler olarak adlandırılırlar.

Bu hücreler endokrin pankreas ve solunum sisteminde de bulunurlar. Genellikle enteroendokrin hücreler tek tip salgı yapar, bazen 2 farklı salgı sekrete edebilirler (45). Gastrointestinal sistemdeki enteroendokrin hücrelerinin en az 12 farklı tipi mevcut olup 20'den fazla hormon ve nörotransmitter madde sentezledikleri bilinmektedir (54). Bu hücreler;

- Somatostatin
- Gastrin
- Kolesistokinin (pancreozymin)

- Sekretin
- Serotonin
- Vasoaktif İntestinal Peptit (VIP)
- Ghrelin
- GIP
- Motilin
- Nöropeptit Y
- Glisentin
- Peptit YY v.b. hormonları salgırlar.

Enteroendokrin hücrelerin salgısı G protein-bağlı reseptörler ve tirozin kinaz aktivitesi tarafından düzenlenmektedir. Yoğun merkezi kısımlı salgı granüllerinin biyosentezinin kromogranin-A tarafından düzenlendiği ve üretilmiş olan peptitlerin bir araya getirilip salgı vezikülleri halinde paketlenmesini ise kromogranin-B tarafından kontrol edildiğine ait kanıtlar vardır.

Bir kısım hücreler APUD olarak tanımlanır, nöral kristadan köken alan bu hücreler gastrointestinal sisteme ait tüm epitelyal hücreleri ile aynı kök hücreden çoğalırlar. Enteroendokrin hücreler endokrin hormonların yanında parakrin hormonları da üretmektedir. Somatostatin inhibe edici etkileri iyi bilinen parakrin hormonlardan biridir. Gastrik mukozadan salgılanan diğer lokal araçılardan biride nörotransmitterlerdir. Hedef hücreye yakın sinir sonlanmalarından salınan bu mediyatörlerin hedefi muskularis mukoza, muskularis eksterna ya da kan damarının t. mediyasının düz kasıdır. Bu nörotransmitterler asetilkolin, gastrointestinal sistemin sinir liflerinde bulunan peptitler, VIP, bombesin ve enkefalinlerdir (24).

Gastrik bezlerin tüm tiplerinde enteroendokrin hücreler bulunur fakat mide gövde ve fundusunda daha sık yerleşmişlerdir. Bezin derin kısımlarında esas hücreler arasına dağılmışlardır. Genellikle bazale yerleşmiş, pleomorfik şekilli ve yoğun sekretuar granüller içeren sitoplazma ile çevrili çekirdeği olan hücrelerdir (14). Sentez ürünü olan maddenin daha çok peptid yapıda oluşu nedeniyle sitoplazmada

bol miktarda GER bulunur. Golgi aparatı belirgindir, daha çok bazal sitoplazmada olmak üzere çok sayıda sekretuar granül görülür (1).

Sindirim kanalı mukozasında 2 farklı tip enteroendokrin hücre tanımlanmıştır. Bazal laminaya oturan ve lümeneye ulaşmayan hücreler 'enteroendokrin kapalı hücreler' olarak adlandırılır. Bunlar enteroendokrin hücrelerin büyük kısmını oluşturur. Bazıları ise bezin lümenine uzanan mikrovilluslu ince sitoplazmik uzantılara sahiptir, bu hücrelere de 'enteroendokrin açık hücreler' adı verilir. Açık hücreler primer kemoreseptör olarak görev alır. Bu hücrelerin bez lümenine bakan serbest yüzeylerinde, tat tomurcuklarında bulunan tat reseptörlerine benzer reseptörlere sahip oldukları ve bu reseptörlerle bez lümeninin içeriğini örnekleyip, elde edilen bilgiye dayanarak hormonlarını salgıladıkları kabul edilmektedir. Bu reseptörler, G protein-bağlı reseptörlerin T1R ve T2R ailesine aittir. Kapalı hücrelerin salgılaması nöral ve parakrin mekanizmalar ile olmaktadır (24).

Mide bezlerinin mukoza yapısı 2 ana tipte değerlendirilir. Asit sekrete eden gövde ve fundusun oksintik mukozası ile farklı grup endokrin hücreleri içeren antral mukozadır. Oksintik bez epitelinin endokrin hücreleri bazal lamina boyunca uzanır, endokrin olmayan epitelyal hücrelerin sitoplazmik uzantıları ile glandüler lümeden ayrılırlar. Bu hücrelerin gastrik içerikten bağımsız olması, fizikokimyasal uyarılar tarafından etkilenmemesi, aksine parakrin düzenleme mekanizmalarını içermesi, kan damarları ve sinir kökenli uyarıların aracı rol oynaması bu karakteristik kapalı tip konfigürasyona kanıt olabilir (55).

Antral mukoza oksintik mukozanın aksine pek çok açık tip endokrin hücre içerir. Bu hücrelerin glandüler lümeneye doğru uzanan kısa mikrovilluslu ve bol pinositotik vezikül içeren uzantıları vardır (56). Oksintik mukozada endokrin hücreler gastrik bez epitelinin içinde dağılık ayrı elemanlar olarak görünürken yüzey epitelinde çok nadir bulunurlar (57). Oksintik bezde bulunan spesifik endokrin hücre tiplerini belirlemede elektron mikroskobu oldukça güvenilir bir yöntemdir. Sekretuar granüllerin yapısal özellikleri bu belirlemede temel alınır (58). Antral bölgede hem sayısal hem de fonksiyonel olarak çok önemli endokrin hücreler bulunmaktadır (G,D ve EC hücreleri). Antroplorik mukozanın farklı bölgelerinde antral endokrin

hücrelerin sık sık ve dengesiz dağılımı farklı hücre tiplerinin sayısal tahminini zorlaştırır (59). Tablo 1 de gastrointestinal sistemden salgılanan endokrin hormonlar ve etkileri verilmiştir (60).

Hormon	Sentezlenme Bölgesi	Ana Etki	
		Stimüle Eder	İnhibe Eder
Gastrin	Midedeki G hücreleri	Gastrik asit salgılanması	
Ghrelin	Midedeki Gr hücreleri	GH salgılanması İştah ve açlığın algılanması	Lipid metabolizması Adipoz dokuda yağ kullanımı
Kolesistokinin (CCK)	Duodenumdaki ve jejunumdaki I hücreleri	Safra kesesinin kasılması Pankreatik enzim salgılanması Pankreastan bikarbonat iyonu salgılanması Pankreatik büyüme	Gastrik boşalma
Sekretin	Duodenumdaki S hücreleri	Pankreatik enzim salgılanması Pankreastan bikarbonat iyonu salgılanması Pankreatik büyüme	Gastrik asit salgılanması
Gastrik inhibitör peptit (GIP)	Duodenum ve jejunumdaki K hücreleri	İnsülin saliverilmesi	Gastrik asit salgılanması
Motilin	Duodenum ve jejunumdaki	Gastrik motilite	

Hormon	Sentezlenme Bölgesi	Ana Etki	
		Stimüle Eder	İnhibe Eder
Aday hormonlar			
Pankreatik polipeptit	Pankreasdaki PP hücreleri	Gastrik boşalma ve bağırsak motilitesi	Pankreatik enzim salgılanması Pankreastan bikarbonat salgılanması
Peptide YY	İleumdaki ve kolondaki L hücreleri	Kolonda elektrolit ve su absorpsiyonu	Gastrik asit salgılanması Gastrik boşalma Yiyecek alımı
Glukagon-benzeri peptit-1 (GLP-1)	İleumdaki ve kolondaki L hücreleri	İnsülin saliverilmesi	Gastrik asit salgılanması Gastrik boşalma
Parakrin Hormonlar			
Somatostatin	Gİ kanal boyunca mukozadaki D hücreleri		Gastrin saliverilmesi Gastrik asit salgılanması Diğer Gİ hormonların saliverilmesi
Histamin	Gİ kanal boyunca mukoza	Gastrik asit salgılanması	
Nörokrin Hormonlar			
Bombesin	Mide	Gastrin saliverilmesi	
Enkefalinler	Gİ kanal boyunca mukoza ve düz kas	Düz kas kasılması	İntestinal salgılama
Vazoaktif intestinal peptit (VIP)	Gİ kanal boyunca mukoza ve düz kas	Pankreatik enzim salgılanması İntestinal salgılama	Düz kas kasılması Sfinkter kasılması

Tablo 1:Gastrointestinal hormonlar ve etkileri (60)

3.2 G HÜCRELERİ

Gastrik hormonun varlığı 1905 yılında asit sekresyonunun uyarıldığıının tespitiyle fark edilmiştir. 1964 yılında Gregory ve Tracey tarafından saf gastrinin aminoasit serileri belirlenerek izole edilmiştir. Gastrinin 3 major etkisi vardır:

- 1-Parietal hücrelerden asit salgısını uyarmak
- 2-ECL hücrelerden histamin salınımını sağlamak
- 3-Mide korpusunda mukozal büyümenin düzenlenmesini sağlamak (61).

Gastrin gıda alımı sırasında asit sekresyonunun ana uyarandır. Gastrik antrumun G hücreleri tarafından üretilir, daha az sayıda incebarsak proksimali, kolon ve pankreasta da bulunur (62). G hücreleri pek çok gastrin granülü içeren geniş tabanlı ve mukozaya uzanan dar baş kısımlarıyla konik şekildedirler. Apikal uçlarında mikrovillusları mevcuttur. Midede gıda sonrası oluşan değişikliklere verilen yanıtlar mikrovilluslar üzerindeki reseptörler aracılığıyla olur. G hücreleri ve diğer gastrik mukoza endokrin hücreleri noradrenalin ve serotonin ile ilgili aminleri içerirler, bu nedenle APUD hücreler olarak da adlandırılırlar (47).

Gastrin hem makroheterojenite hem de mikroheterojenite gösteren diğer hormonlara benzer. Makroheterojenite dokular ve vücut sıvılarında değişik uzunlukta peptit zincirlerinin oluşumunu ifade ederken mikroheterojenite bir tek aminoasidin moleküler yapısındaki değişimi anlatmaktadır. Gastrin 101 aminoasitten oluşan prekürsörden sentez edilir. Preprogastrin bölünerek hepsi aynı C terminal koluna sahip farklı gastrin formları oluşur. G34, G17 ve G14 temel gastrin formlarıdır. N terminalde uzayan bir formu da 45 den fazla aminoasit içerir. Farklı formlarından biri de C terminalde 6. aminoasit olan tirozinin sülfatlanmasıdır. Kan ve dokularda eşit derecede sülfatlanmış ve sülfatlanmamış formlar bulunur, hepsi de eşit derecede aktiftirler (63). G14 ve G17'nin yarı ömrü 2-3 dakika iken, G34'ün 15 dakikadır. Gastrin esas olarak böbrek ve incebarsaklarda inaktive olur (47).

Gastrin ve CCK C terminal ucunda benzer tetrapeptitleri taşıdıklarından dolayı birbirleriyle ilişkili hormonlardır. Gastrin ve CCK reseptörleri 2 ana sınıfa

ayrılır: CCK-1 ve CCK-2 olarak ayrılan bu reseptörlerden CCK-1 kolesistokinine özgü olup CCK-2 reseptörleri CCK ve gastrine yüksek afinite gösterirler. CCK-2 reseptörleri insan pariyetal ve ECL hücrelerinde tespit edilmiştir (64).

Antral G hücrelerinde G 17 primer iken, duodenal G hücrelerinde G34 primer formdur. G hücreleri lümendeki peptit ve aminoasitlere cevap olarak Gastrin Releasing Peptid (GRP) etkisiyle gastrin salgırlar. GRP, vagal sinir uçlarından salınan 27 aminoasitli bir peptittir. Komşu D hücreleri tarafından salınan somatostatin aracılığıyla gastrin salınımı inhibe edilir (65). Antrumda bulunan fazla miktardaki asit sekresyonu da gastrin salınımını inhibe eder.

G hücreleri yapısal özellik olarak; aynı türler arasında bile sekretuar granüllerinin farklı görünüşleri ile karakterizedir. Çok çeşitli ve tanınmasını sağlayan patern düşük-orta dansitede yoğun içerikli granüllerin varlığıdır. Yüksek dansitede kompakt tip ara granüller de bulunabilir (66).

Yüksek dozlarda gastrinin çeşitli etkileri vardır. Ancak temel fizyolojik etkileri mide asidi ile pepsinin salgılanması ve mide, ince ve kalın barsak duvarlarının mukozasının büyümesini uyarmaktır (trofik etki). Gastrin aynı zamanda özefagogastrik sfinkterin de kasılmasına neden olmaktadır, fakat bu etkinin fizyolojik önemi kesin değildir (47).

3.3 D HÜCRELERİ

Siklik peptit yapısına sahip olan somatostatin ilk kez 1973 yılında koyun hipotalamusundan izole edilmiştir (67). Daha sonra yaygın olarak gastrointestinal sistemde bulunduğu tespit edilmiştir. Duodenum, antrum ve gastrointestinal fonksiyonlarda inhibitör etkisi gösterilmiştir. Somatostatin infüzyonunun gastrin ve asit sekresyonunu inhibe ettiği, yüksek konsantrasyonda somatostatinin gastrointestinal kanal boyunca ve antrumda mevcut olduğu, güçlü bir barsak inhibitör faktörü olduğu 1974-1975 yılları arasında gösterilmiştir (68). Somatostatinin tüm etkileri bilinmese de mide asit sekresyonu üzerine olan etkisi açıktır.

Somatostatin 116 aminoasitli preprosomatostatin olarak sentezlenir. 1-24 aminoasitler sinyal peptit içerir. 92 aminoasit içeren prosomatostatin öncülünden somatostatinin 2 formu sentezlenir. Bunlar Somatostatin 14 (SS-14) ve Somatostatin 28 (SS-28) dir. SS-14 mide, pankreas adacık hücreleri ve enterik nöronlarda predominant iken SS-28 incebarsaklarda predominanttır (69).

Total vücut somatostatininin % 65'i barsaklardan, yaklaşık %5 kadarı da pankreasdan salgılanır (70). Somatostatin antrumda yüksek konsantrasyonda bulunur. Somatostatin D hücrelerinde sentezlenir. İnsan ve diğer memeli türlerinde somatostatin üreten hücreler; orta derece dansite özelliğinde homojen bir çekirdeğe sahip, yuvarlak ve büyük (200-400 nm) membranla sarılı granüller içerirler. Pankreas ve diğer gastrointestinal sistem SS üreten hücreler de benzer özellikler gösterir. İmmünohistokimyasal analizlerde yapısal görüntüler incelendiğinde; SS-28 in immatür granüllerinin golgi aparatında biriktiği, matür formlarında ürün olarak ayrıldığı tespit edilmiştir (71).

Somatostatin salgılayan D hücreleri yapısal çeşitlilik gösterebilir. Antrumdaki hücreler ağırlıklı olarak açık tiptir ve uzantıları ile lümenle bağlantılı ve muhtemelen lümen içeriğine duyarlıdır. Oksintik ya da fundik mukoza hücreleri daha çok kapalı tipleri içerir (72). Bu hücelere özgü olan bu uzantılar D hücreleri ile ona komşu olan pariyetal hücreler arasında hücreden hücreye direkt bağlantı kurarlar, böylece parakrin etki yaratırlar. Mide somatostatin hücreleri yakın ilişkili oldukları hedef hücreleri olan pariyetal, ECL ve gastrin hücreleriyle direkt sitoplazmik uzantıları ile ya da indirekt lokal dolaşıma katılarak etki ederler (73).

Somatostatinin gastrik asit sekresyonunu inhibe edici etkisi hem direkt hem de indirekt mekanizmalarla olur. Direkt yolda somatostatin, hem pariyetal hücrelerin bazolateral kenarındaki G_a ilişkili reseptörü (SST) hem de adenil siklazı inhibe eder. Histaminin uyarıcı etkisini antagonize ederek inhibe eder ve pariyetal hücrelerden gastrik asit sekresyonunu engeller (74). Nöral ve hormonal mekanizmalar korpustaki D hücrelerini uyarırken (lümen içi pH'ya duyarlı değildirler) düşük intraluminal pH antrumdaki D hücrelerini uyarır.

Gastrin, GRP, VIP, pituiter adenilat siklazı aktive eden polipeptit (PACAP), b2/b3 adrenerjik agonistler, sekretin, atriyal natriüretik peptit (ANP), adrenomedüllin, amilin, adenzin ve kalsitonin gen ilişkili peptit (CGRP) somatostatin salınımını uyarırken, asetilkolin ve interferon gama somatostatin salınımını inhibe eder (75). Somatostatinin indirekt etkileri iki şekilde olup bunların her ikisinde parakrin etkilidir. Mide korpusundaki D hücrelerinden salınan somatostatin, ECL hücrelerinden histamin salınımını inhibe ederek gastrik asit salınımını engeller. Antrumdan salınan somatostatin G hücrelerinden gastrin salınımını engelleyerek inhibe eder. Somatostatinin asit sekresyonunu farklı şekillerde inhibe etmesi, asit sekresyonunun kontrolünde yedik düzenleme yollarının varlığına örnektir (76).

3.4 ENTEROKROMAFFİN BENZERİ HÜCRELER

1960' larda argirofil boyanan, argentafin olmayan bir grup hücre oksintik mukozada bulunmuş ve enterokromaffin hücelere benzerliklerinden dolayı Enterokromaffin Benzeri (Enterochromaffin-Like) hücre adı verilmiştir. ECL hücreleri tüm organizmalarda oldukça özel olup, oksintik mukozanın baskın ve fonksiyonel olarak oldukça önemli hücre tipidir. Genellikle mukozanın bazal kısmında yerleşmiş ve esas hücrelerle yakın temas halindedirler. İnsan ECL hücrelerinde genellikle bazal sitoplazmik uzantılar görülür (77). ECL hücreleri dolaşan gastrinin kontrolü altındadır. ECL hücrelerinden başlıca histamin salgılanır. Ayrıca kromograninler, enteroglukagon, alfa1-glikoprotein gibi çok çeşitli amin ve peptitler de salgılanır.

Antral G hücrelerinden, yiyecek alımına cevap olarak gastrin salgılanır ve gastrin ECL hücreleri üzerinde bulunan CCK-2 reseptörlerine (bazal plazma membranında yer alan endositoz aracılı reseptörlerdir) bağlanarak, ECL hücrelerinden histamin salgılatır. Histamin pariyetal hücrelerin lokal aktivasyonunda çok önemlidir ve pariyetal hücre yüzeyinde bulunan H₂ reseptörlerine bağlanarak proton pompasını aktive eder (78). Gastrin uyarısına cevap; dakikalar içinde sekretuar ürünlerin salınımı, saatler ya da günler içinde salgılanacak proteinlerin hücre ve organellerin hipertrofisi, birtakım enzimatik aktiviteyle sentezlenmesi,

işlenmesi ve haftalar içinde hücre proliferasyonu ile karakterizedir. ECL hücreleri ışık mikroskop altında, Grimelius ve Sevier-Munger gümüş boyama yöntemleriyle ya da kromogranin A immünboyama yöntemiyle görülebilirler (79).

Yapısal olarak ECL hücrelerinin membranla kaplı sekretuar veziküller içeren küçük, dens, ekzantrik yerleşimli çekirdekleri oldukça karakteristiktir. ECL hücrelerinin ana sekresyon ürünü olan histamin pariyetal hücrelerden asit sekresyonunda oldukça önemli role sahiptir. Sentez ve sekresyonun intrasellüler mekanizmaları şu şekildedir:

ECL hücrelerinin histamin sentezleyebilmeleri, histidin dönüştürücü enzim olan, yüksek konsantrasyonda Histidin Dekarboksilaz enzimi içermelerine bağlıdır (80). Enzim ve yeni formu olan histamin hücre sitoplazmasında lokalize olur (81). Daha sonra, insan ve sıçanların ECL hücrelerinde tesbit edilmiş bir protein olan Vesiküler Monoamin Transporter Tip 2 (VMAT-2) kontrolü altında ECL hücrelerinin sekretuar kompartmanlarına girer (82). Histamin içeren veziküller ya da granüller plazma membranına veziküler ekzositik proteinler tarafından bağlanırlar. ECL hücrelerinde tanımlı ekzositik proteinler sinaptofizin, sinaptotagmin III, sinaptobrevin II, sintaksini içerirler (83).

Kalsiyum bağlayıcı bir protein olan kalbindin ECL hücrelerinin ürünlerinden biridir. Kalbindin muhtemelen gastrik mekanizmaların düzenlenmesi sırasında kalsiyum dengesini sağlamaktadır (84). Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) heparin bağlayıcı proteinler grubunda olup ECL hücrelerinden sekrete edildiği immünohistokimyasal yöntemlerle gösterilmiştir (85). Transforming Growth Factor - α (TGF- α) ve BCL-2 de ECL hücrelerinden eksprese edilmektedir (86).

3.5 ENTEROKROMAFFİN (EC) HÜCRELERİ

EC hücreleri gastrik hücre çeşitlerinden biridir ve bu hücreler 5-hidroksitriptamin (5-HT) diğer adıyla serotonin sentezlerler. Çubuk benzeri ya da bikonkav görünümde yoğun granüllü ve pleomorfik görünümüleriyle karakterizedirler (87). EC hücreleri oksintik mukozada açık tipte bulunan endokrin hücrelerdir, gland lümenine uzanan apikal uzantıları vardır (88). 5-HT den türeyen taşikininin ve

opioidler gastrointestinal motilitenin düzenlenmesinde belirleyicidir. Antral mukozanın proksimalinde sık yerleşimli olup nadiren pilora yakın bulunurlar. EC hücreleri mukozanın bazal bölümünde yoğunlaşmış olup, antral bezlerin alt taraflarında bazal laminaya oturmuştur (89).

Serotonin, insanda mutluluk, canlılık ve zindelik hissi veren bir nörotransmitterdir. Eksikliğinde depresif, yorgun, sıkılgan bir ruh hali görülür. Yapısal olarak monoamin grubuna girer ve triptofan aminoasitinden sentezlenir. Beyinde serotonin salındığında damarlarda vazokonstrüksiyon gelişir, serotonin düzeyi düştükçe vazodilatasyon olur.

3.6 X (A) HÜCRELERİ

Wren ve arkadaşları tarafından iştah hormonu olarak adlandırılmış olan Ghrelin ilk kez 1999 yılında Kojima ve ark. tarafından fare midesinde tespit edilmiştir (90). Mide oksintik mukozasında enteroendokrin hücrelerden olan X/A hücreleri tarafından üretilen 28 aminoasitten oluşan peptid yapısında bir hormondur (91). Ghrelin öncül molekülü preproghrelin 117 aminoasitten oluşur. Sitoplazmada enzimatik işlem sonrası hem growth hormon salgılatıcı hormonu (GHRH) indükleyici özellik kazanır hem de hidrofobik özellik kazanarak beyin dokusuna kolayca geçişi sağlanır (92).

Gastrik ghrelin sekresyonu hormonal ve besinsel faktörlerden etkilenmektedir. Ghrelin üretimi ile ilgili iki bölge mevcuttur. Birincisi; mide fundus mukozası oksintik bezi içindeki X/A hücreleri, ikincisi ise; nöronal hücre gruplarının sinaptik ileti ile ghrelin salınımı yaptığı santral sinir sistemidir. Ghrelin ayrıca az miktarda plasenta, testis, böbrek, hipofiz, prostat, ince barsak, pankreas, beyin ve tükrükde gösterilmiştir (93). Ghrelin salgılayan hücreler kan damarlarına yakın yerleşimli olup bez lümeni ile ilişkili değildir. Bu da endokrin etkili olmalarına sebep olur. Gastrik ghrelin salgısı mekanik uyarı, mide lümenindeki sindirim ürünlerinin hareketi, sistemik dolaşımdaki maddeler ve merkezi sindirim sisteminden gelen uyarılarla düzenlenir (94).

Ghrelın organizmada pek çok sistem üzerine etkilidir. Büyüme hormonu salgılatıcı etkisi, iştah gıda alımı, karbonhidrat metabolizması, hücre proliferasyonu ve reproduktif sistem üzerine olan etkileri üzerinde çalışılmakta olan konulardır (95).

Ghrelın, GHRH salınımını uyarır, her hücre üzerine direkt olmasa da dolaylı olarak etki eder. Başta kemik, kıkırdak ve iskelet kası olmak üzere vücudun büyüme yeteneğinde olan hemen bütün doku hücrelerine etki eder. Ghrelın GHRH arttırırken somatostatin salınımını azaltmaktadır (96). Ghrelının en yüksek seviyesi gece 2-4 saatleri arasında olup açlıkla ghrelın seviyesi artmaktadır (97). Ghrelının yağ dokusu ve iştahın artması yönündeki etkileri büyüme hormonu üzerine olan etkilerinden bağımsız olup bunun leptin aracılı merkezi sinir sistemine ait özel nöronlar tarafından düzenlenmiş olduğu düşünülmektedir (98). Ghrelın kardiyak kan atım miktarını arttırmaktadır ve bu etkisinin sistemik vasküler direnci azaltmasına bağlı olduğu saptanmıştır (99). Ghrelının ayrıca testiküler steroidogenez ve Leydig hücrelerinden testesteron salınımında ve endometrial stromal hücrelerin kalınlaşmasında rol aldığı belirlenmiştir (100).

4. ENTEROENDOKRİN HÜCRELERE ÖZGÜ GÜMÜŞ BOYAMA VE İMMÜNHİSTOKİMYASAL BOYAMA YÖNTEMLERİ

4.1 Gümüş Boyama Yöntemleri

Dokuların bazı bölümleri üzerine indirgenmiş olan çok ince bir metal tabakanın çökertilmesi bir çeşit histolojik boyama yöntemidir. İmpregnasyon adı verilen bu yöntemde kullanılan metal, tuzlu eriyikler şeklinde doku ile reaksiyona girer ve indirgenme doku tarafından bir miktarda ultraviyole gibi fiziksel araçların yardımıyla olur. Sinir sistemi ile argirofil fibrillerin gösterilmesinde oldukça önemli olan bu yöntemde en çok gümüş nitrat kullanıldığı için bu yöntem 'Gümüşleme Yöntemi' de denir. Bu yöntemde gümüşün yanında altın ve osmiumda kullanılmaktadır (101). Altın ve gümüş tuzlarının yer aldığı pek çok teknik bulunmaktadır. Bu teknikler arasında Camillo Golgi (1843-1926) ve Santiago Ramon y Cajal (1852-1934) ın geliştirdikleri teknikler önemlidir. Bu teknikler özellikle nöronlara ait gösterimlerde önceliklidir. Gümüşleme ile nöronlar ve glial hücreler gösterilebilir. Ramon y Cajal tekniğinde tek gümüş çöktürme işlemi indirgenme progallol, hidrokinon veya aminofenol özelliğindeki maddelerden biri tarafından gerçekleştirilmektedir (102). Gümüş indirgenmediğinde nöronlar sarı ya da turuncu, nörofibriller kahverengi-siyah arası, nöroglialar siyah renkte görülür.

Metalik çöktürme teknikleri, sinir hücre uzantıları ve retiküler fibrillerin gösteriminde ideal bir yöntemdir. Metalik çöktürme yöntemi dokulardaki indirgeyici ajanlar yeterli güçte ise tek basamaklı bir tekniktir. Fakat fibrillerin çöktürme ile gösteriminde argirofil hücrelere benzer olarak genellikle iki basamaklı indirgenme olur. Gümüş yerine altın da kullanılabilir.

Bazı metalik bileşikler dokular tarafından opak, genellikle siyah birikinti oluşturarak metalik duruma indirgenebilirler. Kolayca indirgenmediğinden ve depo edilmiş gümüş stabil olduğundan amonyaklı gümüş çözeltileri histoloji için çok uygundur. Melanin gibi tirozin türevleri ve intestinal bezlerin enteroendokrin hücrelerinde bulunan fenolik bileşikler amonyaklı gümüş solusyonunu görülebilen birikim oluşturarak indirgerler. Bu tip hücreler 'arjentaaffin hücreler' olarak bilinir.

Amonyaklı gümüş solusyonunu direkt olarak indirgeyemeyen fakat dışarıdan eklenen bir indirgeyici ajanla gerçekleştiren hücreler ‘argirofil hücreler’ olarak bilinir (103).

4.1.1 Argirofil Hücre Gümüş Boyama Yöntemleri

Gümüş boyama tekniklerinde kullanılan gümüş tuzu önce doku komponentlerine tutunur, ardından hücre yapısında bulunan indirgeyici madde ile ya da eklenen bir indirgeyici ajanın (hidrokinon veya formalin) etkisiyle indirgenme tamamlanır. Buna Argirofil Teknik denir. Argirofil teknikler yarı spesifik olup görüntülemeye önemli yerleri vardır. Kullanılan fiksatifdeki ve gümüş tuzundaki değişiklikler, sonuçlarında farklı olmasına sebep olur. Bu sebeple geçerli bir karşılaştırma yöntemi olması için kullanılan fiksasyon ve gümüş tuzu standart olmalıdır (104). Formaldehit ile tespitten sonra Grimelius yöntemi seçildiğinde nöroendokrin sisteme ait hücreler bu yöntemle negatif bulunmuşsa başka teknikler kullanılabilir. Grimelius gümüş yöntemi pankreasın A hücreleri için, alkolik gümüş nitrat yöntemi pankreasın D hücreleri için ve argirofil hücreler için indirgeyici gümüş yöntemleri örnektir (105).

4.1.2 Argentaffin Hücre Gümüş Boyama Yöntemleri

Dokulardaki biyolojik aminlerin gösterilebilmelerinin temeli, aminlerin aldehitlerle ve bazı asitlerle birleşerek spesifik floresans yayan ve spektrum yayan bileşikleri üzerine gözlemlere dayanmaktadır. Bu bileşiklerden bazıları aynı zamanda indirgeyici ajandır. Çoğu biyolojik amin, buldukları hücreden hızla yayılırlar.

Argentaffin hücreler gastrointestinal alanın hemen tüm bölümlerinde görülebilirler. Sıklıkla pankreas, safra kesesi ve genitoüriner sistemde yer alırlar. Duodenum, ileum ve appendiks içindeki Lieberkühn kriptalarında pek çok argentaffin hücre vardır. Midede esas olarak argirofil hücreler görülürken az miktarda argentaffin hücrelerde bulunmaktadır.

Argentaffin hücreler genellikle armut biçimli olup eozinofilik sitoplazmaya sahiptir. Granülleri çekirdek ve bazal hücre membranı arasında uzanır. Formalin

fiksasyonunu takiben bu granüller direkt olarak gümüşü indirgerler (Argentaffin reaksiyon). Beta karbolin indirgeyici bir ajandır ve gümüş tuzlarını metalik gümüşe veya ferrisiyanidi ferrosiyanide indirger (Schmorl reaksiyonu). Aynı zamanda da diazonium tuzları ile çözünemeyen renkli bir azo boyası oluşturmak üzere birleşir. Böylelikle parlak otofloresan özellik gösterirler. Teorikte, her biyolojik amin, aldehitle floresans veren bir bileşik oluşturmak üzere bağlanabilir. Fakat pratikte fiksasyonun ve takibin normal şartlarında sadece 5-hidrostriptamin iyi sonuçlar verir. Pozitif boyanma için erken ve uygun bir fiksasyon yapılmalıdır. Post-mortem dokular iyi sonuç vermez. Masson-Fontana, Singh' in modifikasyonu, alkalın diazo yöntemi (Gomori), kurşun hematoksilen ve Gibbs reaksiyonu diğer uygulama yöntemleridir (106).

4.2 PAS Boyama Yöntemi

Komşu glikol grupları içeren maddeler veya bunların amino veya alkilamino türevleri periyodik asit ile oksitlenir ve dialdehitler oluşur; bunlar, schiff reaktifi ile birleştirilerek çözünmez bir magenta bileşiği (pembe-mor renkli) oluşturulur. Bu tür maddeler karbonhidrat grubundandır. Periyodik asit, oluşan aldehitleri zayıf veya negatif reaksiyon veren karboksil gruplarına aşırı oksitlemediğinden tercih edilen oksidandır. Bazik fuksinin kromofobik gruplarından biri olan Schiff reaktifi, sülfürleşme yoluyla parçalanarak renksiz bir solusyona dönüşmüştür. Serbest aldehid gruplarının mevcudiyetinde orijinal boya ile benzer fakat özdeş olmayan çözünmeyen bir renkli bileşik oluşturulur (105). Yüksek bir polisakkarit içeriğe sahip doku komponentleri koyu pembeden menekşe renginin farklı tonlarına kadar değişen derecelerde boyanırlar (107). Farklı doku komponentlerine örnek olarak;

- 1- Polisakkaritler: Glikojen (hepatositlerde, vagina epitelinde)
- 2- Nötral Mukopolisakkaritler: Nötral müsünler (mide müsini)
- 3- Glikolipitler: Nöronal glikolipitler, gangliositler
- 4- Doymamış Lipit ve Fosfolipitler: Merkezi sinir sistemindeki ak cevherdeki lipitler verilebilir (108).

4.3 Polipeptit Hormon Görüntüleme Yöntemleri

Endokrin hücre granüllerindeki polipeptit hormonları birkaç yöntemle göstermek olasıdır.

4.3.1 Elektronmikroskopik Yöntemler

Özel polipeptitleri içeren granüller immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak granül büyüklüğü, yoğunluğu ve şekline göre kendine özgü görünümünü incelenerek tanınırlar. Yapısal görünümüne bakılarak aldehitle tespit edilip resine gömülmüş dokulardan alınan yarı ince-ince kesit tekniği ile elde edilen immunohistokimyasal bulgular arasında bağlantı kurulabilir. Yarı ince kesit 1-2 mikrometre olarak kesilir ardından birkaç tane ince kesit onun da ardından bir yarı ince kesit daha alınır. Materyalin tüm kalınlığı 4 mikron olduğundan, hücre kesitlerin hepsinde de vardır. Birinci kesit, pozitif hormon tayini oluşturan immunositokimyasal reaksiyonlar için kullanılır; aradaki ince kesitler nörosekretuar granül görünümü tayininde, en son kesit ise (yarı-ince) immünojenik kontrol kesiti olarak kullanılır. Bu teknik, polipeptit hormonun antijenik komponenti fiksasyon veya gömme esnasında denature olmadı ise bir değere sahiptir (103).

4.3.2 Histokimyasal Yöntemler

Hücre ve dokuda bulunan maddelerin miktarını, yerleşimini saptamaya yönelik araştırma yöntemleridir. Özellikle gruplar, reaktif maddeler veya enzim katalizörleri ile bu çalışmalar yapılabilir. Kimyasal reaksiyonların kombinasyonu 1825' lerde kullanılmaya başlayıp 1970' lardan itibaren geliştirilmiştir. Bu reaksiyonlar dört ilke temeline dayanır:

-Basit iyon etkileşimleri

-Aldehitlerin Schiff veya gümüş bileşikleriyle etkileşimi

- Aromatik diazonyum taşlarının proteinler veya hormonlardaki aromatik tuzlar ile birleşmesi

-Enzimlerin primer reaksiyon ürünlerinin renklendirilmiş çökeltiliye dönüşmesi (109).

Çalışmalar birkaç tekniği aynı anda uygulayarak ve sonuçlarını karşılaştırarak yapılmalıdır. Özellikle de farklı argirofil yöntemler uygulanmalıdır. Çünkü bazı polipeptid hormonlar, özel bir fiksatiften sonra bir gümüş tekniği ile boyanırken, başka bir teknikle boyanmayabilir (103).

4.3.3 İmmünohistokimyasal Yöntemler

İmmünohistokimya yönteminde işaretlenmiş antikorlar kullanılarak hücre ve doku antijenlerinin lokalizasyonları sağlanır. Tarihte ilk kez Albert H. Coons tarafından kullanılan bu yöntemde antikor bir floresan boya ile işaretlenerek antijenlerin gösterilmesi sağlanmıştır. Zaman içinde gelişen tekniklerle çok daha fazla doku antijeninin tespiti sağlanmıştır.

İlk gelişen teknik direkt immünofloresans yöntemidir. Bu yöntemle işaretlenmiş olan monoklonal veya poliklonal primer antikor doğrudan dokudaki antijenle reaksiyona girer. Diğer bir yöntem ise indirekt immünofloresans yöntemidir. Bu teknikte dokudaki bir antijen ile primer antikor reaksiyona girer, fluorokrom ile işaretlenmiş sekonder bir antikorda primer antikor ile etkileşimde bulunur.

İmmünohistokimyasal yöntemler dokudaki antijenin spesifik antijen-antikor etkileşiminden yararlanılarak gösterilmesini sağlayan bir yöntem olduğundan temelde iki çeşit antikor kullanılmaktadır.

1-Poliklonal Antikorlar: Tavşan ya da kobayları antijenle immünize ederek üretilen poliklonal antikorlar farklı hücreler tarafından üretildikleri için immünokimyasal olarak da farklıdırlar. Kendilerini oluşturan antijen molekülü üstündeki çeşitli epitoplara reaksiyon verir. Bu sebeple pozitif görünen bir reaksiyon kontroller yapılmadan özgün ve beklenen antijen-antikor reaksiyonu olarak kabul edilmemelidir.

2-Monoklonal Antikorlar: Saf antikor elde etmek için farede plazma hücre klonları tarafından monoklonal antikorlar oluşturulur ve farenin dalağından elde edilen lenfositler antikor kaynağı olarak kullanılır. Belirli bir klona ait olan antikorlar immün olarak benzer yapıda olup kendilerini oluşturan antijen üzerindeki spesifik bir epitop ile reaksiyon verirler (110).

İyi bir antikor antijene karşı yüksek ilgili olmalı, yüksek bağlanma kuvvetinde olmalı ve yüksek konsantrasyonda olmalıdır. İyi bir immünohistokimyasal boyamada belli başlı bazı şartlar yerine getirilmelidir:

-Antijenin iyi ve doğru uygulanmış doku fiksasyonu ve doğru doku hazırlama teknikleri ile korunması ilk önemli basamaktır.

-İmmünohistokimyasal boyanmanın özgül olması ve korunması gereklidir. Pozitif kabul edilen sonuç yanlış pozitif olarak değerlendirilebilir. Sonucun doğruluğu metot kontrolleri ile yapılmalıdır.

-Antikorum iyi nitelikli olması önemli bir özelliktir.

-Kolay gözlenebilen bir işaretleyiciyi kullanmak gereklidir. Bu amaçla fluoresan boyalar, enzimler (peroksidaz, alkali fosfataz v.b.), altın tanecikleri (ferritin), biyotin kullanılabilir (102).

Saf özgün antikorlar kullanılıyorsa ilk sorun fiksatif seçimidir. Hücrelerin ve dokuların mümkün olan en verimli ve canlı halde saklanması tüm histolojik ve sitolojik tekniklerin en önemli kısmını oluşturmaktadır. Kullanılan fiksatifler lizozomal enzimleri inaktive ederek otolizi önler, bakterilerin ve çürütücü etkilere neden olacak küflerin gelişmesini inhibe eder. Ayrıca fiksatifler uygulanan işlemlerden ve boyama tekniklerinden kaynaklanan hasarlara karşı hücre ve dokuları stabilize eder. Fiksatifler dokuyu koruyucu işlev gösterirken koagülasyon ile ya da ek bileşikler oluşturarak protein denatürasyonu yaparlar. Hücre kimyasal yapısında değişiklik oluştururken bir yandan da hücreye ait ve hücre dışı yapılarda fiziksel değişikliklere sebep olurlar.

Hücre ya da dokuya ait yapıların görünebilir olması için farklı tekniklere farklı fiksatifler uygulanmaktadır. İmmünohistokimya için daha çok parafin kesitler kullanılır. Bu amaçla formaldehid veya formalin bazlı fiksatifler (nötral tamponlu formalin solusyonu, Bouin's solusyonu), civa klorid bazlı fiksatifler (B5 çalışma solusyonu, Zenker's çalışma solusyonu) kullanılabilir.

Fiksatif kullanımı ile aynı zamanda doku proteinleri, nükleik asitler ve polisakkaritlerin aralarında çapraz bağlar oluşur. Oluşan bu bağlar, immün boyama reaksiyonları sırasında, doku kesitlerinin antikor geçirgenliğini sınırlar (111). Aynı zamanda antijenik belirleyicilerin erişilebilirliğini azaltır (112). Bu nedenle pek çok antijen için immünoreaktivite azalır. Bu durum özellikle tek bir epitopu tanıyan monoklonal antikorların kullanımında sorun yaratmaktadır (113). Dokuda oluşan ve 'antijen maskelenmesi' olarak bilinen bu sorunun giderilmesinde, aköz ortamlardaki dokuların ısıtılmasının önemli olduğu gösterilmiştir. Bu amaçla, etüv, düdüklü tencere, otoklav ve mikrodalga fırın kullanılmaktadır (114). Ayrıca, yanlış negatif immün boyanma ve nonreaktif antikor problemini çözebilmek için doku kesitlerine proteaz ve formik asit ön uygulaması, ultrasound gibi çeşitli yöntemlerde uygulanmaktadır.

Shi ve arkadaşları, parafine gömülmüş doku kesitlerinde immünohistokimyasal boyama öncesi tuz solusyonu içinde mikrodalga ısıtması ile immünoreaktivitenin iyileştiğini ve 'Antigen Retrieval' (AR) olarak isimlendirdikleri metotları ile erişilen yüksek sıcaklığın doku antijenitesini olumlu yönde etkilediğini bildirmişlerdir (115).

Temelde uygulama şekilleri aynı olmakla birlikte kullanılacak olan antikora bağlanan işaret maddelerine göre yöntemler çeşitlenir:

1-Direkt Yöntem: Dokuya ait gösterilmek istenen antijenin ilgili antikoruyla doğrudan bağlanması ile uygulanan yöntemdir. Parafin kesitlerden ziyade dondurarak alınan kesitlere uygulanır. Kullanılan primer antikor enzim ya da floresan madde ile işaretlenebilir.

2-İndirekt Yöntem: Tayin edilecek antijen primer antikoru ile bağlanır daha sonra işaretlenmiş ikinci bir antikor (sekonder antikor) primer antikora bağlanır. Bu yöntem daha hassas olup daha yoğun işaret gözlenir.

3-Protein A Yöntemi: Stafilokokus aureus bakterisine ait protein A, memeli türlerinin IgG molekülünün Fc parçasına bağlanır. Enzim ya da altın işaretleme ile görünür hale getirilebilir.

4-Solubl Enzim İmmün Kompleks Metot: Bu yöntem immünohistokimya için oldukça sensitif olup parafin kesitlerde ışık mikroskobunda oldukça mükemmel sonuçlar verir. Bu yöntemde bir enzim ve enzime karşı bir antikor kullanılır. Primer antikor ve enzim kompleksi aynı hayvan türlerinden elde edilmelidir. Sekonder antikor, primer antikor ve enzim – antienzim kompleksine karşı kullanılan belirteç olup, primer antikor ve enzim kompleksinin köken aldığı hayvanlardan elde edilir. Sekonder antikor ikisi arasında köprü işlevi görür. Enzim ve antienzim kompleksi oluşturan solubl enzim immünkompleks metodu enzim moleküllerinin daha fazla saptanmasına katkıda bulunabilir. Her antijenik alanda daha fazla canlı enzim kompleksi lokalize ederek bu işlemi yaparlar.

Enzim-antienzim kompleksi kullanılan enzim kompleksine göre adlandırılır. Örneğin PAP (Peroksidaz-Antiperoksidaz) yönteminde peroksidaz enzimi, APAAP (Alkalinfosfataz- Antialkalinfosfataz) yönteminde alkalinfosfataz, GAG (Glukoz oksidaz – antiglukozoksidaz) yönteminde glukoz oksidaz enzimleri kullanılmaktadır.

5-Avidin-Biotin Yöntemi: Bu yöntemde avidin proteini kullanılır. Yumurta beyazında bulunan avidin, biotin vitaminine karşı yüksek affinite gösterir. Bu teknikte sekonder antikor konjuge olmuş peroksidaz avidin-biotin kompleksini kapsamaktadır. Bu kompleksle kromojen tepkimeye girerek doku antijenini görünür hale getirir (116).

6-İmmünogold Yöntemi: Bu teknik yüksek sensitif immünohistokimyasal bir yöntemdir. Horseradish peroksidaz (HRP) gibi bir enzim işaretleyicisinden daha iyi absorbe olan kolloidal altın partikülleri ile işaretlenmiş sekonder antikor kullanılır. Bu yöntem elektron mikroskopta kapsamlı olarak kullanılmaktayken ışık

mikroskopta son zamanlarda önem kazanmıştır. Işık mikroskop kullanımında koloidal altın işareti etrafına onu kaplayan gümüş (gümüş laktat solusyonu) kullanılarak görünebilirlik arttırılır. Parafin, rezin ve kriyositat kesitlere kolayca uygulanabilir (117).

İmmünohistokimya yöntemleri uygulanırken bazı temel basamaklar mevcuttur. Kullanılan tekniklerin büyük bir kısmında peroksidaz enzimi kullanılmaktadır. Dokuda mevcut olan peroksidaz nedeniyle boyama sırasında özgün olmayan boyama sonuçlarıyla karşılaşmaktadır. Dokudaki endojen peroksidazların görünür hale gelmesini engellemek için %3 lük hidrojen peroksit kullanılmaktadır. Endojen peroksidaz genellikle kan hücrelerinde mevcut olup kemik iliği, plasenta ve dalak gibi kan hücrelerinden zengin organlarda fazla miktardadır.

Endojen biotin vitamin ve koenzim olup pek çok dokuda bulunmaktadır. Avidin-Biotin ya da Streptavidin-Biotin ile yapılan boyamalarda dokuda bulunan endojen biotinden kaynaklanan istenmeyen boyanmalar olabilir. Bu istenmeyen boyanmaları ortadan kaldırmak için % 0,1 avidin ve %0,01 biotin bloklama sistemleri kullanılmaktadır.

İmmünohistokimyada kullanılan antikörleri görünür hale getirmesi amaçlanan bazı kromojenler kullanılır. Peroksidaz sistemi için 3'-Diaminobenzidin-tetrahidroklorid (DAB), Amino -9-etilkarbazol (AEC), Kloro-1-naftol (CN), p-Fenilendiamin dihidroklorit kullanılmaktadır. Alkalın fosfataz sistemleri için Fast red, New fucsin, Fast blue kullanılan boyar maddelere örnektir (118).

5.MATERYAL VE METOT

5.1 Materyal

Bu çalışma Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulu'nun 02/07/2015 tarih, 98 numaralı kararı ile gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada materyal olarak Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Bölümü arşivlerindeki, 2016 yılında 30 hastadan alınmış mide biyopsi örneklerinden patolojik olmayan antrum bölgesine ait doku blokları seçilmiştir. İmmünohistokimyasal boyamada kontrol grubu olarak Bouin solusyonunda tespit edilmiş fare duodenum ve pankreas doku blokları kullanılmıştır.

5.2 Kesit Alma ve Boyamaya Hazırlık

Işık mikroskopik incelemeler için mikrotomda (Thermo Scientific) 5 µm kalınlığında 4'er kesit alınarak 37 °C su banyosunda kesitlerin açılması sağlanıp rodajlı ve polilizinli lamalar üzerine doku kesitleri alındı. Alınan kesitler 60°C etüvde 1 saat bekletilerek deparafinizasyona hazır hale getirildi.

Kesitlere genel yapıyı izlemek amacıyla H-E, PAS (+) salgıları görmek amacıyla PAS boyaması ve enteroendokrin gastrin ve somatostatin salgılayan hücrelerin izlenmesi amacıyla immünohistokimyasal olarak antigastrin ve antisomatostatin boyamaları yapıldı.

5.3 Histokimyasal Boyamalar

5.3.1 Hematoksilen Eosin (H-E) Boyama

- Etüvde 60 ° C de kesitler 1 saat bekletildi.
- Sıcak ksilol 15-20 dk.
- Ksilol I 1 dakika
- Ksilol II 5 dakika
- Ksilol III 5 dakika
- % 90 Alkol 3 dakika

- % 70 Alkol 5 dakika
- %70 Alkol 5 dakika
- Çeşme suyunda 5 dakika yıkama
- Harris Hematoksilen 5 dakika
- Akarsu 5 dakika
- % 1'lik HCl 3 saniye (Doku pembe renk alana kadar batırılıp çıkarıldı)
- Akarsuda 5 dakika
- Amonyaklı su 10 saniye (Doku mor renk alana kadar batırılıp çıkarıldı)
- Akarsuda 5 dakika
- % 1'lik Eosin 3 dakika
- Akarsu 2 dakika
- % 70Alkol 10 saniye
- % 96 Alkol 10 saniye
- % 100 Alkol 10 saniye
- Sıcak kurutma
- Ksilol I 3 dakika
- Ksilol II 3 dakika
- Süzdürme 1 dakika

Boyanan lamalar entellan damlatılarak kapatıldı.

5.3.2 Periyodik Asit Schiff (PAS) Boyama

Schiff solusyonu hazırlamak için distile su kaynatıldı (aşırı köpürmeyi önlemek için) ve bazik fuksin eklendi. Karışım 50°C' ye soğutuldu ve metabisülfite eklendi, oda sıcaklığına soğutulmadan önce hidroklorik asit ve renksiz charcoal eklendi. Oda sıcaklığında, karanlık ortamda bir gece boyunca soğumaya bırakıldı. Ertesi gün filtre edilerek karanlıkta 4°C' de bırakıldı. Boyama tekniği aşağıdaki basamaklar kullanılarak uygulandı.

Kesitler ksilen ve alkol serilerinden geçirildikten sonra;

- Çeşme suyu 4 dakika
- Alcian Blue 5 dakika
- Akarsu 4 dakika
- Periyodik asit solusyonu (% 1 lik) 10 dakika
- Akarsu 5 dakika
- Schiff ayırıcı 20 dakika
- Çeşme suyu 5 dakika
- Hematoksilen 3 dakika
- Akarsu 5 dakika
- Alkol % 96 1 dakika
- Alkol absolu 5 saniye
- Sıcak kurutma 5 dakika
- Ksilen 2 dakika
- Ksilen 1 dakika

Kesitler entellan ile kapatıldı. PAS (+) olan müsün koyu pembe-mor renkli hücre çekirdekleri mavi-siyah renkli izlendi.

5.4 İmmünohistokimyasal Boyama

Boyanaacak kesitlere Avidin Biotin Peroksidaz (ABC) yöntemi uygulandı.

- Kesitler 60°C etüvde 1 saat bekletildi.
- Ksilol I 5 dakika
- Ksilol II 5 dakika
- Ksilol III 5 dakika
- % 100 Alkol I 5 dakika
- % 100 Alkol II 5 dakika
- % 90 Alkol 5 dakika
- % 70 Alkol 5 dakika
- Distile suda 5 dakika bekletildi.

- Kullanılacak antikora göre önerilen antijen retrieval uygulaması için sitrat buffer (pH=6) distile su ile karıştırılarak hazırlandı. Bu solusyon içine alınan lamlar mikrodalga fırında 800 watt ısıda 10 dakika, ardından 400 watt ısıda 10 dakika bekletilerek oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakıldı.
- Distile su ile karıştırılarak hazırlanan Phosphate Buffer Saline (PBS) ile 5 dakika yıkama yapıldı.
- SensiTek HRP Anti-Polyvalent (AEC) Ready to Use (Scytek Laboratories, AEN080-IFU) boyama kitinde bulunan % 3' lük Hidrojen peroksit bloktan her kesite 1 damla damlatılıp nemli ortam kabında 10 dakika bekletildi.
- Kesitler PBS ile 2 kez yıkandı.
- Kullanıma hazır Scytek kit içinde bulunan süper bloktan damlatılıp nemli ortam kabında 5 dakika bekletildi.
- PBS ile lamlar tek tek yıkandı.
- Antigastrin ve Antisomatostatin için kullanılacak olan primer antikolar (poliklonal rabbit antihuman gastrin 20 µl, poliklonal mouse antihuman somatostatin 40 µl) firma önerisine göre dilüe edilerek kesitlere damlatıldı. Bouin solusyonunda fikse edilmiş 2 pankreas kesitinden 1 tanesine primer antikor yerine dilüent damlatıldı. Kapalı nemli ortamda 2 saat bekletildi. (Primer antikor dilüsyonları; Gastrin: 1/100, Bioss, USA/ Somatostatin:1/100, eBioscience, Inc.)
- 4 kez PBS ile yıkama yapıldı.
- Kesitlere primer antikor ile uyumlu biyotinlenmiş sekonder antikor damlatıldı, nemli ortam kabında oda ısısında 15 dakika bekletildi.
- 4 kez PBS ile yıkama yapıldı.
- HRP damlatılarak 20 dakika bekletildi.
- 4 kez PBS ile lamlara tek tek yıkama yapıldı.
- AEC kromojenden substrata 2 damla damlatılarak kromojen hazırlandı, kesitler üzerine birer damla damlatılarak dokuların kırmızı renk alması gözlemlendi.
- Kabın içine alınan PBS solusyonu ile lamlar yıkandı.
- Distile su ile yıkama yapıldı.
- Harris hematoksilende 1 dakika tutularak çekirdek boyaması yapıldı.

- Akan çeşme suyunda yıkama yapıldı.
- Distile suya alındı.
- Kapama mediumu damlatılıp lamel ile kesitler kapatıldı (119).

Boyanan lamalar Leica ICC 50 HD mikroskop ve Leica Application Suite (LAS EZ) görüntüleme sistemi ile incelendi ve fotoğrafları çekildi.

Motic Images Plus 2.0 ML görüntüleme sistemi ile immünohistokimyasal olarak boyanmış G ve D hücreleri 100x (10x lens 10x mercek) büyütme ile her biri 0.5 mm² olan 4 alanda sayılarak ortalamaları hesaplandı.



6.BULGULAR

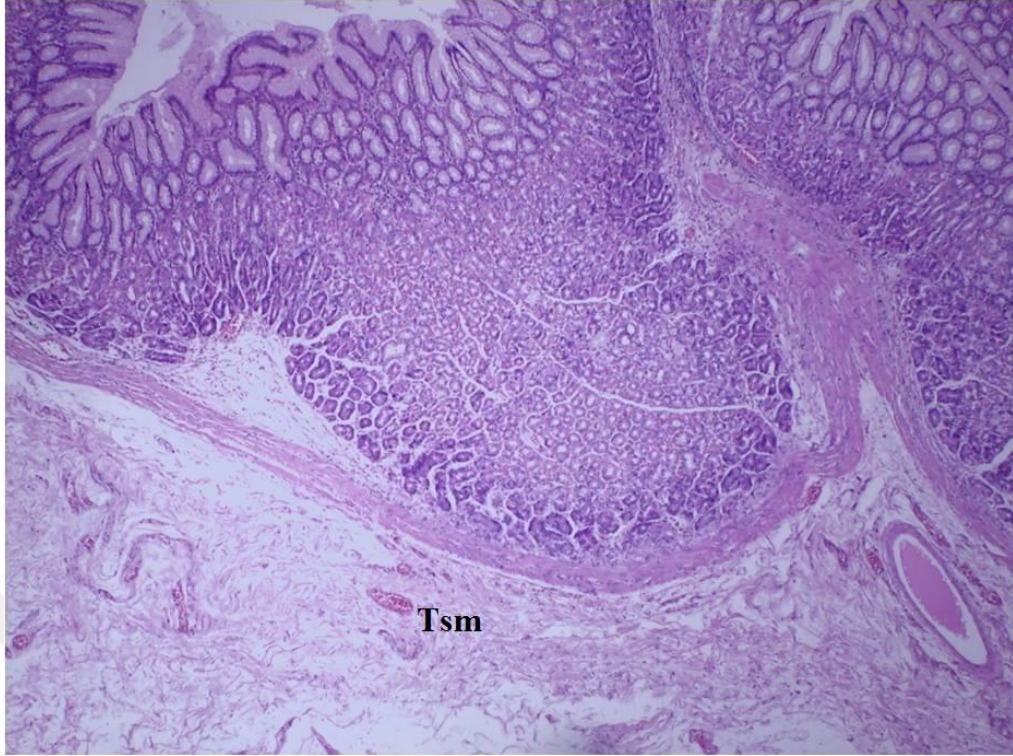
6.1 Hematoksilen Eozin Boyama Bulguları

Midenin antrum bölümüne ait genel yapısı H-E ile boyanmış kesitlerde ışık mikroskopik (Leica ICC 50 HD) olarak incelendi. Midenin içten dışa doğru t. mukoza, t. submukoza, t. muskularis ve t. seroza tabakalarından oluştuğu gözlemlendi (Şekil 9-13). T. mukoza tabakası incelendiğinde lamina epitelyalis, lamina propria ve lamina muskularis mukoza tabakaları izlendi (Şekil 9). Lamina propriada sıkıca yerleşmiş mide bezleri ve bezler arasında bağ dokusu izlendi (Şekil 9, 10, 14).

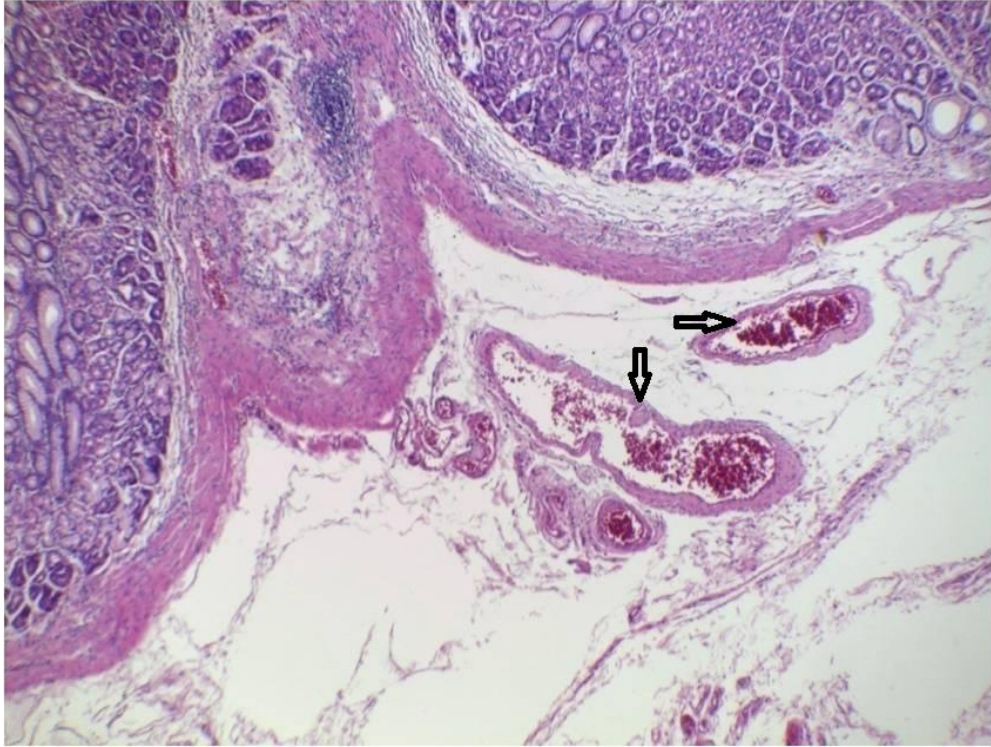


Şekil-9:Mide, T. mukozaya ait tabakalar; içten dışa doğru L.epitelyalis (Le), L. propriya (Lp), L. muskularis mukoza (Lmm) görülmektedir. H-E boyama; büyütme x40

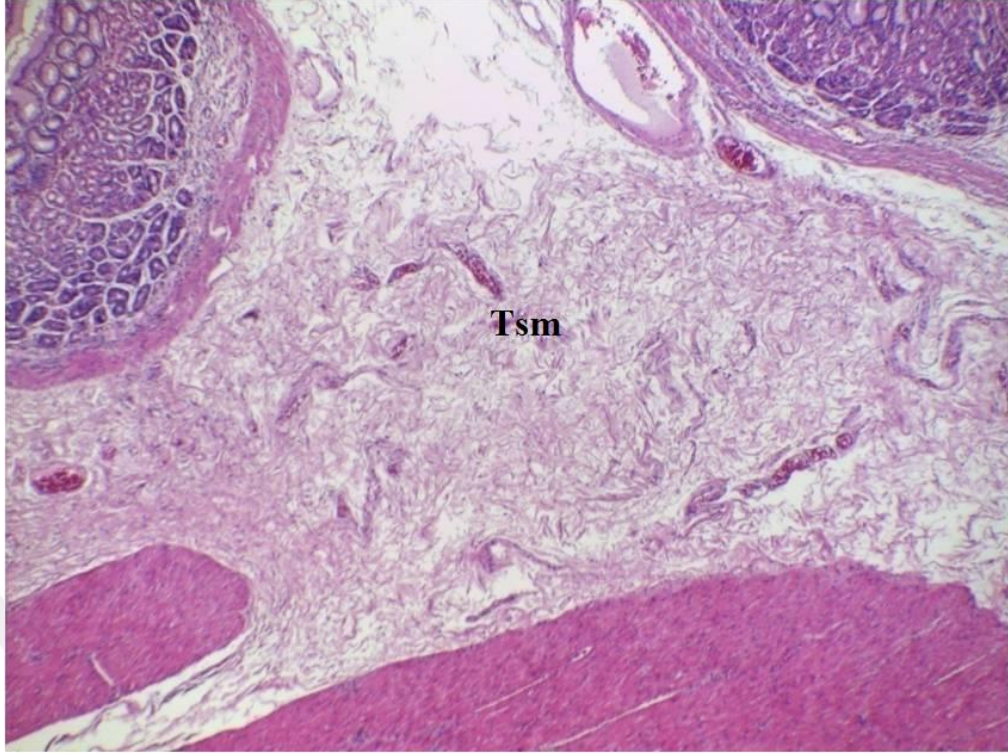
T. submukoza sıkı bağ dokusu olarak izlendi (Şekil 10). T. submukoza tabakasında geniş kan damarları gözlemlendi (Şekil 11).



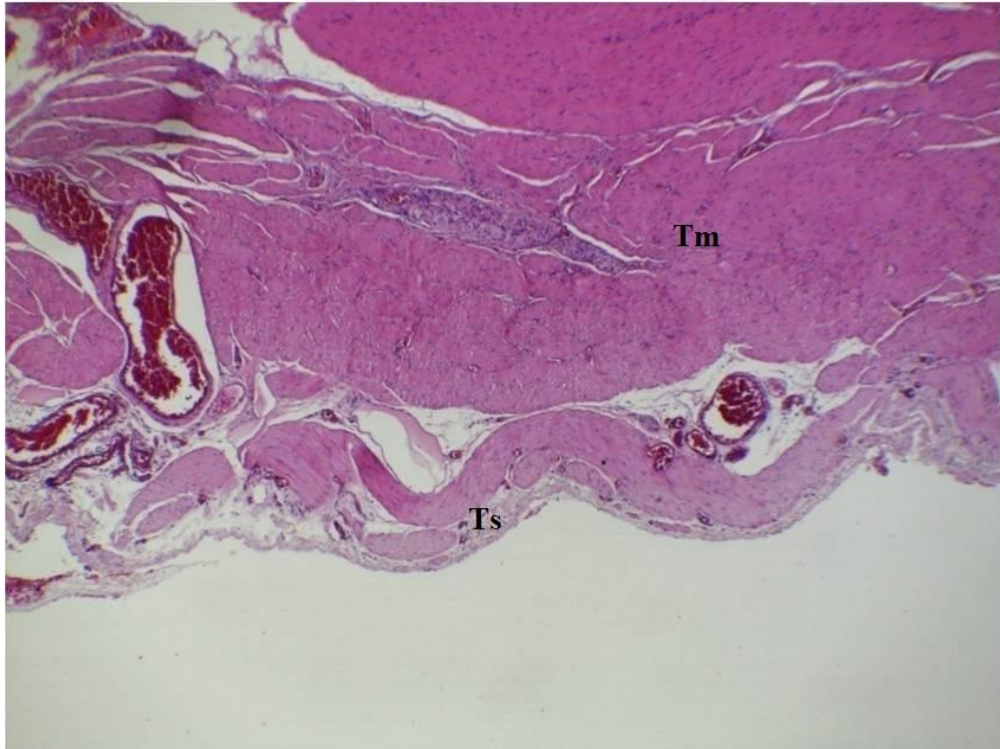
Şekil-10: Mide, T. submukoza (Tsm) alanı. H-E boyama; büyütme x40



Şekil-11: Mide, T. submukoza alanı içerisinde kan damarları (ok) görülmektedir. H-E boyama; büyütme x40

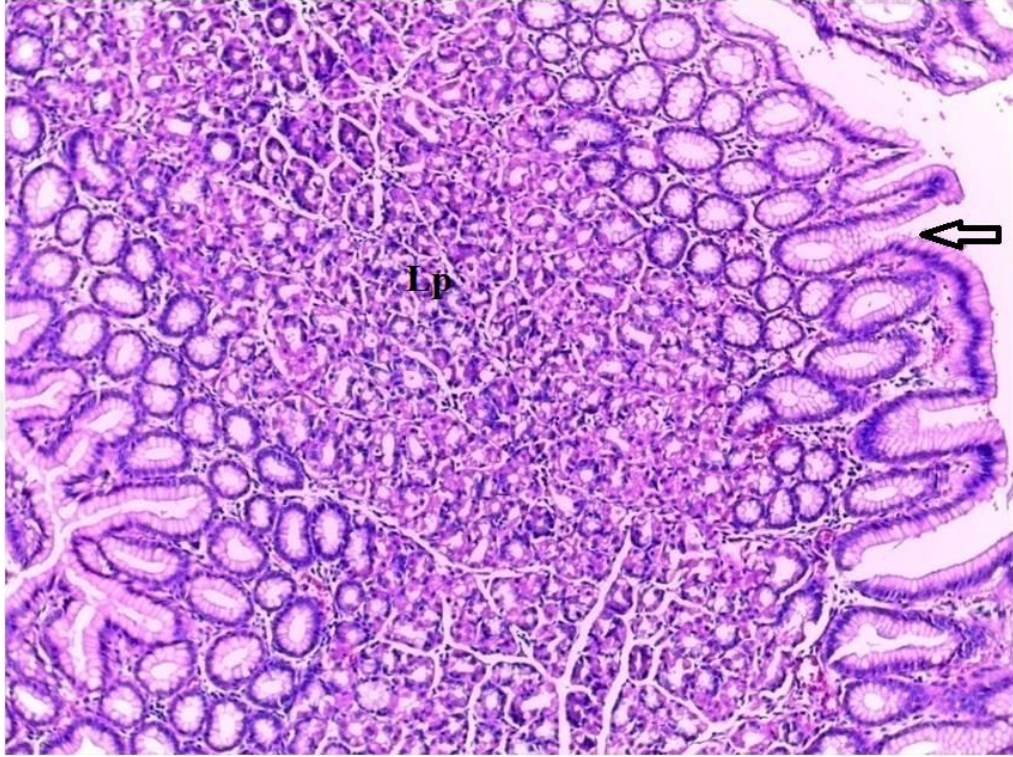


Şekil-12: Mide, mukoza ve muskularis tabakaları arasında submukozal tabakanın (Tsm) görünümü H-E boyama; büyüme x40

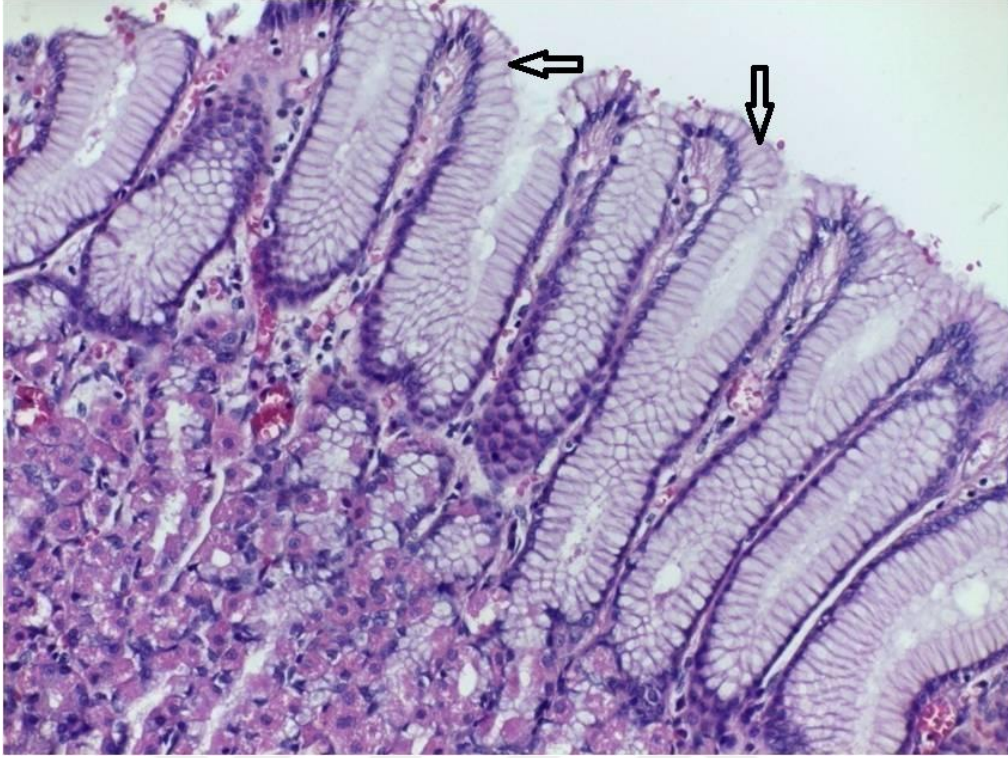


Şekil-13: Mide, muskularis tabakası (Tm) ve en dışta bulunan seroza tabakası (Ts) H-E boyama; büyüme x40

Lamina epitelyalisin yüzeyinde foveolalar izlendi (Şekil 14). Lamina epitelyalis tek katlı prizmatik epitelden oluşmaktaydı. Mide yüzeyini ve foveolaların içini yüzey mukus hücreleri döşemekteydi (Şekil 15).

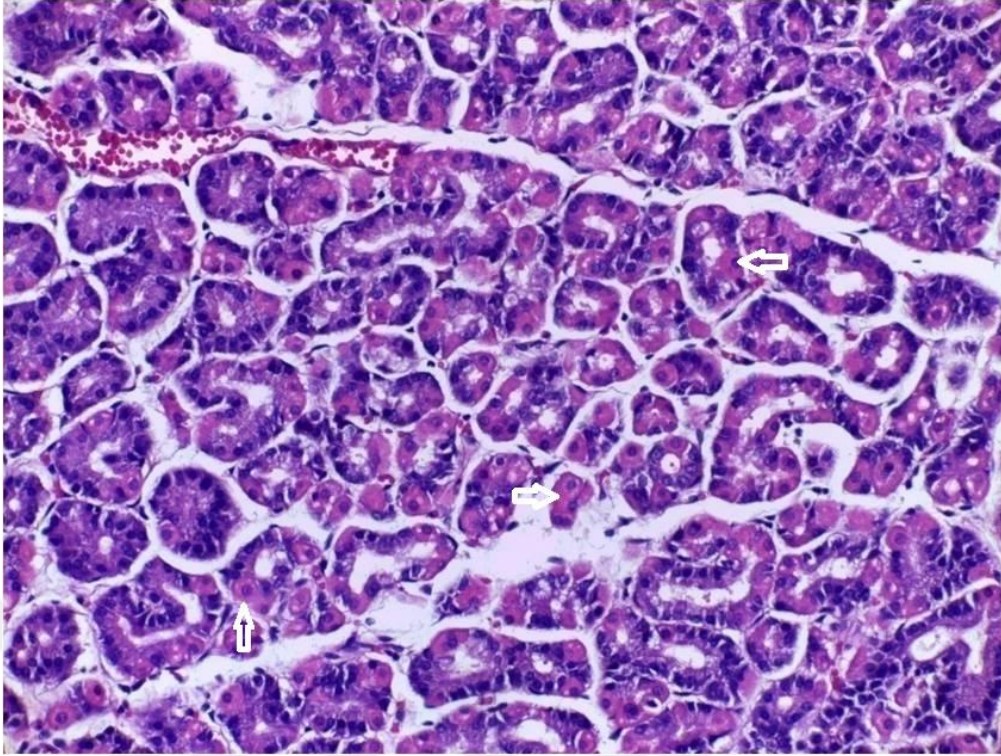


Şekil-14: Mide foveolaları (ok) ve yüzeyde yer alan mukus hücrelerinin, lamina propriada (Lp) bulunan mide bez yapısının enine kesit görüntüsü. H-E boyama; büyütme x100

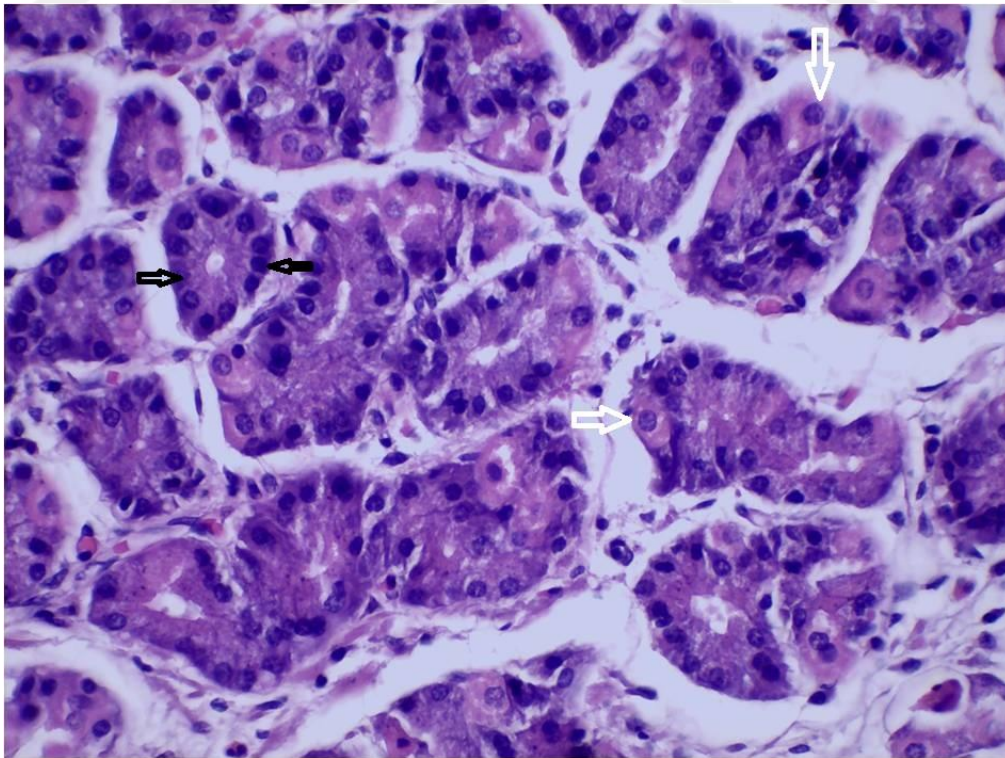


Şekil-15: Mide yüzey mukus hücrelerini oluşturan tek katlı prizmatik epitel yapısı (oklar) görülmektedir. H-E boyama; büyütme x200

Mide bezlerinin istmus bölgesinde boyun mukus hücreleri ve pariyetal hücreler izlendi. Bezlerin boyun bölgesinde pariyetal hücreler ağırlıklı olarak bulunmaktaydı (Şekil 16). Bezlerin taban bölgelerinde esas hücreler gözlendi (Şekil 16, 17).

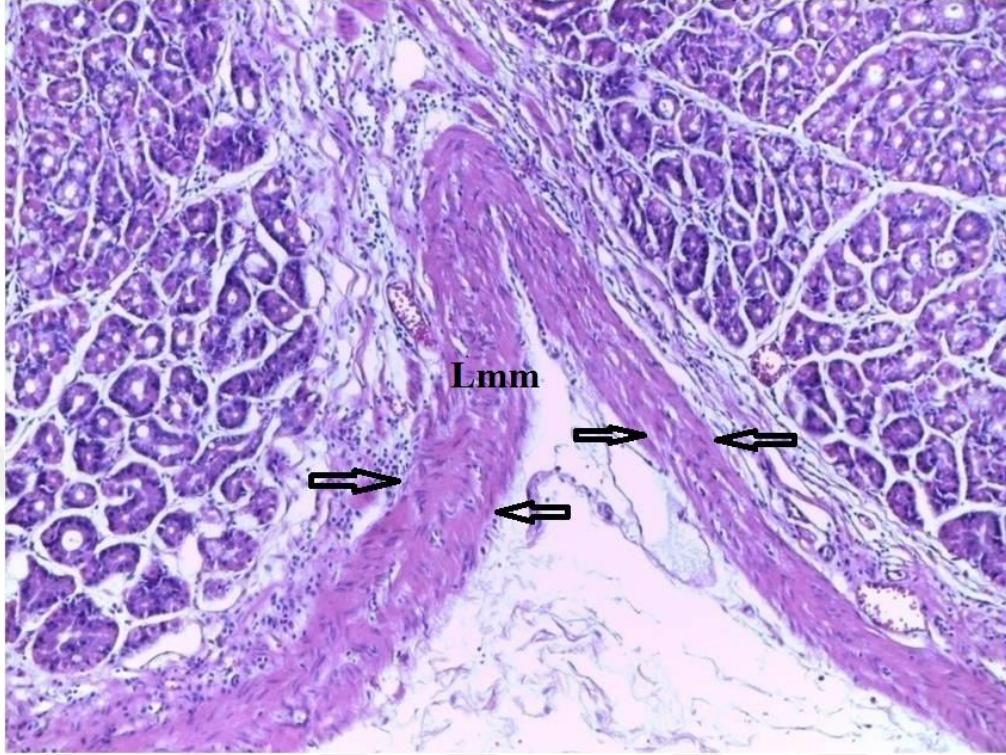


Şekil-16: Mide epiteline ait boyun mukus hücreleri ve aralarında sık yerleşmiş olarak gözlenen pariyetal hücreler (oklar) görülmektedir. H-E boyama; büyüme x200



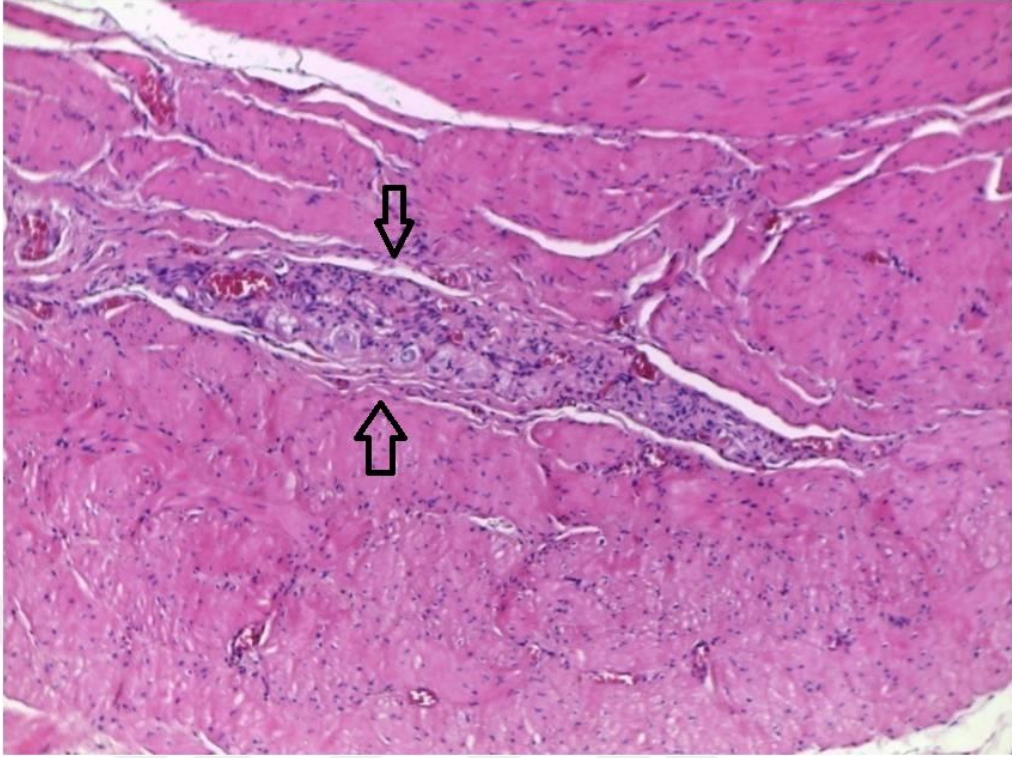
Şekil-17: Mide bezleri, taban kısmına yakın ağırlıklı olarak bulunan esas hücreler (siyah oklar) ve pariyetal hücreler (beyaz oklar) görülmektedir. H-E boyama, büyüme x400

Lamina proprianın altında iki tabaka olarak düzenlenmiş olan lamina muskularis mukoza izlendi (Şekil 18).



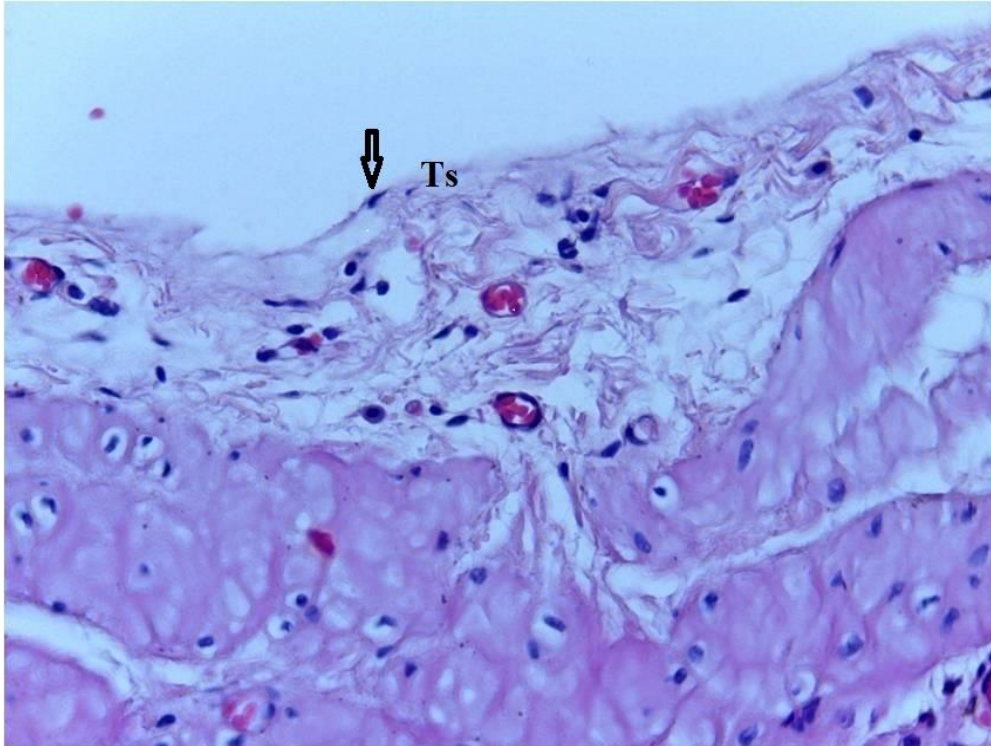
Şekil-18: Mide, epitel tabakasının en altında yer alan lamina muskularis mukoza (Lmm) tabakasına ait görünüm (oklar arası) H-E boyama; büyütme x100

T. muskularis oldukça kalın, değişik yönlerde seyreden üç tabaka olarak izlendi. Kas tabakaları arasında myenterik plexus mevcuttu (Şekil 19).



Şekil-19: T.muskularis tabakasına ait kas dizilimleri arasında yerleşen Myenterik (Auerbach) plexus (oklar arası) görülmektedir. H-E boyama; büyütme x40

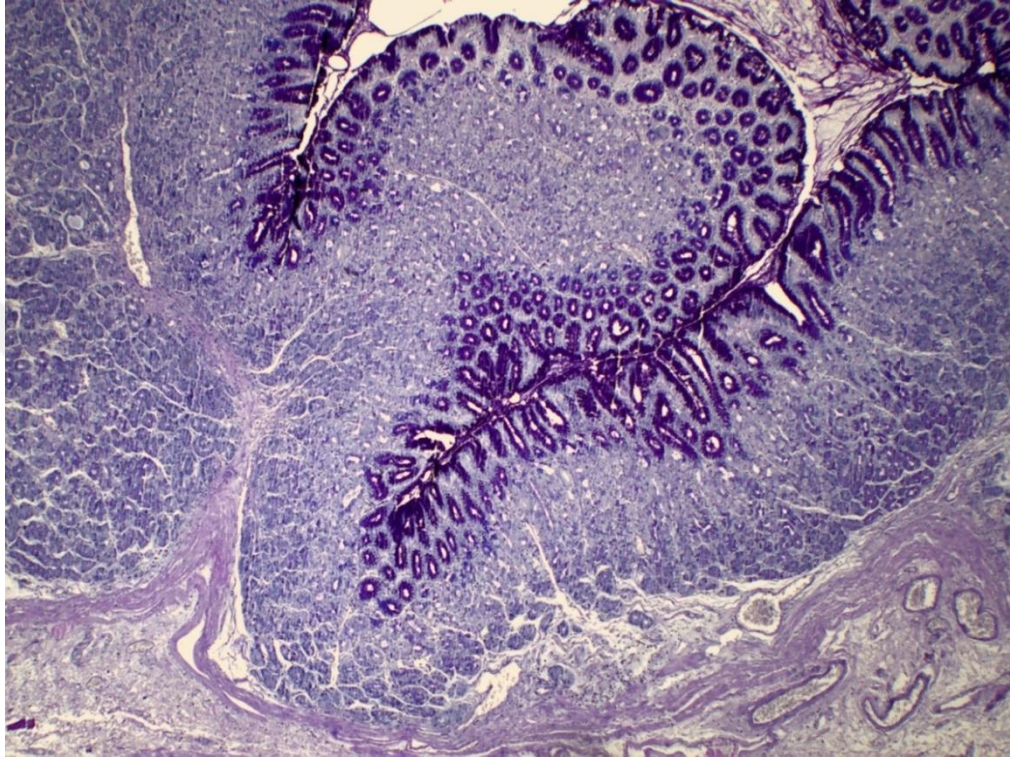
T. serozanın mezotel ve bağ dokusundan oluştuğu görüldü (Şekil 13, 20).



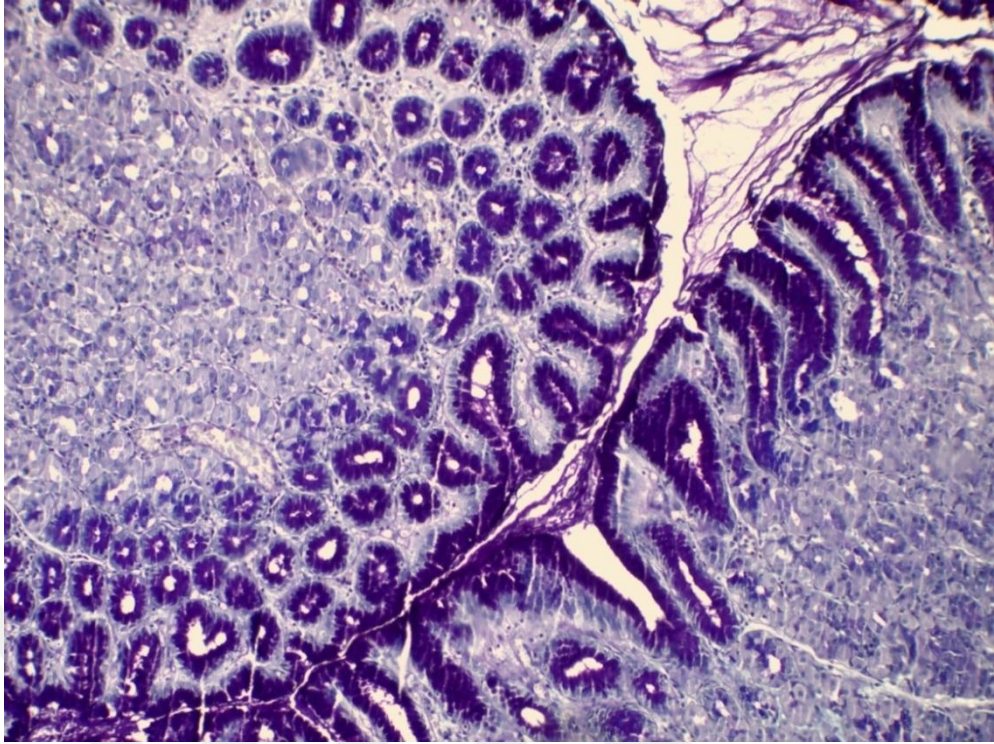
Şekil-20: T. seroza (Ts) tabakasına ait mezotel hücreleri (ok) ve bağ dokusu görülmektedir. H-E boyama; büyütme x400

6.2 PAS Boyama Bulguları

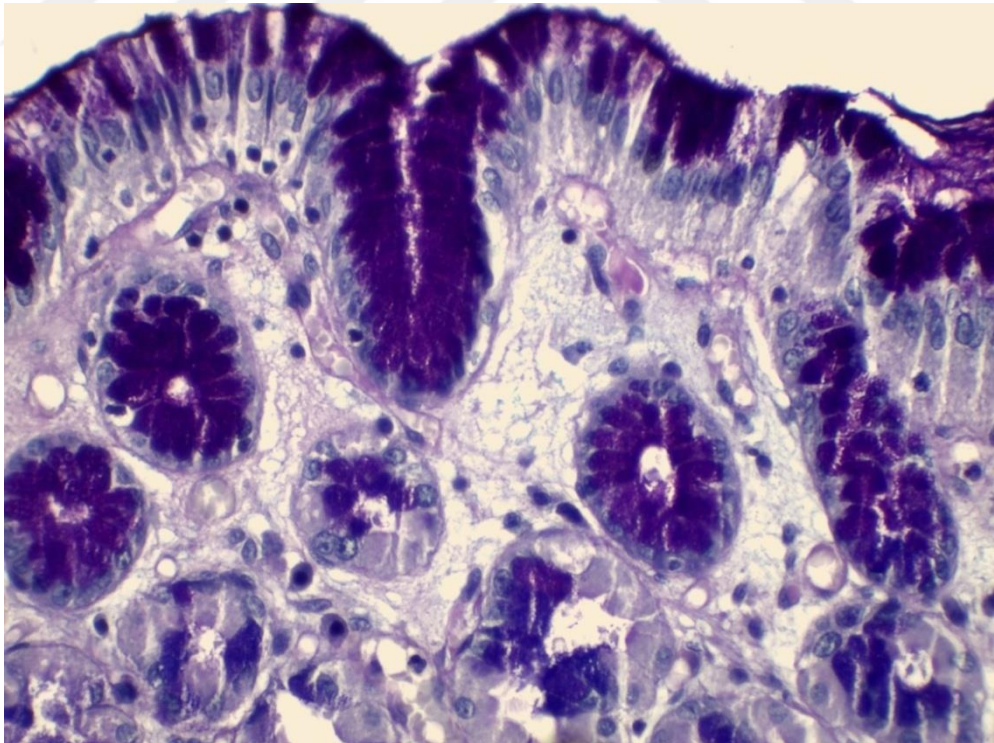
PAS boyaması ile mide antrum bölgesi yüzey mukus hücrelerinin salgı granüllerinin kuvvetli PAS (+) koyu pembe-mor renkli boyandığı izlendi. Bu hücreler yüzey epitelinde ve gastrik foveolalarda yerleşmişti (Şekil 21-23).



Şekil-21: Yüzey mukus ve boyun mukus hücrelerine ait histolojik kesit. PAS boyama büyütme x40



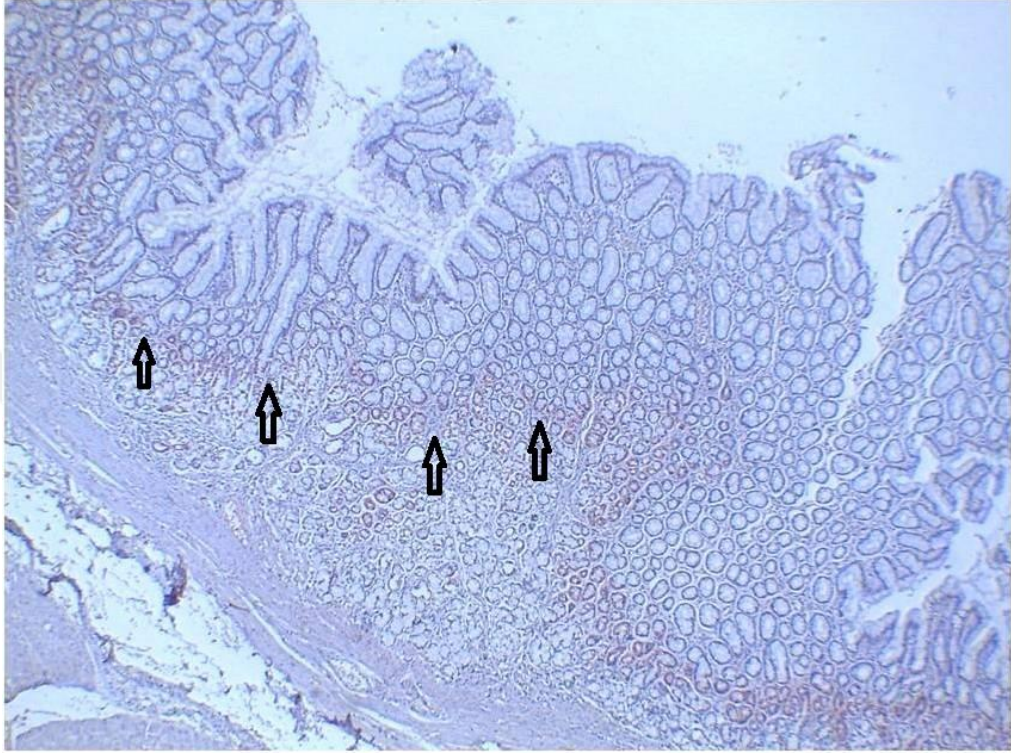
Şekil-22: Yüzey mukus ve boyun mukus hücrelerine ait histolojik kesit. PAS boyama; büyütme x100



Şekil-23: Yüzey mukus ve boyun mukus hücrelerine ait histolojik kesit. PAS boyama büyütme x400

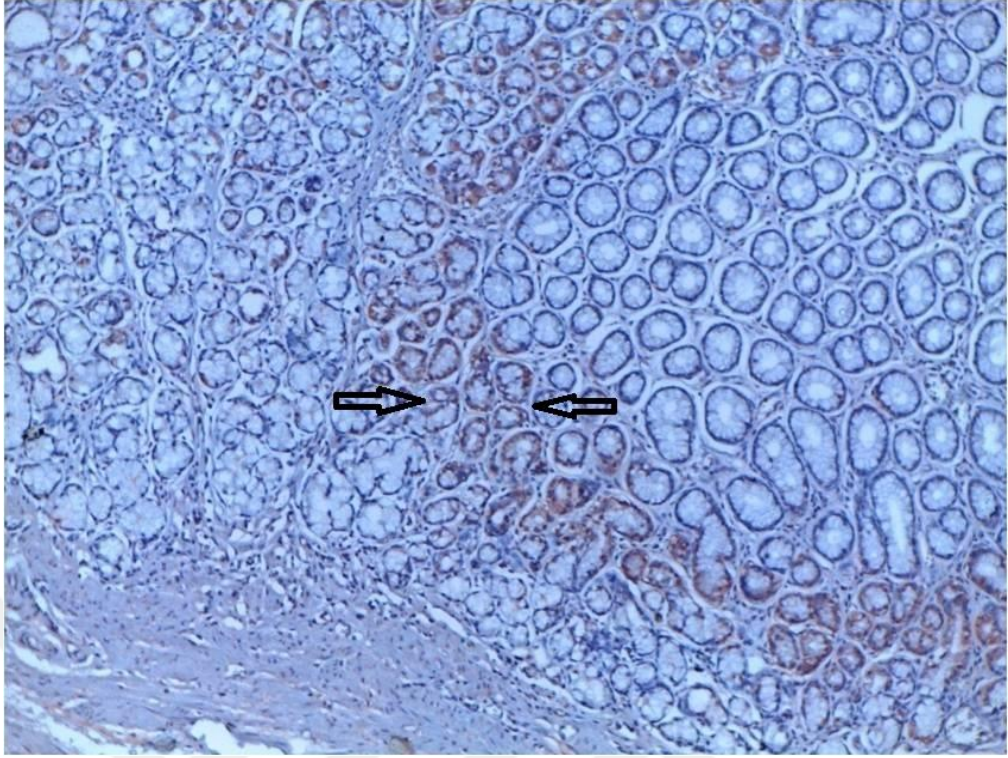
6.3 Antigastrin İmmünohistokimyasal Boyama Bulguları

İmmünohistokimyasal antigastrin boyama ile pozitif boyanan hücrelerin mide antrum bezlerinin boyun bölgelerinde yoğunlaştığı gözlemlendi (Şekil 24,25).

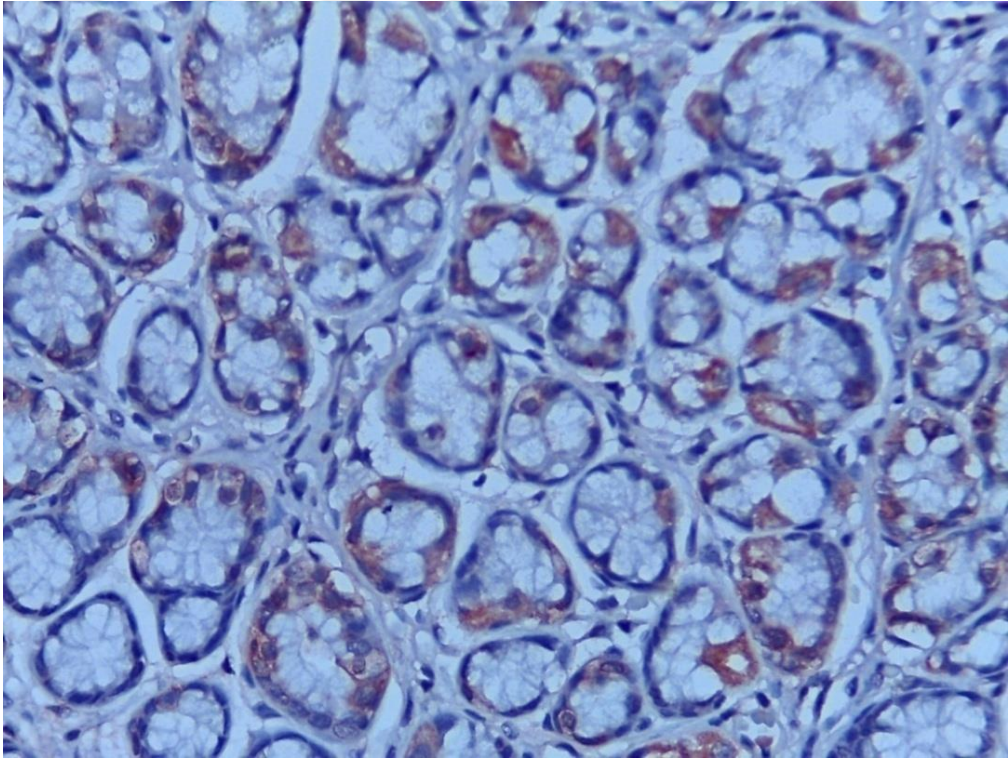


Şekil-24: Mide, lamina propria tabakası içerisinde bulunan gastrik bezlerin orta kısımlarında (boyun bölgesi) izlenen antigastrin immünreaktivitesi (oklar), (Büyütme x40)

Gastrin ifadesi değişik derecelerde izlendi. Hücrelerde (+) ile (+++) arasında değişen derecelerde boyanma görüldü (Şekil 26).

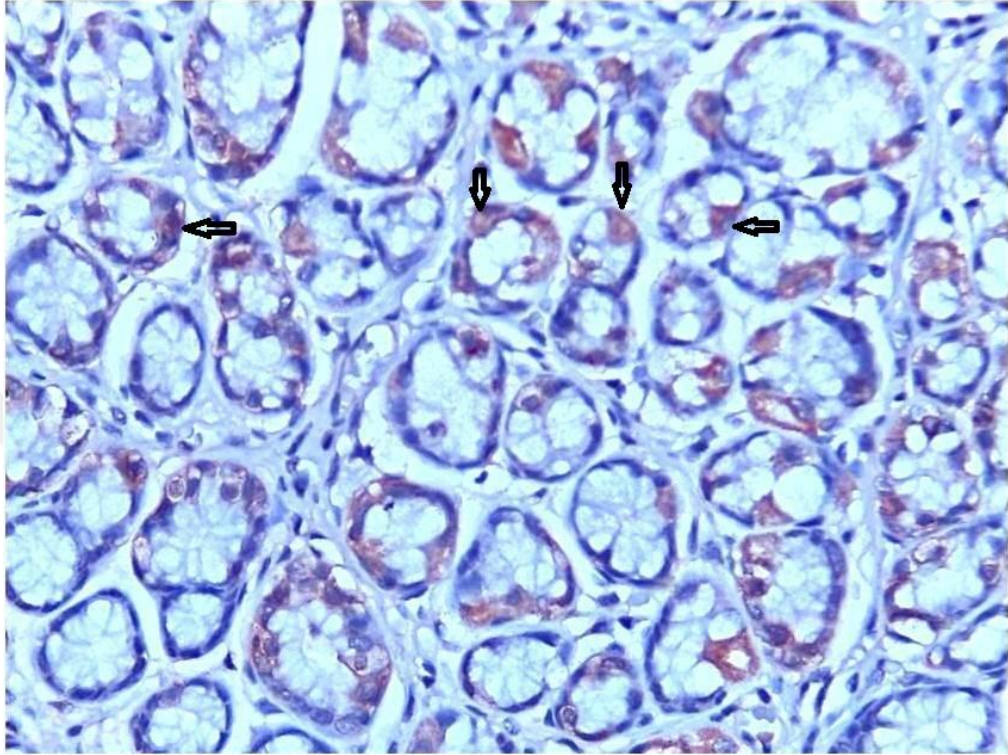


Şekil-25: Antigastrin immünreaktivitesi (kırmızı renkli) (Büyütme x100)



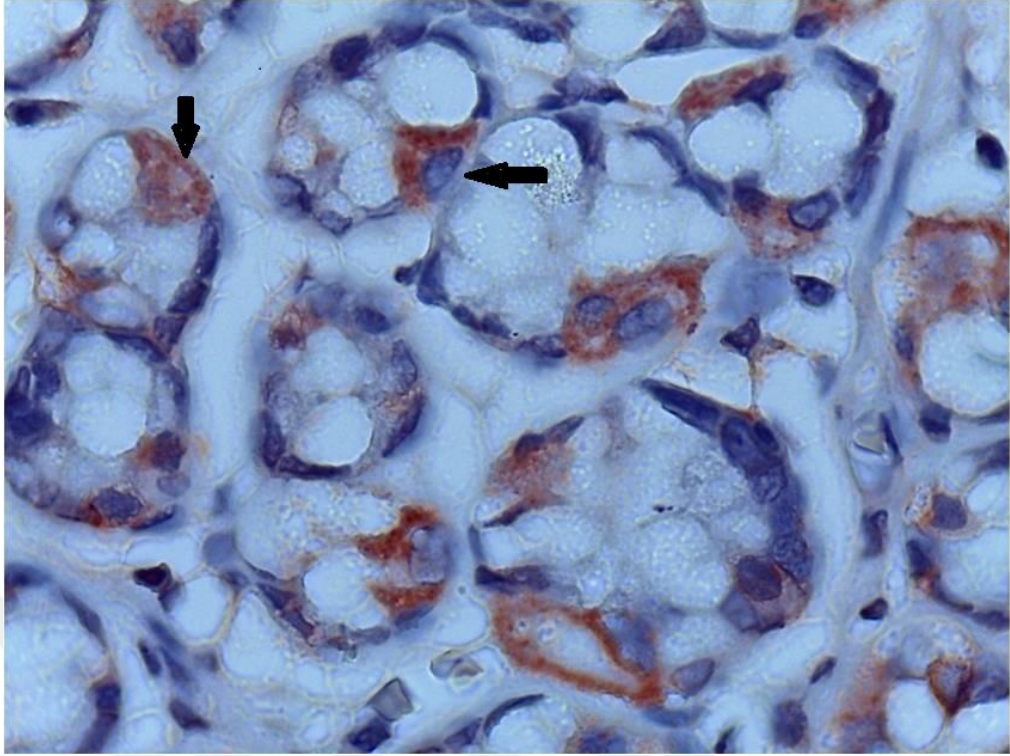
Şekil-26: Mide bez orta tabakası, değişen derecelerde antigastrin immünreaktivitesi (kırmızı renkli hücreler), (Büyütme x400)

Bezlerin enine kesitlerinde antigastrin pozitif olan hücreler, diğer hücrelerin arasında yerleşmiş piramidal şekilli sitoplazmalarında granüller içeren hücreler olarak izlendi (Şekil 26,27).



Şekil-27: G hücreleri antigastrin immünreaktivitesi ve bu hücelere ait piramidal şekilli (ok) granüllü hücre yapısı (Büyütme x400)

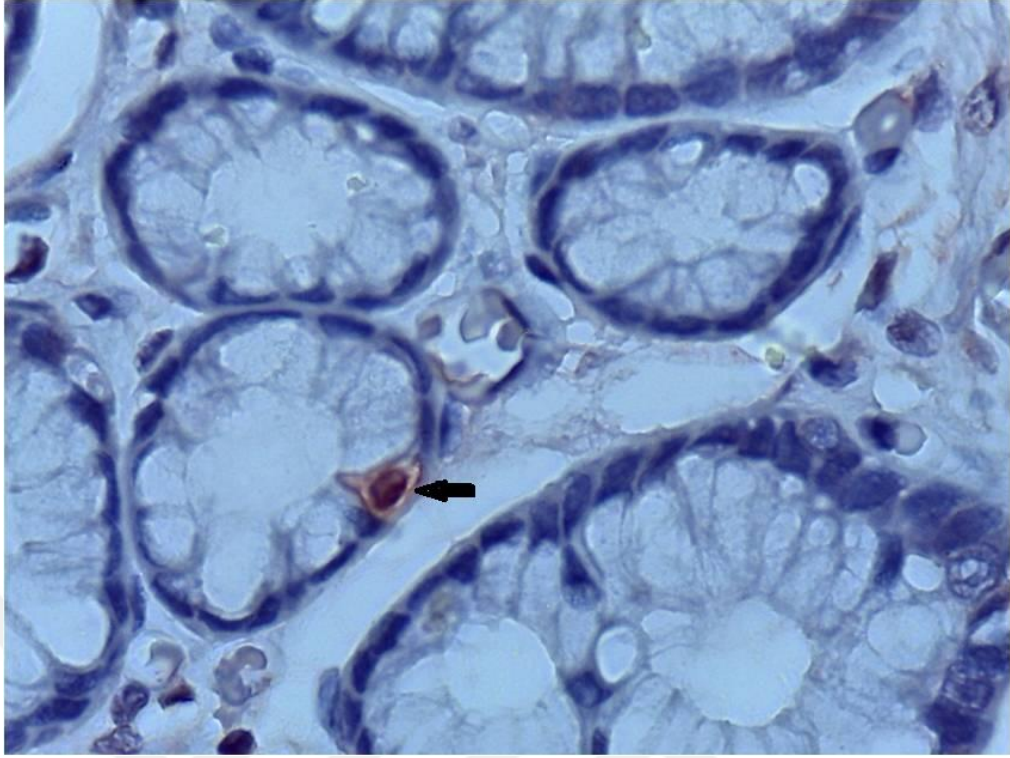
Antigastrin pozitif boyanan hücreler büyük büyütmelerde incelendiğinde bazı hücrelerde granüllerin bütün sitoplazmaya dağıldığı bazı hücrelerde hücrelerin bazal bölgelerinde toplandığı gözlemlendi (Şekil 26, 27, 28).



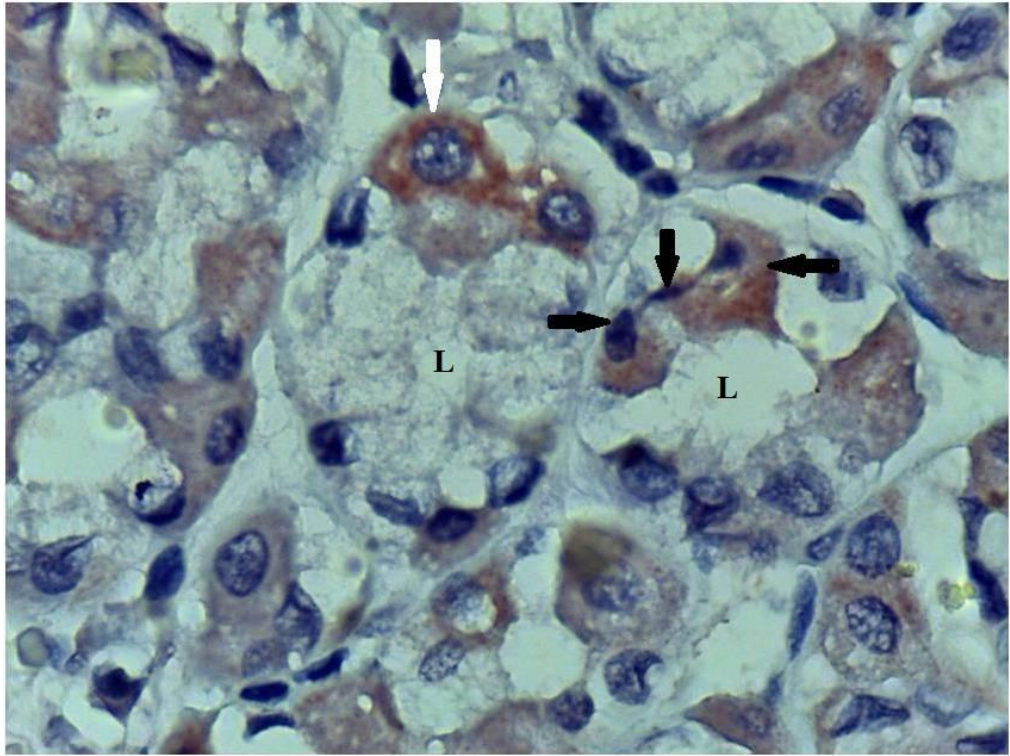
Şekil-28: Antigastrin immünreaktif endokrin hücre ve granüler yapısı (Büyütme x1000)

G hücrelerinin lümene ulaşanları geniş tabanları ve mukozaya uzanan dar baş kısımlarıyla konik şekilde izlendi (Şekil 29-33).

Hücrelerin büyük kısmı özellikle bezlerin bazalinde yerleşmiş olanlar kapalı tip enteroendokrin hücre görünümünde izlenirken bazı hücrelerin ise lümene ulaştığı gözlemlendi (Şekil 29-34). Hücrelerin çoğu kapalı tipteydi ve bir lümen bağlantısı yoktu.

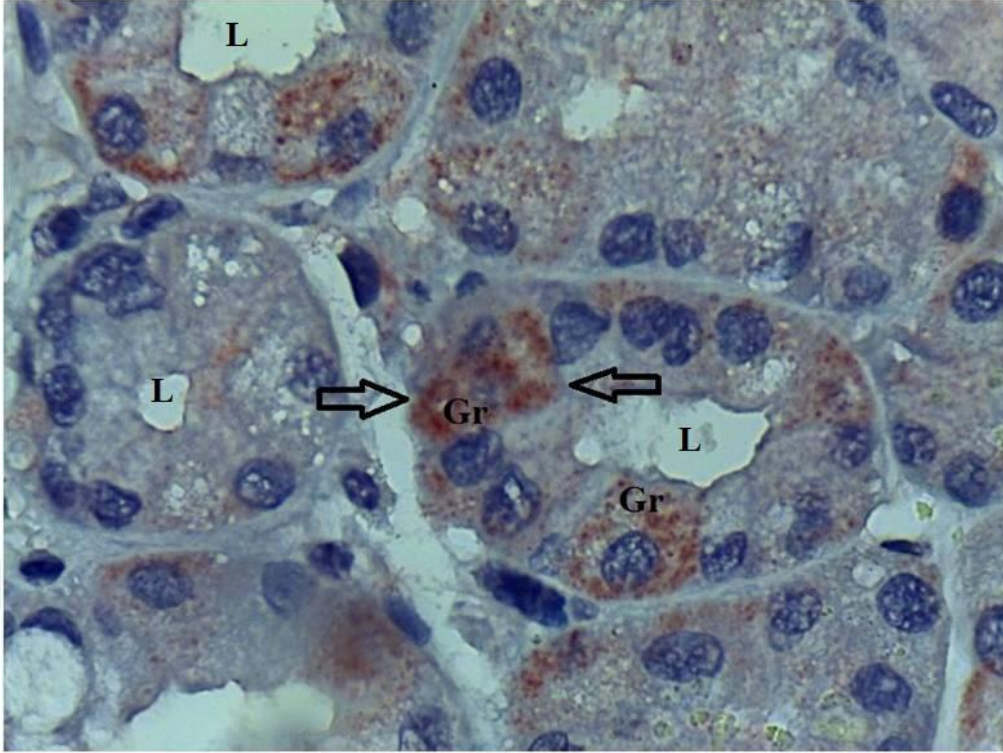


Şekil-29: Mide, antigastrin immünreaktivitesi gösteren lümene açılan açık tip enteroendokrin hücre (ok) (Büyütme x1000)

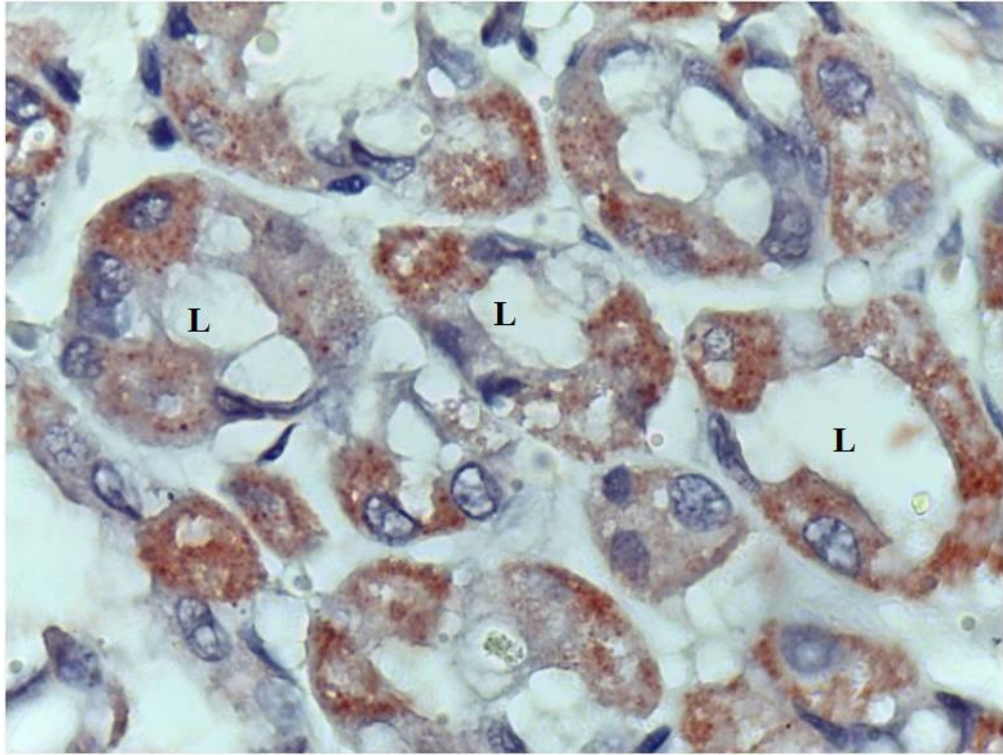


Şekil-30: Mide, antigastrin immünreaktivitesi gözlenen lümene (L) açılan açık tip (siyah oklar) lümene ulaşmayan kapalı tip (beyaz ok) hücreler (Büyütme x1000)

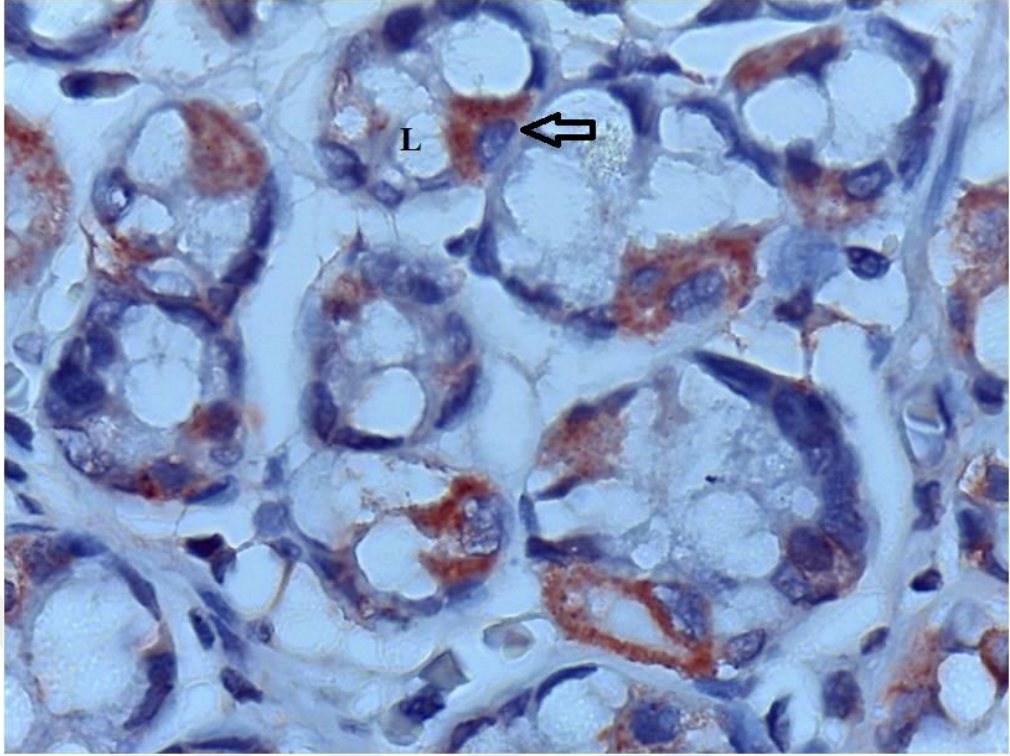
Hücrelerin çoğunda granüller sitoplazmada dağınık halde gözlemlendi (Şekil 31,32).



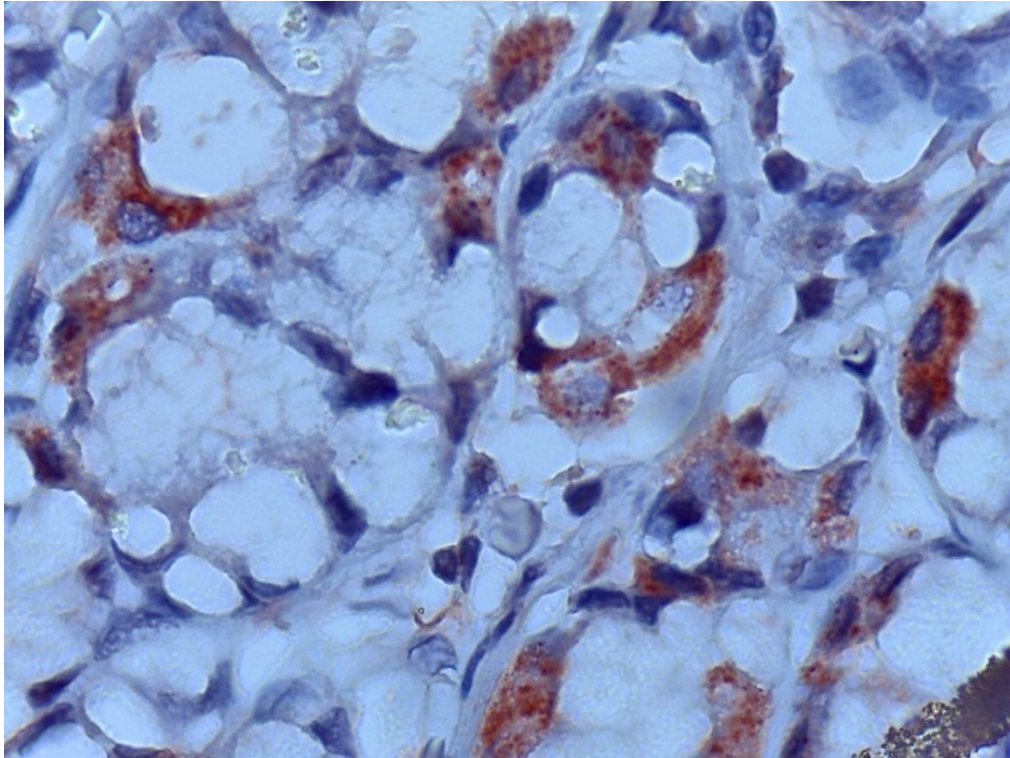
Şekil-31: Antigastrin immünreaktivitesi gözlenen hücrelerde granül yapısı, lümen (L), (Büyütme x1000)



Şekil-32: Antigastrin immünreaktivitesi gösteren hücrelerin sitoplazmaya dağılmış kırmızı renkli granül yapısı, lümen (L) (Büyütme x1000)

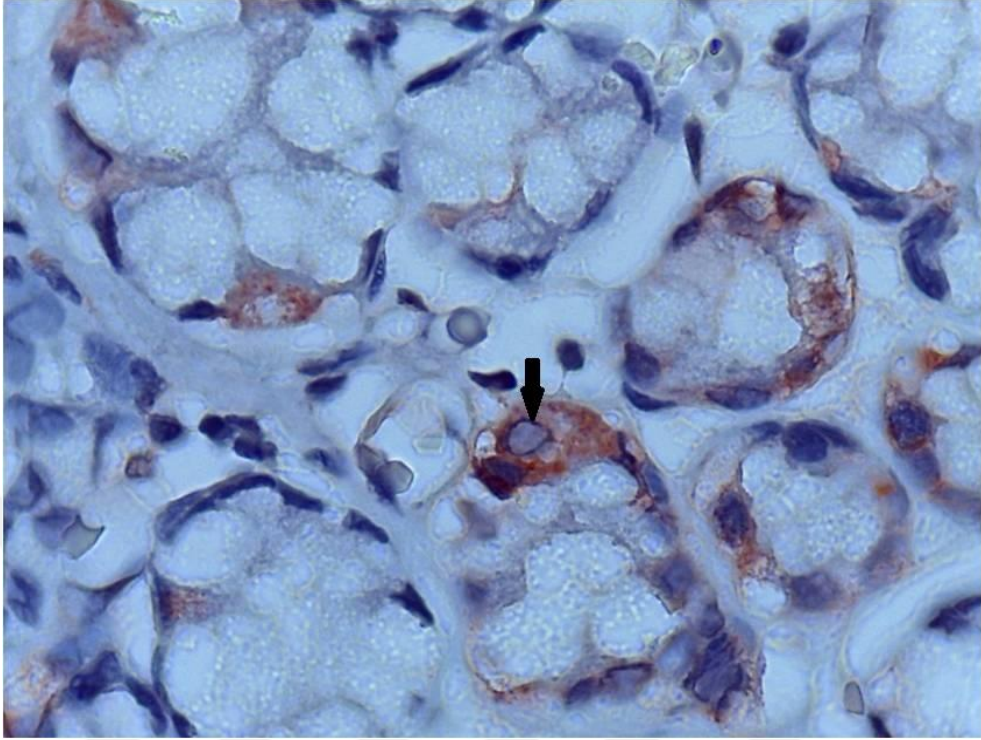


Şekil-33: Lümen (L) ulaşan, açık tip, konik şekilli G hücresi (ok) (Büyütme x1000)

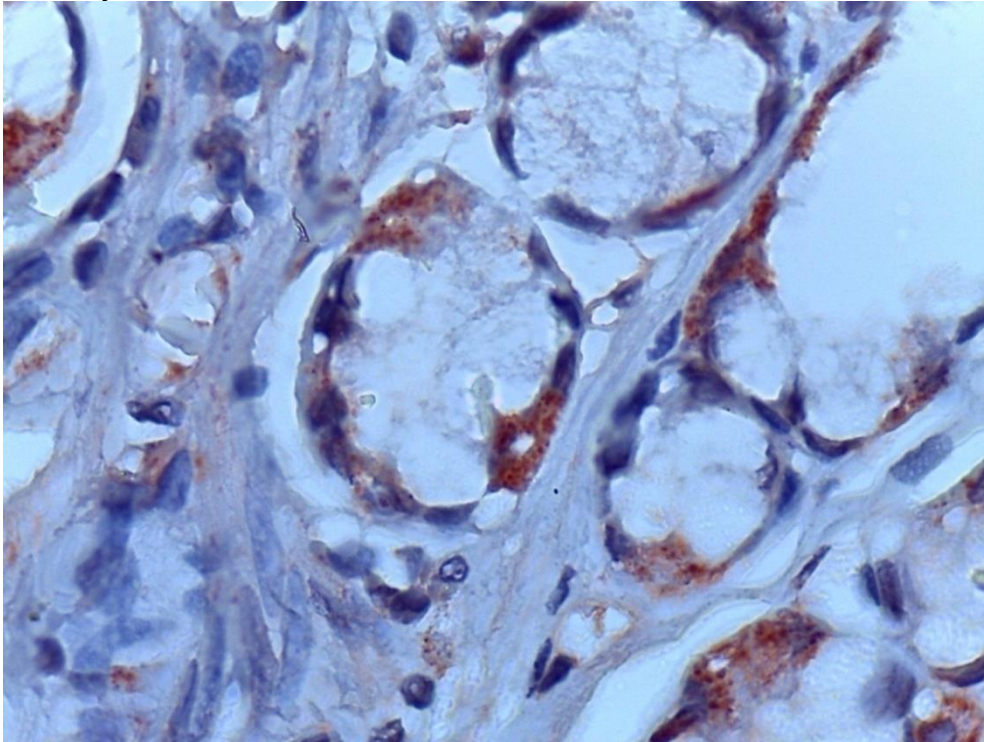


Şekil-34: Antigastrin immünreaktif hücrelerin çekirdekleri etrafında dağılmış olarak gözlenen gastrin granülleri (Büyütme x1000)

Hücrelerin genellikle yuvarlak, merkezi veya hafif bazale itilmiş çekirdekleri vardı (Şekil 35, 36).

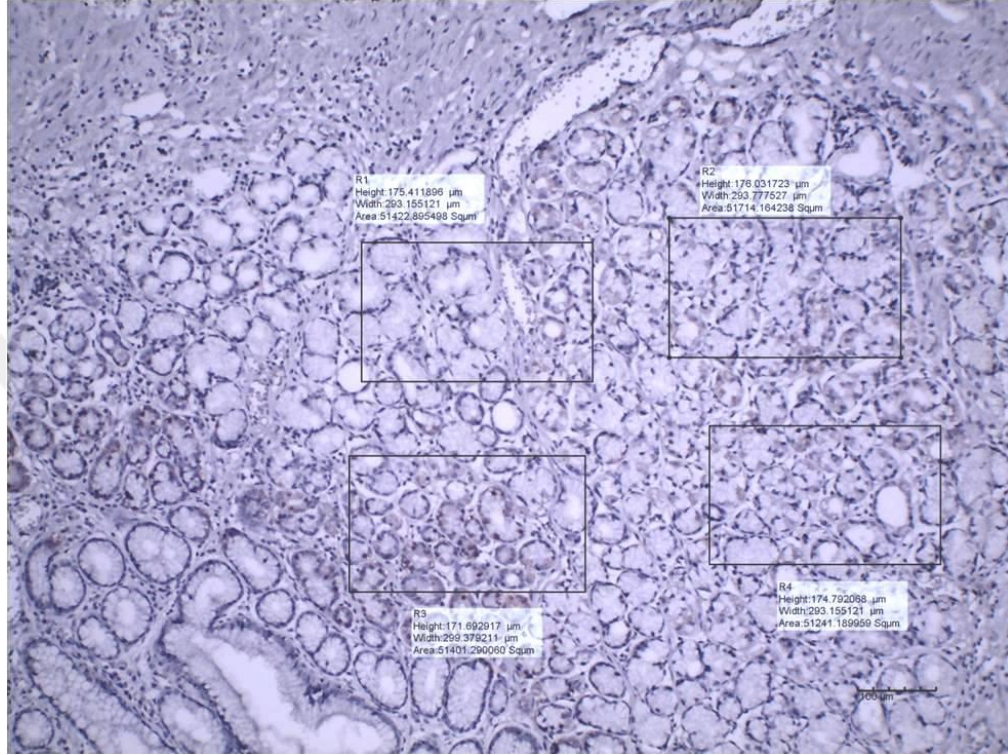


Şekil-35: Antigastrin immünreaktif hücrelerin yuvarlak, merkezi yerleşimli çekirdekleri (Büyütme x1000)



Şekil-36: G hücrelerine ait hücre granülleri ve çekirdek yapısı (Büyütme x1000)

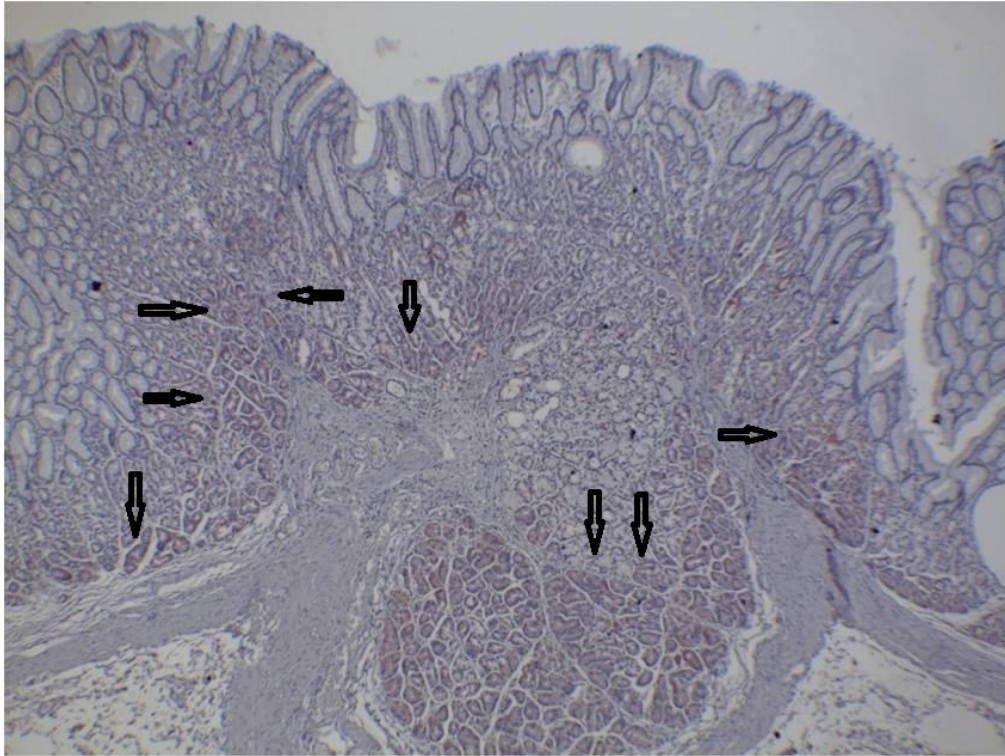
Işık mikroskobu ile immünohistokimyasal olarak tespit edilen G hücreleri, 100x (10x lens 10x mercek) büyütme ile her biri 0.5 mm² olan 4 alanda sayıldı ve ortalaması alındı. Buna göre gastrin G hücrelerinin 0.5 mm² deki ortalama değeri 21.6±15.9 olarak tespit edildi (Şekil 37).



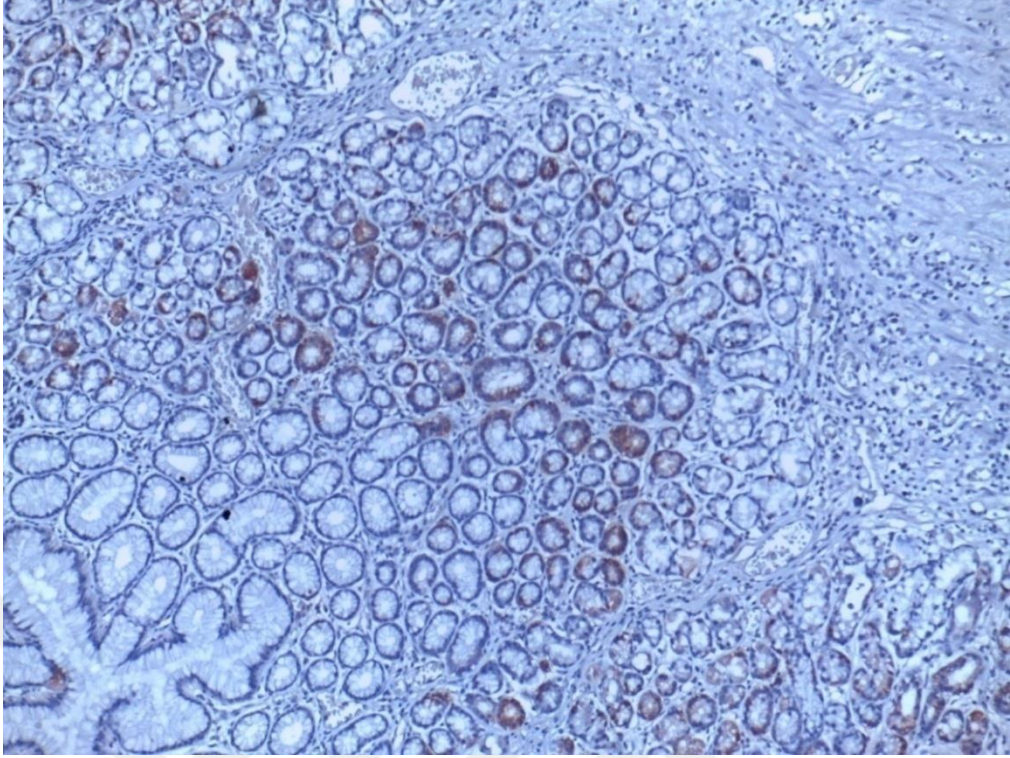
Şekil-37: G hücrelerinin dört bölgede her biri 0.5 mm² de hesaplanan ortalama sayıları

6.4 Antisomatostatin İmmünohistokimyasal Boyama Bulguları

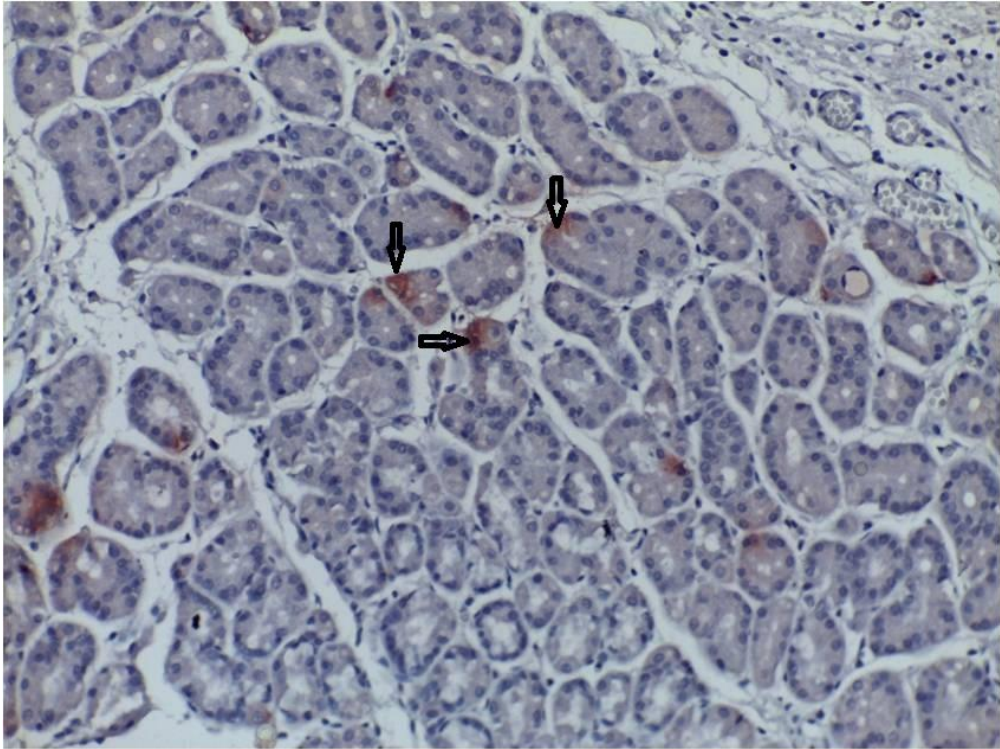
Antisomatostatin pozitif hücreler bez epiteli arasına dağılmış olup kuvvetli boyanma gösterdiler. Mide antrum mukozasının antisomatostatin immünohistokimyasal boyama sonucunda D hücrelerinin granüllerinin pozitif boyandığı görüldü. Antisomatostatin immünboya ile boyanan hücreler bezlerin boyun ve taban bölgelerinde izlendi (Şekil 38, 39, 40).



Şekil-38: Bezlerin boyun ve taban kısmına yayılmış somatostatin immünreaktif hücreler (Büyütme x40)

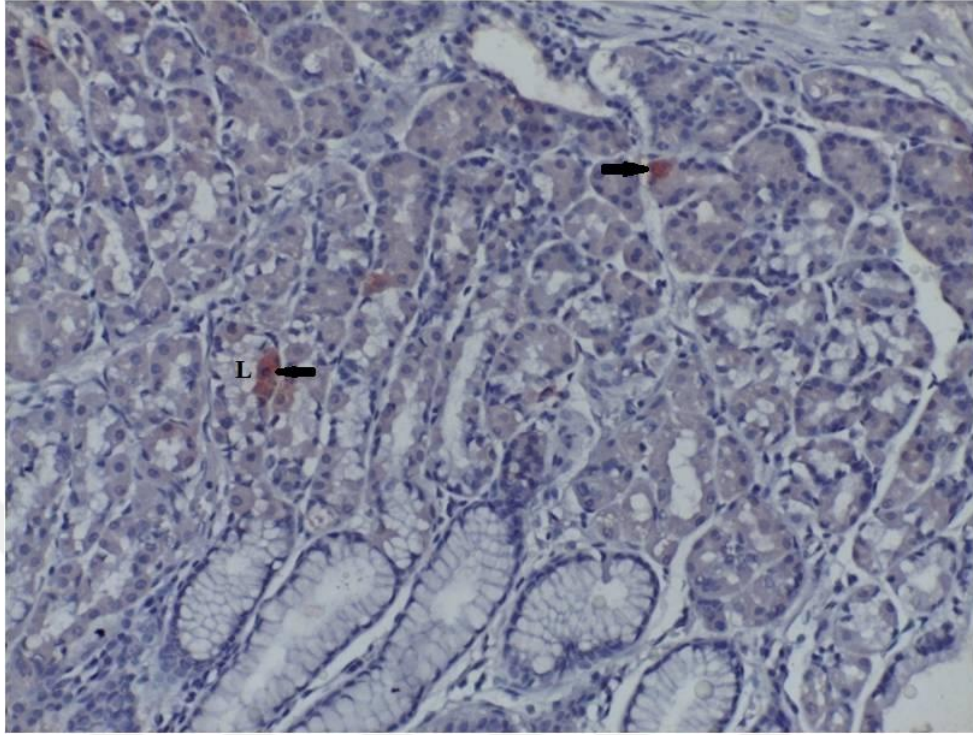


Şekil-39: Antisomatostatin immünreaktivitesi gösteren kırmızı renkli boyanmış D hücreleri (Büyütme x100)

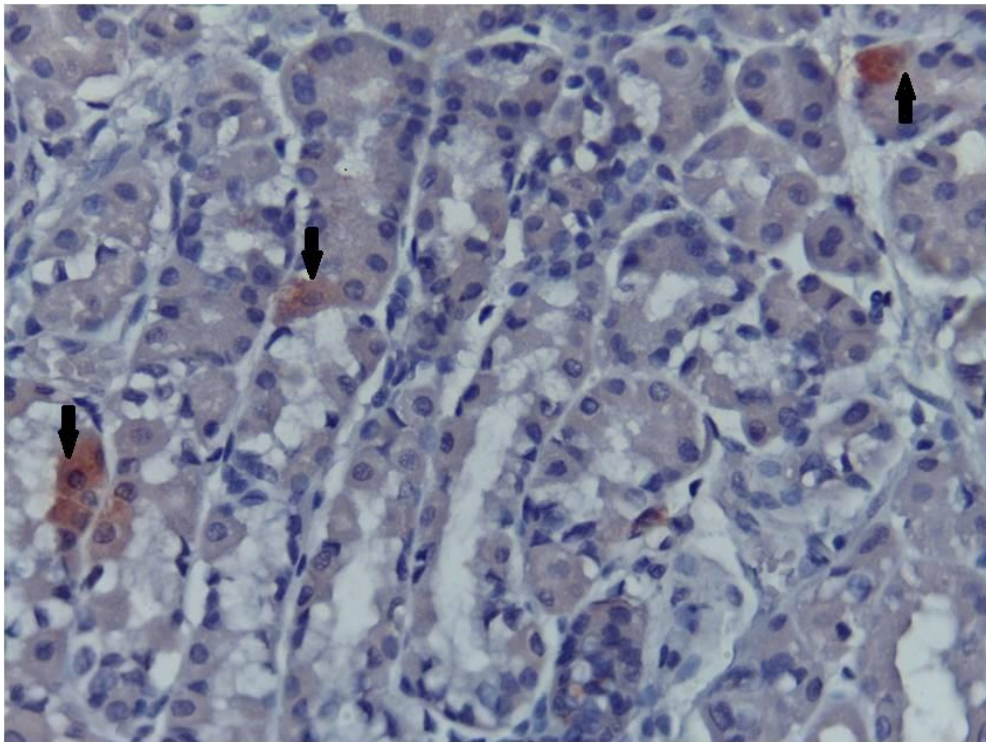


Şekil-40: Bezler arasında boyanmış seyrek D hücreleri (oklar), somatostatin immünreaktivitesi (Büyütme x200)

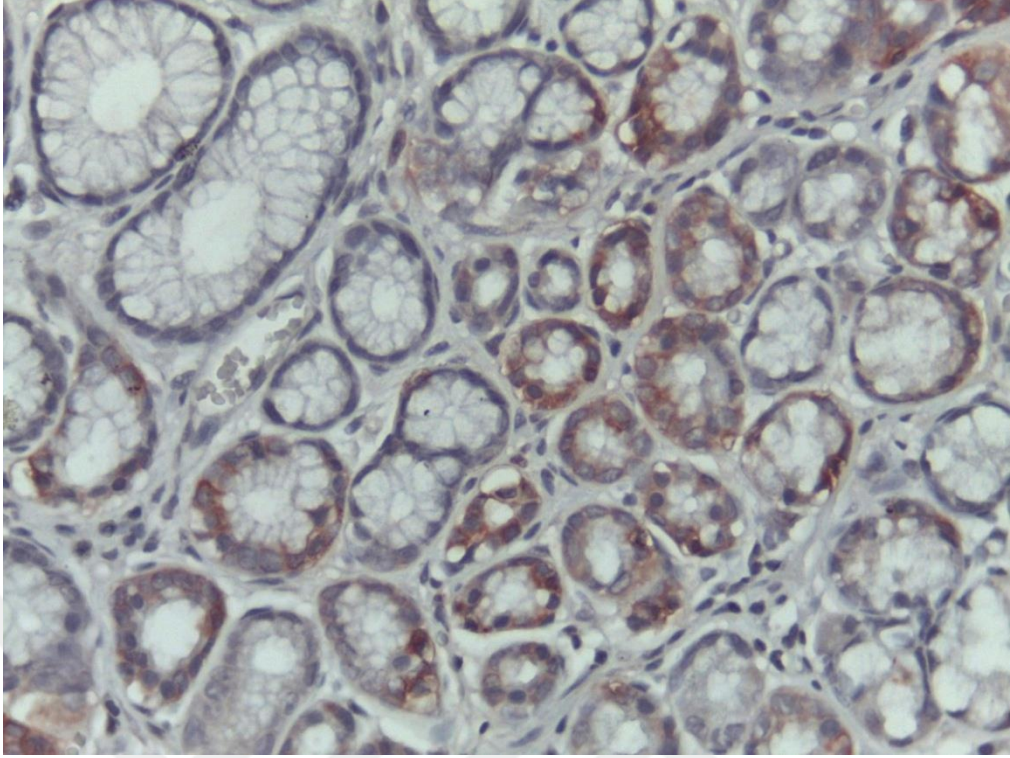
İmmünreaktif hücrelerin yuvarlak, eliptik ya da piramidal değişik şekillerde olduğu izlendi (Şekil 41, 42, 43).



Şekil-41: İmmünboyama ile farklı şekillerde tespit edilmiş D hücreleri (ok) (Büyütme x200)



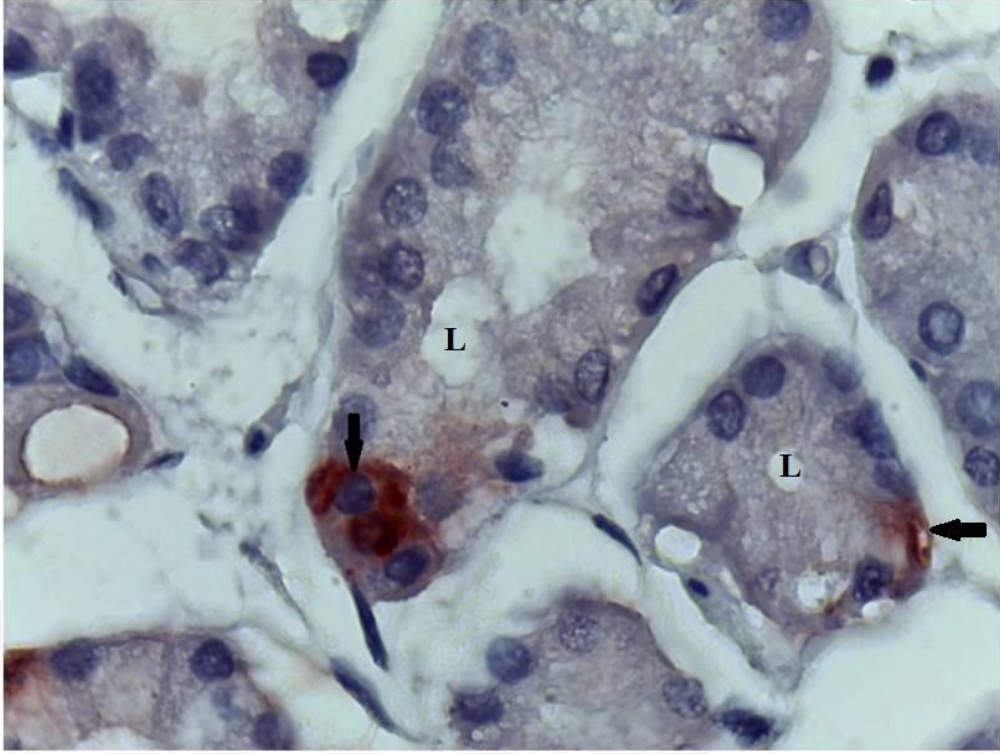
Şekil-42: Yuvarlak çekirdekli D hücreleri (ok) (Büyütme x400)



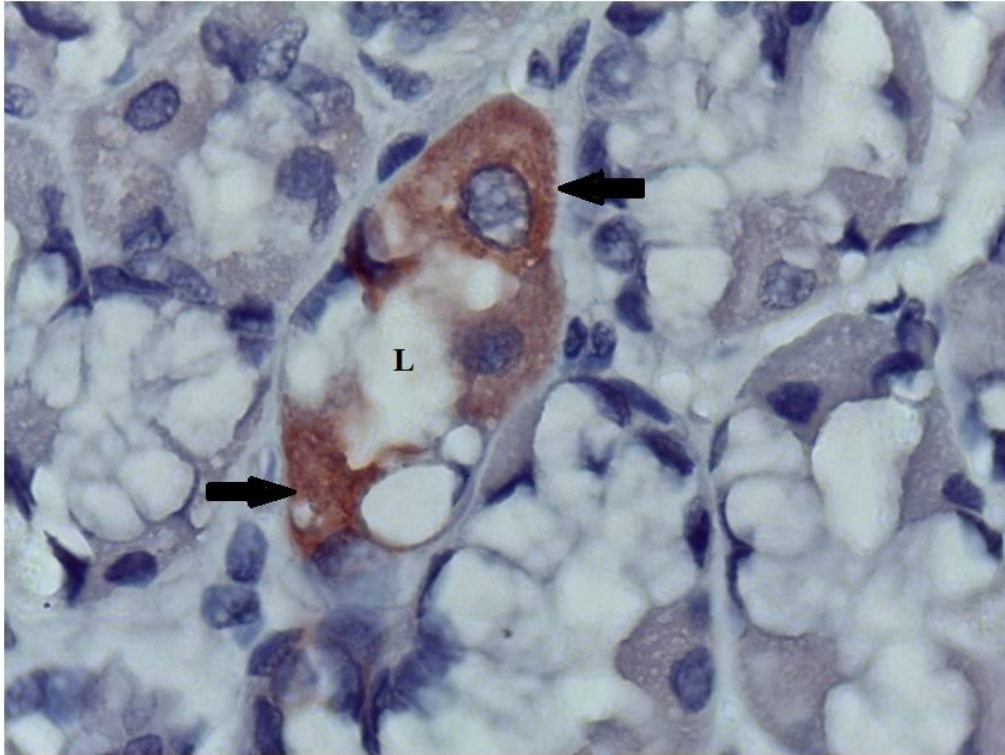
Şekil-43: Bez epiteli arasına dağılmış D hücreleri (Büyütme x400)

Çekirdekleri hücre gövdesinin orta bölümünde ve yuvarlak bir yapı gösteriyordu (Şekil 44-48). Bu hücrelerin bir kısmının açık tip, bir kısmının ise kapalı tipte olduğu izlendi (Şekil 44-48).

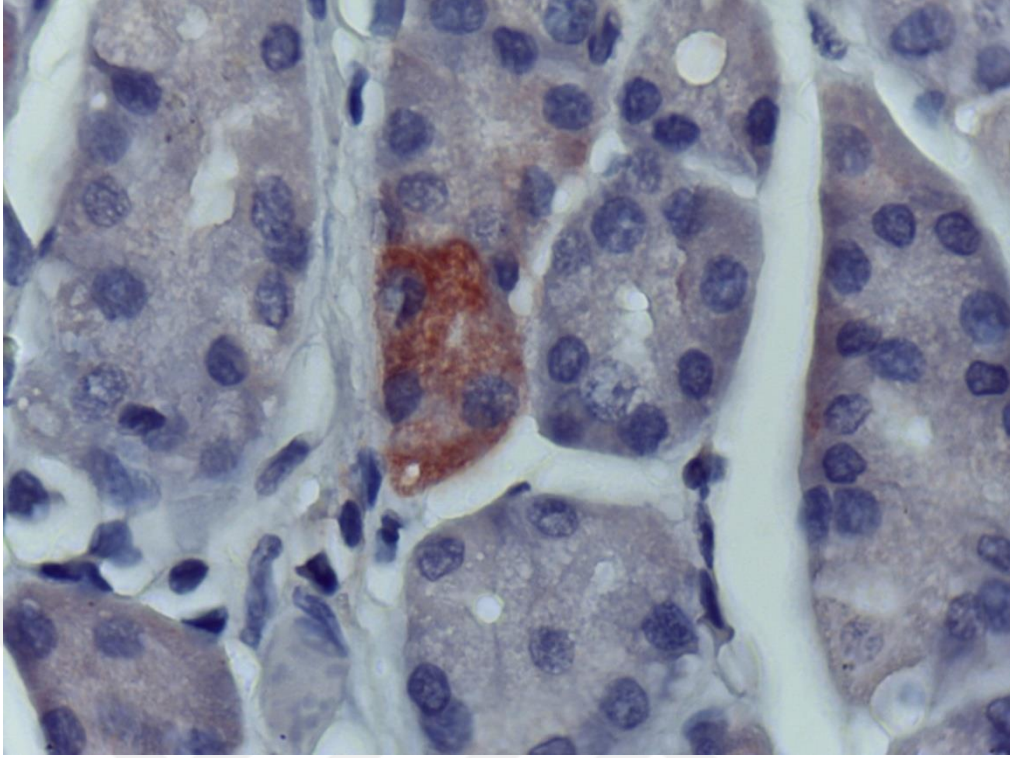
İncelenen kesitlerde D hücrelerinin G hücrelerine göre daha seyrek olduğu izlendi.



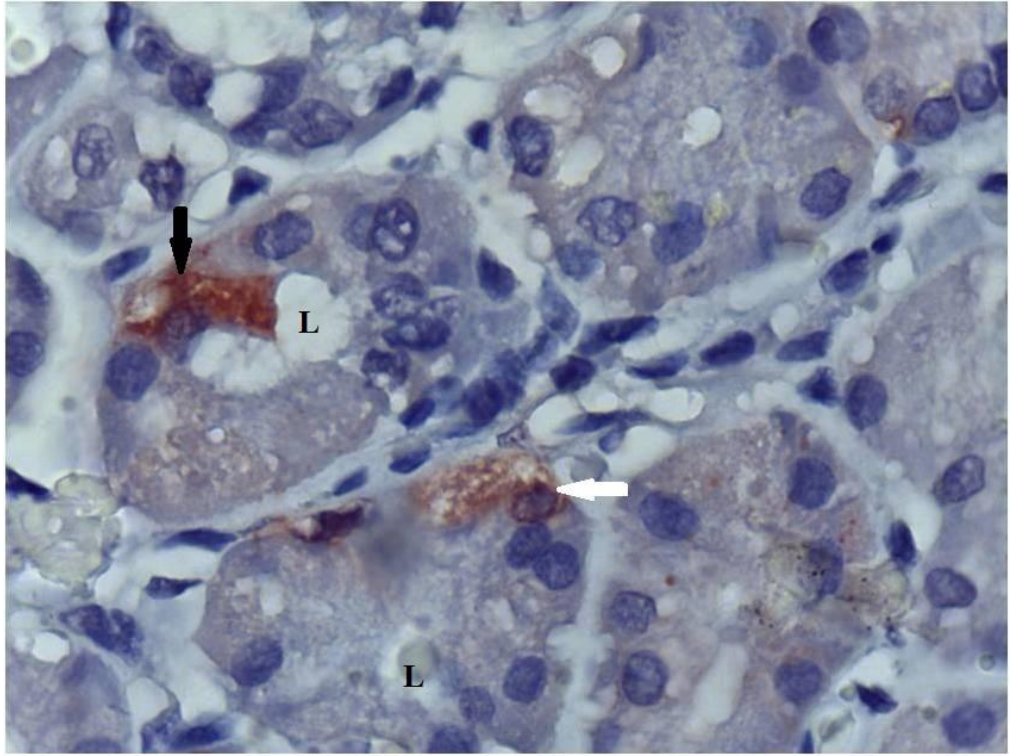
Şekil-44: Kapalı tip, yuvarlak merkezi çekirdekli, lümene (L) ulaşmayan enteroendokrin D hücreleri (ok) (Büyütme x1000)



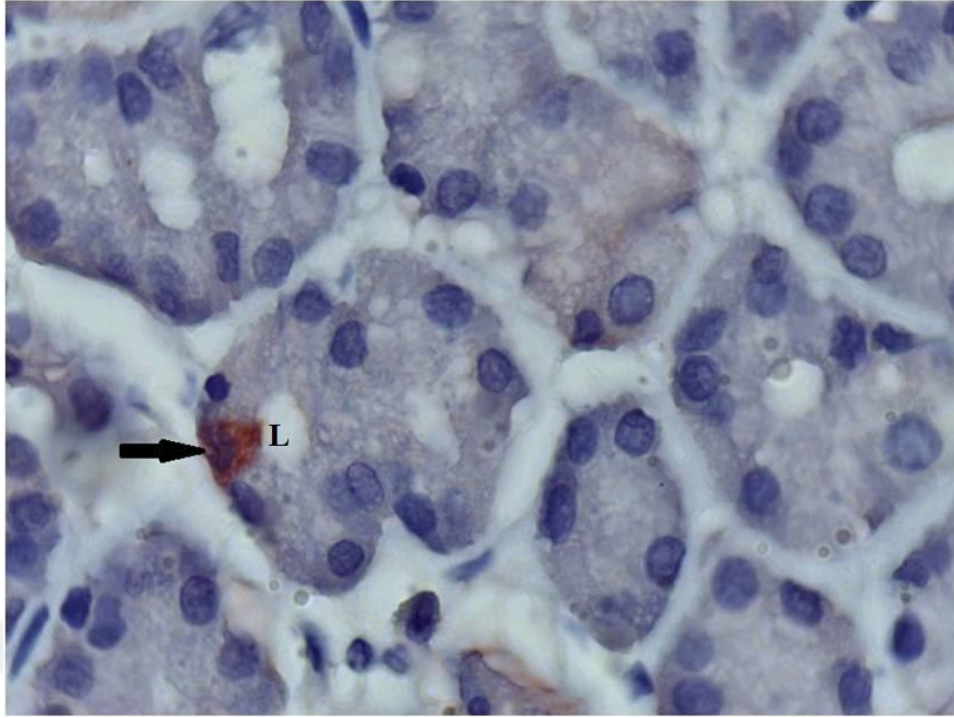
Şekil-45: Açık tip, eliptik çekirdekli, lümene (L) açılan D hücreleri (ok) (Büyütme x1000)



Şekil-46: Aynı bezde yerleşmiş D hücreleri (Büyütme x1000)

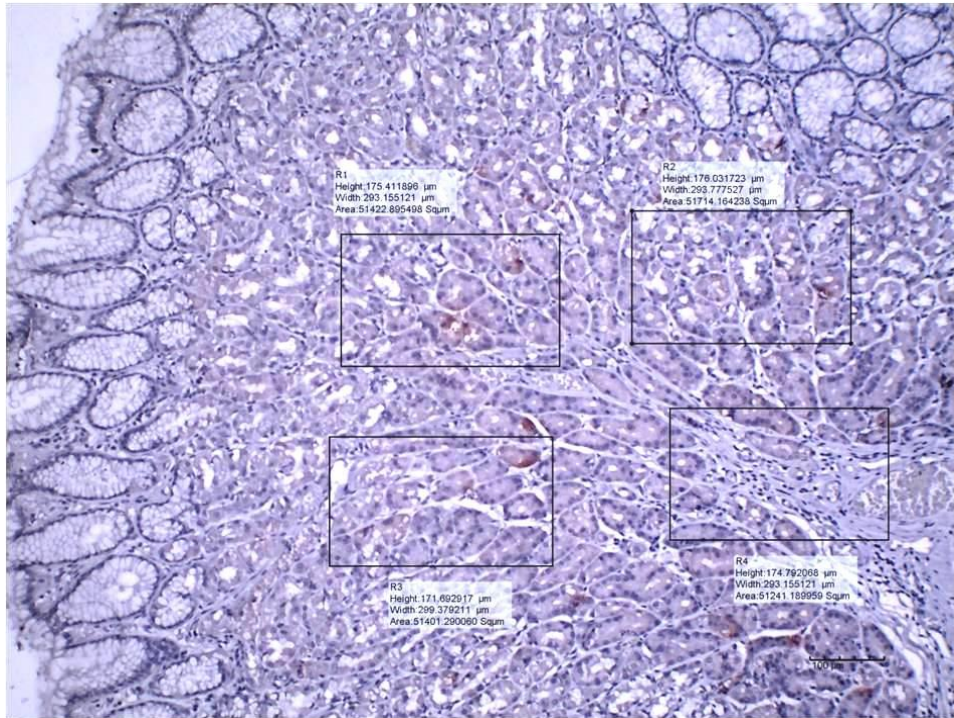


Şekil-47: Açık tip (siyah ok) ve kapalı tip (beyaz ok) enteroendokrin D hücreleri (Büyütme x1000)



Şekil-48: Lümen (L) açılan, açık tip enteroendokrin D hücresi (ok) (Büyütme x1000)

Işık mikroskobisi ile immünohistokimyasal olarak tespit edilen D hücrelerinin sayısı 100x (10x lens 10x merceği) büyütme ile her biri 0.5 mm² olan 4 alanda immün pozitif hücrelerin sayımı yapılarak ortalaması alındı. Buna göre somatostatin D hücrelerinin ortalama değeri 10.68 ± 9.07 olarak tespit edildi (Şekil 49).



Şekil-49: D hücrelerinin dört bölgede her biri 0.5 mm² de hesaplanan ortalama sayıları

7.TARTIŞMA

Sindirim sisteminin motilite, sekresyon ve emiliminin nöral ve hormonal yollarla kontrol mekanizmaları günümüzde iyi bilinmektedir. Tüm bu kontrol mekanizmaları çeşitli hormonlar, nörotransmitterler, sitokinler ve büyüme faktörlerinin oluşturduğu kompleks bir sistem tarafından düzenlenir. Burada yer alan kontrol sistemleri endokrin, parakrin ve nöral yollardan oluşur. Esas rol intrinsek diffüz nöroendokrin sistem adı verilen çeşitli biyoaktif maddelerin sekresyonunu gerek kana gerek çevre hücelere gönderen bir grup hücrenin oluşturduğu sisteme aittir. Enteroendokrin hücrelerden salgılanan ürünler mekanik ve kimyasal uyarılar (asid, osmolarite, gıda) sebebiyle salgılanırlar. Salgılanan hormonlardan bazıları gastrin, histamin, somatostatin, enkefalin, bombesin, vasoaktif inhibitör peptit, sekretin, kolesistokinin (CCK), ghrelin gibi maddelerdir (41). Bu hormonlar arasında önemli iki hormon gastrin ve somatostatin olup her ikisi de endokrin ve parakrin özelliklere sahiptir.

İlk tanımlanan peptit olan gastrin, G hücreleri olarak adlandırılan spesifik endokrin tip hücrelerde lokalize bulunmuştur (120). Bazı hormon ve nörotransmitterler gastrin salınımını arttırlarken somatostatin gibi bazıları gastrin salınımını inhibe etmektedir (121). Gastrin ve diğer endokrin hücrelerle ilgili pek çok fizyolojik hayvan çalışmaları bildirilmiştir (120, 122). Ancak insan gastrik mukozasındaki endokrin hücre yerleşimine odaklanan az sayıda çalışma bulunmaktadır (123, 124, 125, 126).

Bu çalışmada sağlıklı insan antral mukozasında yerleşmiş gastrin ve somatostatin immünreaktif hücrelerin sıklığını ve dağılımını belirlemeye çalıştık. 2012 yılında Kasacka ve ark. (127) yapmış oldukları çalışmada; G ve D hücrelerini mukoza epitelindeki prizmatik hücreler arasına dağılmış olarak göstermişlerdir. Yine aynı çalışmada pilorik mukozanın alt yarısında-bazalinde somatostatin salgılayan D hücrelerini, mukozanın orta 1/3'ünde gastrin salgılayan G hücrelerini tespit etmiş ve sağlıklı insan pilorik mukozasında G hücre sayısını D hücre sayısından daha fazla bulmuşlardır. Bizim çalışmamızdaki dağılım paterni Kasacka ve ark.'nın (127) çalışmasına benzerdir. Çalışmamızda somatostatin immünreaktivitesi gösteren hücreler bezlerin bazal bölgesinde daha yoğun iken, gastrin immünreaktivitesi

gösteren hücreler bezlerin orta kısımlarında daha yoğun olarak gözlenmiştir. Bir diğer benzer sonuçta somatostatin salgılayan D hücre sayısının G hücre sayısından daha az bulunması olmuştur.

Kasacka ve ark.'nın (127) çalışmasında, pilorik endokrin hücreler sitoplazmik koyu kahverengi boyanma göstermişlerdir. Aynı çalışmada hücre gövdesinde sitoplazmik çıkıntılar ve hücre içinde sekretuar granüller gözlenmiştir. Kasacka ve ark. (127) endokrin hücrelerin çekirdeklerini merkezi ve yuvarlak şekilli olarak gözlemiş, ayrıca gastrin immünreaktif hücrelerin bir kısmını yuvarlak bir kısmını ise elonge veya düzensiz şekilde saptamıştır. Tzaneva M.A.'nın (125) çalışmasında ise G hücreleri yuvarlak ya da düzensiz şekilli, gastrin yoğunluğu bazı hücrelerde oldukça güçlü bazı hücrelerde orta derecede tespit edilmiş ve gastrin boyanması bazılarında subnukleer iken bazılarında supranukleer bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da gözlenen G hücreleri diğer hücrelerin arasında yerleşmiş genellikle piramidal şekilli, sitoplazmalarında granüller içeren hücreler olarak izlenmiştir. Gastrin immünreaktif hücreler büyük büyütmelede incelendiğinde; hücrelerin çoğunda granüllerin bütün sitoplazmaya dağıldığı bazı hücrelerde granüllerin hücrenin bazalinde toplandığı gözlenmiştir. Hücrelerin genellikle yuvarlak, merkezi veya hafif bazale itilmiş çekirdekleri görülmüştür.

Kasacka ve ark.'nın (127) çalışmasında G hücrelerinin büyük bir kısmı kapalı tip hücre olup lümen ile ilişkisi bulunmamaktadır. Bazı hücrelerin ise lümene ulaştığını gözlemişlerdir. Çalışmamızda tespit edilen endokrin hücrelerde ise, hücrelerin büyük kısmı özellikle bezlerin bazalinde yerleşmiş olanlar kapalı tip enteroendokrin hücre görünümünde izlenirken bazı hücrelerin ise lümene ulaştığı gözlenmiştir. Hücrelerin çoğu kapalı tipte olup, bir lümen bağlantısının olmadığı, lümene ulaşanlarının ise geniş tabanları ve mukozaya uzanan dar baş kısımlarıyla konik şekilde olduğu izlenmiştir.

Çalışmamızda tespit edilen endokrin hücrelerde gastrin immünreaktifliği değişik derecelerde gözlenmiştir. Hücrelerde (+) ile (+++) arasında değişen derecelerde boyanma görülmüştür. Kasacka ve ark.'nın (127) çalışmasında da yine

benzer sonuçlar elde edilmiş olup bazı hücrelerde gastrin boyanma yoğunluğu oldukça güçlü olup bazı hücrelerde orta derecede boyanma gözlenmiştir.

Kasacka ve ark.'nın (127) çalışmasında antisomatostatin immünreaktif hücreler uzun ince uzantılara sahip olup daha az sayıda tespit edilmiştir. Bu hücreleri daha farklı şekillerde (piramidal, elonge, düzensiz) saptamışlardır. Apikal sitoplazmik uzantıları mide lümenine uzanırken bazal uzantıları bazal membrana ya da yakın komşuluktaki epitelyal hücrelere uzanmaktadır. Tzaneva M.A.'nın (125) çalışmasında somatostatin immünreaktif hücreler güçlü boyanma göstermiş olup bazıları orta derecede boyanmış olarak gözlenmiştir. Başlıca subnükleer nadiren supranükleer boyanma tespit edilmiştir. Çalışmamızda da benzer şekilde tespit edilen somatostatin immünreaktif hücreler bez epiteli arasına dağılmış olup kuvvetli somatostatin boyanması gösterdiler. Antisomatostatin immünboyama ile saptanan hücreler bezlerin boyun ve taban bölgelerinde yuvarlak, eliptik ya da piramidal değişik şekillerde izlenmiştir. Çekirdekleri hücre gövdesinin orta bölümünde ve yuvarlak bir yapı göstermekte olup bir kısmının açık tip, bir kısmının ise kapalı tipte olduğu izlenmiştir.

Kasacka ve ark.'nın (127) çalışmasına kadar sağlıklı insan sindirim sistemi içerisindeki endokrin hücre sayısına ait onların yaptığı büyüklükte başka bir çalışma yapılmamıştır. Kasacka ve ark. 0.785 mm² alanda ortalama 83.6 G hücresi bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda ise 0.5 mm² alanda 21.6 G hücresi tespit edilmiştir. Kasacka ve ark.'nın çalışmasında 0.785 mm² alanda bulunan D hücrelerinin ortalama değeri 31.8 iken bizim çalışmamızda bulunan D hücrelerinin ortalama değeri 10.68 olarak bulunmuştur. Bu farklılık çalışmalara alınan deneklerin geniş bir evrende yer almasından ve boyama yöntemlerinin standart olmamasından kaynaklanmış olabilir.

Kasacka ve ark.'dan (127) önce Liu ve ark.'nın (123) yapmış olduğu çalışmada dispeptik şikayetli hastaların gastrik antral biyopsilerinde gastrin ve somatostatin boyanması yapılmıştır. Bu çalışmadaki hücre dağılımı da hem bizim hem Kasacka ve ark. nin çalışmasındaki dağılım paternine uymaktadır. Fakat Liu ve ark.(123) ile Kasacka ve ark.'nın (127) çalışmalarını karşılaştırdığımızda D ve G

hücreleri sağlıklı antral mukozada, gastrit saptanmış mukozaya göre daha yüksek sayıda bulunmuştur. *Helicobacter pylori* saptanmış dokulardaki G hücre sayısı, normal ve gastritli mukozadan yüksek saptanmış olup, D hücre sayısı ise diğer iki gruptan düşük saptanmıştır.

Öte yandan Tzaneva M.A.'nın (125), 2003 de yapmış olduğu çalışmada G hücreleri antral bezin üst yarısında bulunmuştur. Antisomatostatin pozitif hücreler tüm mukoza boyunca düzgün yerleşmiş ve bu hücreler özellikle antral bezin üst-ortasında dağılmışlardır. Buradaki D hücrelerinin yerleşimine ait bulgular hem Kasacka ve ark.'nın (127) hemde bizim yapmış olduğumuz çalışmanın sonuçlarından farklıdır. Bu farklılık da farklı antiserumlar, farklı boyama yöntemi ve farklı örneklemeden kaynaklanmış olabilir.

Sıçan mide mukozasında yapılan çalışmalardaki G ve D hücrelerinin dağılımı ve şekilleri insan pilorik mukozasındaki sonuçlarla benzerdir. Ancak gastrin ve somatostatin içeren sıçan antral mukozasındaki hücre sayısı insan midesindekinden daha az bulunmuştur (128).

Çeşitli endokrin hücrelerin dağılım, yoğunluk ve lokalizasyonları fonksiyonlarına bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Gastrik pilorik antrumun en önemli endokrin fonksiyonu gastrin sekresyonudur. Gastrin antral ve duodenal G hücrelerinde üretilebilir ana kaynağı antral G hücreleridir. Antral G hücrelerinin ana inhibitörü antral D hücrelerinden somatostatin salgılatmasına neden olan intraluminal asittir (129). D hücreleri fonksiyonel ve anatomik olarak G hücreleriyle yakın ilişki içindedir. Kasacka ve ark. çalışmalarında somatostatin pozitif hücrelerin uzun immünoaktif bazal uzantıları olduğunu göstermişlerdir (127). Güncel hipotez tek bir somatostatin hücrelerinin birden fazla uzantıları yoluyla komşu birçok hücreyi aynı anda etkilediği yönündedir. D hücrelerinin uzun sitoplazmik çıkıntıları ile komşu antral G hücrelerine sıkı bağlı oldukları gösterilmiştir ve bu sonuç gastrin içeren hücrelerin fonksiyonunda düzenleyici bir potansiyeli olduğunu düşündürmektedir (130). Somatostatin gastrin sekresyonunu inhibe eder, gastrin gen transkripsiyonunu ve mRNA stabilitesini etkileyerek gastrin mRNA seviyelerini azaltır. Pekçok veri,

somatostatinin gastrin hücre fonksiyonunun fizyolojik parakrin regülatörü olduğu hipotezini desteklemektedir (131).

Gastrointestinal sistemin epitelinde yer alan enteroendokrin hücrelerin dengesi, çevresinde gelişen mekanik olayların ve kimyasal değişikliklerin sonucunda sürdürülür (132). Normalde antrum lümenindeki pH düştüğünde gastrin salınımı baskılanır. Buna ek olarak gastrin salınımı üzerine kolesistokininin inhibitör kontrolü sözkonusudur. Antral mukozadaki D hücrelerinden salınan somatostatin tarafından kolesistokinin salınımı düzenlenir. Hem gastrik asit hemde kolesistokinin gastrin salınımını inhibe eder (123). G hücrelerinden daha fazla gastrin salınımı pH daki artış, besin alımı, midenin basıncının artışı, vagus sinirinin uyarılması veya mukozal sinir ağının uyarılması ile arttırılabilir. Somatostatin ve diğer gastrointestinal hormonların aracılığıyla pH'nın düşmesi ve sempatik sinir sisteminin uyarılmasıyla gastrin salınımı inhibe olur (121,133). Gastrin hücrelerinin dağılımı ve sıklığı üzerine vagus sinirinin etkisi Soehartono'nun çalışmasında açıkça gösterilmiştir. Vagotomize dana abomasumunda kontrol grubuna göre gastrin immünreaktif hücre sayısı anlamlı derecede azalmıştır benzer şekilde somatostatin pozitif hücre sayısında azalma görülmüştür (134).

Mideden salınan somatostatinin üzerinde gastrin tek başına bölgesel düzenleyicidir. Somatostatin gastrointestinal sistem boyunca yaygın bir şekilde bulunmaktadır. Bununla birlikte antropilorik bölgede en yüksek seviyede bulunmaktadır (122,133). Midede somatostatin hücreleri etki ettikleri hedef hücreleri örneğin pariyetal hücreler, ECL hücre ve gastrin hücreleriyle yanyana gelecek şekilde yerleşime sahip olup direkt olarak sitoplazmik uzantılar aracılığıyla, indirekt olarakda lokal kan dolaşımı yoluyla etkilemektedirler.

El-Salhy ve ark.'nın yapmış olduğu irritabl barsak sendromlu hastalarla ilgili bir çalışmada hastalar üç gruba ayrılıp kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada hasta grubun hepsinde gastrin G hücre yoğunluğu kontrol grubuna göre anlamlı artış göstermiştir (135).

Fonksiyonel dispepsili hastalarda yapılan bir çalışmada ise kontrol grubu fonksiyonel dispepsisi olup gastrik boşalma zamanı gecikmiş hastalar ve fonksiyonel

dispepsisi olup gastrik boşalma zamanı normal olan hastalarla karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada gastrik antrumdaki G hücreleri ağırlıklı olarak alttaki 2/3 mukoza ve nadiren üst 1/3 mukozada gözlenmiştir. G hücreleri yuvarlak, elips, üçgen ya da düzensiz şekillerde gözlenmiş olup D hücreleri ağırlıklı olarak alt 1/3 mukoza ve nadiren üst 2/3 mukozada gözlenmiştir. D hücre görünümleri de G hücrelerine benzer saptanmıştır. Bu dağılım bizim yaptığımız çalışmadaki normal birey gastrik mukoza G ve D hücre dağılımı ile paralel sonuçlanmıştır (136).

Gastrointestinal sistem hastalıklarında G ve D hücrelerinin sayısı dağılımı şekli bazı hastalıklarda değişirken bazı hastalıklarda değişmeden kalmaktadır. Bu durum hastalığın patofizyolojisinde neyin rol oynadığı ile ilişkili olabilir. Bu nedenle gastrik mukozanın normal bireylerdeki özelliklerini bilmek hastalık durumunda ayırt edici özellik olarak bizlere yol gösterici olacaktır.

8. SONUÇ

Bu çalışmada, midede bulunan enteroendokrin hücrelerden olan, gastrin ve somatostatin salgılayan G ve D hücreleri, immünohistokimyasal teknikler kullanılarak ışık mikroskobik düzeyde incelenmiştir.

H-E boyama ile öncelikle sağlıklı insan mide antrum duvar yapısı incelenmiştir. Bu yöntem ile elde edilen görüntülerde mukozaya ait lamina epitelyalis, lamina propria ve lamina muskularis mukoza tabakaları ile t. submukoza, t. muskularis ve t. seroza tabakaları gözlenmiştir.

PAS boyama yöntemi kullanılarak mukozadan salgılanan ve mukoza yüzeyi ile lümeni kaplayan müköz tabaka gösterilmiştir.

İmmünohistokimyasal teknikler kullanılarak gastrin ve somatostatin salgılayan G ve D hücreleri saptanmıştır. Bu yöntemle tespit edilen hücreler örnekler arasında farklı yoğunluklarda gözlenmiştir. Gastrin antikoru ile saptanmış hücrelerin genellikle bez epitelinin orta 1/3'lük kısmında yoğunlaştığı sayılarının da somatostatin salgılayan hücrelerin sayısına oranla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Somatostatin salgılayan D hücreleri antisomatostatin antikoru kullanılarak gösterilmiştir. Bu hücre yapısının da farklı örneklerde farklı yoğunlukta olmasının yanında, lamina propriada bulunan bez yapısına ait daha sıklıkla bazal 2/3'lük kısmında yoğun olduğu gözlenmiştir. Somatostatin salgılayan hücre sayısı ise gastrin salgılayan hücre sayısına oranla daha az sayıda bulunmuştur.

Gastrin ve somatostatin hormonlarına ait hücre yapısındaki ve sayılarındaki göreceli değişiklikler ve bunların salgıları genellikle sindirim sisteminin normal işlevlerini etkiler, hatta klinik belirtilere neden olur. Sağlıklı hücrelere ait yerleşim ve dağılımlar hastalık durumlarındaki yapısal değişikliklerle karşılaştırılıp hastalık ve hücrelerarası ilişki gelecek çalışmalarda hastalığın patofizyolojisini anlamada bizlere yardımcı olacaktır. Farklı genetik özelliklere sahip toplumlarda hatta kadın ve erkek arasındaki farkları görebilmek için bu gruplardan oluşmuş yeni çalışmalar gerekli olacaktır. Böylelikle gastrointestinal sisteme ait özellikle mideye ait hastalıkların patofizyolojine katkıda bulunulabilir.

Bu çalışmadan elde edilen antrumda bulunan G ve D hücrelerine ait immünhistokimyasal özellikleri ve dağılımları ile ilgili bulguların ileride yapılacak olan histomorfolojik ve fizyolojik çalışmalara kaynak olabileceği düşünülmüştür.



KAYNAKÇA

1. Eşrefoğlu M., *Özel Histoloji*, İstanbul Tıp Kitapevi, İstanbul, 2016, s. 116-117
2. William K.O. Nahirney P.C., *Netter Temel Histoloji*, Müftüoğlu S, Ankara, Öncü Basımevi (Güneş tıp kitapçevleri), 2009, ss 286-295
3. Odar İ.V., *Anatomi Ders Kitabı*, Elif Matbaacılık, 12.baskı s:280, 1979, Ankara
4. Özdamar S., *Histoloji ve Embrioloji Ders Notları*, Sindirim Sistemi Gelişimi ve Histolojisi, E.U. Tıp Fak. Yayınları, Kayseri, 2001, s. 8-9
5. Moore K.L., *The Developing Human Clinically Oriented Embriology (4th ed.)*, WB. Saunders Company, London, 1988, s.217
6. Şeftalioğlu A., *Genel İnsan Embriyolojisi*, Ankara Üniversitesi Basımevi, 1991, s.100
7. Sadler T.W., *Longman's Medical Emriology (7.th ed)*, W.W.A. Waverly Company, London, 1990, ss. 239-242
8. Carlson B.M., *Human Embryology and Developmental Biology*, Chapter 15, Elsevier, 2014, ss. 335-375
9. Moore K.L., *Embriyoloji ve Doğum Defektlerinin Temelleri*, Güneş Tıp Kitapevleri (çev.edt. S. Müftüoğlu), 2009, ss. 140-141
10. Karataş C., "Klasik ve Çapraz Gastrojejunostomi Yapılan Ratlarda Mide Boşalımının Karşılaştırılması" Uzmanlık Tezi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1. Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul, 2006, s. 9
11. David A. Owen, *Histology for Pathologist*, Second Edition, Ed. S. Sternberg, 1997, ss. 481-493
12. Yıldırım M., *Resimli İnsan Anatomisi*, 1.Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, 2013, s.241
13. Taşkesen F., *Gastrointestinal Sistem Cerrahi Anatomi ve Fizyolojisi* <http://www.dicle.edu.tr/Contents/abe9bb58-11ed-4926-b0c2-6fc0091558ee.pdf> (erişim tarihi:05/04/2016)
14. Standring S., *Gray's Anatomy*, Churchill Livingstone Elsevier, 2008, ss. 1112-1122
15. Staubesand J., *Sobotta İnsan Anatomisi Atlası*, Çev.K. Arıncı, Beta Basım, İstanbul, 1994, C.2, s. 182
16. Sayek İ., *Temel Cerrahi*, Cilt 1, II. Baskı, Ankara, 1996, s. 895-903
17. Wirtzfeld D. Hebbard P., *Total Gastrectomy and Gastrointestinal Reconstruction* <https://www.uptodate.com/contents/total-gastrectomy-and-gastrointestinal-reconstruction> (erişim tarihi:10/6/2016)

18. Snell R.S., *Topografik Klinik Anatomi*, Çev. Ed. M. Yıldırım, Palme Yayıncılık, 2015, s.172
19. Skandalakis J.E., *Surgical Anatomy and Techniquess*, New York: Springer Science and Business Media LLC, 2014, s.295-344
20. Dere F., *Anatomi Atlası ve Ders Kitabı*, II. Cilt, Adana Nobel Tıp Kitabevi, Adana 1999, s:881
21. Moore K.L. Agur A.M.R., *Essential Clinical Anatomy*, Waverly Company, London, 1995, ss. 98-101
22. Arıncı K. Elhan A., *Anatomi*, 1. Cilt, Güneş Kitabevi, Ankara, 1997, ss. 304-308
23. Junquiera L.C. Carneiro J. Kelley R.O., *Temel Histoloji*, (8th ed.) Ed. Aytekin Y., Barış Kitabevi, İstanbul, 1998, s. 270-300
24. Ross M.H. Pawlina W., *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*, Ed. Baykal B., Palme Yayıncılık, Ankara, 2014, s. 574-586
25. Karatoprak C., “Varis Dışı Akut Üst Gastrointestinal Sistem Kanamalı Hastalarda Mevsimsel Değişim ve Nonsteroid Anti İnflamatuvar İlaçların Değişim Üzerindeki Etkisi” Uzmanlık Tezi, Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi 4. İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul, 2008, s.10
26. Kierszenbaum A.L., *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*, Ed.Demir R., Palme Yayıncılık, Ankara, 2006, ss.409-420
27. Eşrefoğlu M., *Genel ve Özel Histoloji*, Pelikan Yayıncılık, Ankara, 2004, ss. 209-216
28. Stacey E.M., *Histology for Pathologists*, Lippincott William Wilkins, Philadelphia, 2007, ss. 591-596
29. Grep R. O. Weiss L., *Histology*, Mc Grow-Hill Book Company, London, 1973, ss.565-575
30. Arey L.B., *Human Histology A Textbook in Outline Form* (4 th ed) , WB Saunders Company, London, 1974, ss. 216-229
31. Binder H.J., *Gastric Function through ClinicalKey*, Medical Physiology, Chapter 42, ss.895 - 911
32. Fawcett D.W, *A Textbook of Histology*, (12 th ed), Chapman Hall, London, 1994, ss.599-615

33. Mills J.C. Ramesh A.S., *Gastric Epithelial Stem Cells*, Gastroenterology 2011; 140:412–424
34. Çetin H, “Sıçan Sindirim Kanalının Onkogenezi ve Gastrin Hücreleri” Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 1997, s 64
35. Erbeni T., *Histoloji*, Beta Basım Yayım Dağıtım, İstanbul, 1987, ss 78-89
36. Gartner L.P. Hiatt J.L., *Renkli Histoloji Atlası*, Çev. Ed. A.Dağdeviren F.S. Müftüoğlu, Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 2009, s.282-301
37. Grange D.N. Barrowmen J.A. Kvitys P.R., *Clinical Gastrointestinal Physiology*, WB Saunders, Philadelphia, 1985, ss. 15-18
38. Li Z.S. Furness J.B. Young H.M. Campbell G., Nitric Oxide Synthase Immünoactivity and NADPH Diaphorase Enzyme Activity in Neurons of the Gastrointestinal Tract of the Toad, Bufo Marinus, *Archives of Histology and Cytology*, 1992, C.55, S.4, ss. 333-350
39. William L.W. Warwick R., *Gray's Anatomy*, Longman, London, 1980, ss.1270-1275
40. Hall J.E., *Textbook of Medical Physiology*, Guyton & Hall, WB.Saunders, Nobel-Yüce, 2001, ss. 773-797
41. Pandol S.J. Raybould H.E. Yee H.F., Integrative Responses of The Gastrointestinal Tract and Liver to a Meal. In: *Textbook of Gastroenterology*, 5th ed., Ed by Yamada T, Alpers DH, Kalloo AN, Kaplowitz N, Owyang C, Powell D.W., Black Well pub, 2009, ss.3-39.
42. Schubert M.L. Peura D.A., *Control of Gastric Acid Secretion in Health and Disease. Gastroenterology*, 2008; 134 (7): 1842-1860.
43. Konturek S.J. Brzozowski T. Konturek P.C.et al., Brain-gut and Appetite Regulating Hormones in The Control of Gastric Secretion and Mucosal Protection, *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2008, C.59, S.2, ss.7-31
44. Gartner L.P. Hiatt J.L., *Color Textbook of Histology Inc.Digestive System: Alimentary Canal*, W.B.Saunders Company, Philadelphia, 2001, ss. 379-396
45. Ganong W.F., *Ganong Tıbbi Fizyoloji*, Gastrointestinal Fonksiyonun Düzenlenmesi, Güneş Kitabevi, Ankara, 1995, s.537
46. Boron W.F., *Medical Physiology*, Inc.Binder H.J., Acid Secretion, Elsevier, Philadelphia, 2008, s.900-901

47. Şimşek H., *Gastroenteroloji*, (Edt:HasanTelatar), Midenin Sekretuar Fonksiyonları, Hekimler Yayın Birliği, Ankara, 1993, s. 251-257
48. James M.B., Motility of the Gastrointestinal Tract, *The Surgical Clinics of North America*, 1993, S.73, ss. 265-272
49. Nord H.J. Sodeman W.A., *Sodeman's Fیزیopatoloji*, Türkiye Klinikleri Yayınevi, (Çev.Uğur Kandilci), Ankara, ss. 862- 891
50. Berne R.M. Levy M.N., *Fیزیoloji*, Sindirim Sisteminin Düzenlenmesi ve Hareketliliği, Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, 2008, s.539-556
51. McLaughlin J., Gastrointestinal Physiology, *Basic Science*, Published by Elsevier, 2009, 27:6, s.229
52. Konturek S.J. Konturek J.W. Pawlik T. Brzozowski T., Brain-gut Axis and Its Role in The Control of Food Intake, *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2004; S.55, ss.137-154.
53. Gürer A.O., “Anterior veya Posterior Gastrojejünostomi Yapılan Ratlarda Yüksek Kalorili Enteral Nütrisyonun Mide Boşalımına Etkisi” Uzmanlık Tezi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi 1.Genel Cerrahi Kliniği, İstanbul,2005
54. Girgin A. Alabay B. Liman N. Özfiliz N. Gülmez N. Özcan Z. ve ark., *Veteriner Özel Histoloji*, Edt.Özer A., 2009, ss. 73-76
55. Bordi C. Ravazzola M. DeVita O., Pathology of Endocrine Cells in Gastric Mucosa, *Ann Pathology*, Paris, 1983, S.3, ss.19-28
56. Fujita T. Kobayashi S., Structure and Function of Gut Endocrine Cells, *Int Rev Cytol Suppl*, 1977, S.6, ss.187-233
57. D'atta T. Bertele A. Pilato F.P. Bordi C., Quantitative Electron Microscopy of Endocrine Cells in Oxyntic Mucosa of Normal Human Stomach, *Cell Tissue Res*, 1989, S.255, ss.41-48
58. Capella C. Finzi G. Cornaggia M., *Ultrastructural Typing of Gastric Endocrine Cells*, Elsevier, Amsterdam, 1991, ss.27-51
59. Bordi C. D'atta T., Ultrastructural Morphometry of Gastric Endocrine Cells, In:Hakanson R.-Sundler F.editors.*The Stomach as Endocrine Organ*, Elsevier, Amsterdam, 1991, ss.53-69
60. Johnson L.R., *Essential Medical Physiology*, Lippincott-Raven, Philadelphia, 1998, s.42

61. Henry J. Binder, Gastric Function, 2016,
<https://www.clinicalkey.com#!/content/book/3-s2.0-B9781455743773000422>
(erişim tarihi: 25/07/2016)
62. Shulkes A. Baldwin G., Biology and Pathology of Non-amidated Gastrins, *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 2001, C.61, ss.123-128
63. Dockray G. Varro A. Dimaline R., Gastric Endocrine Cells: Gene Expression, Processing and Targeting of Active Products, *Physiology Rev*, 1996, C.76, ss.266-307
64. Kobayashi T. Tonai S. Ishihara Y., Abnormal Functional and Morphological Regulation of The Gastric Mucosa in Histamine H2 Receptor Deficient Mice, *Journal of Clinical Investigation*, 2000, C.105, ss. 1741-1749
65. Sach G. Prinz C., Gastric Enterocromaffin Like Cells and The Regulation of Acid Secretion, *News Physiology Science*, 1995, C.57, ss.565-583
66. Forsmann W.G. Orci L., Ultrastructure and Secretory Cycle of The Gastrin-Producing Cell, *Z.Zellforsch Mikroskopische Anatomie*, 1969, 101:419-432
67. Brazeau P. Vale W.L. Burgus R., Hypothalamic Polypeptide That Inhibits The Secretion of Immunoreactive Pituitary Growth Hormone, *Science*, 1973, 179:77-79
68. Thomas W.E.G., Somatostatin – The Long Lost Antral Chalone, *Medical Hypotheses*, 1980, 6:919-927
69. Naylor S.I. Sakaguchi A.Y. Shen L.P., Polymorphic Human Somatostatin Gene is Located on Chromosome 3, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 1983, 80:2686-2689
70. Patel Y.C. Wheatly T.M. Ning C., Multiple Forms of Immunoreactive Somatostatin: Comparison of Distribution in Neural and Non-neural Tissues and Portal Plasma of the Rat, *Endocrinology*, 1981, 109:1943-1949
71. Ravazzola M. Benoit R. Ling N., Immunohistochemical Localization of Prosomatostatin Fragments in Maturing and Mature Secretory Granules of Pancreatic and Gastrointestinal D Cells, *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 1983, 80:215-218
72. Larsson L.I., Peptide Secretory Pathways in the GI Tract: Cytochemical Contributions to Regulatory Physiology of the Gut, *American Journal of Physiology*, 1980, 239: G237-246

73. Asakawa A. Inui A. Kaga T., Ghrelin is an Appetite Stimulatory Signal From Stomach with Structural Resemblance to Motilin, *Gastroenterology*, 2001, 120:337-345
74. Hasler W.L., *The Physiology of Gastric Motility and Gastric Emptying*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2003, ss.266-307
75. Schubert M.L. Edwards N.F. Makhlouf G.M., Regulation of Gastric Somatostatin Secretion in the Mouse by Luminal Acid: A Local Feedback Mechanism, *Gastroenterology*, 1988, ss.317-322
76. Hersey S.J. Sachs G., Gastric Acid Secretion, *Physiology Review*, 1995, 75:155-189
77. Sundler F. Hakanson R., Gastric Endocrine Cell Typing at the Light Microscopic Level, In: *The Stomach as an Endocrine Organ*, (edt.Hakanson R.- Sundler F.), Elsevier, Amsterdam, 1991,ss.9-26
78. Demir M. Gen R. Hilmi A., Mide Karsinoid Tümörleri, *Ege Tıp Dergisi*, 2011, C.50, S.2, ss.73-79
79. Solcia E. Capella C. Vassallo G., Endocrine Cells of the Gastric Mucosa, *International Review of Cytology*, 1975, 42: 223-286
80. Aures D. Hakanson R. Schauer A., Histidine Decarboxylase and DOPA Decarboxylase in the Rat Stomach, *European Journal of Pharmacology*, 1968, 3:217-234
81. Nissinen M.J. Panula P., Histamine-Storing Cells in the Oxyntic Mucosa of the Rat Stomach, *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 1993, 41:1405-1412
82. Erickson J.D. Schafer M.K. Bonner T.I., Distinct Pharmacological Properties and Distribution in Neurons and Endocrine Cells of Two Isoforms of the Human Vesicular Monoamine Transporter, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 1996, 93:5166-5171
83. Hohne -Zell B. Galler A. Schepp W. Gratzl M. Prinz C., Functional Importance of Synaptobrevin and SNAP-25 During Exocytosis of Histamine by Rat Gastric Enterocromaffin- like Cells, *Endocrinology*, 1997, 235:5518-5526
84. Aou S. Ma J. Shramine K. Hori T., The Stomach is the Etiologic Organ for Immobilization-induced Hypocalcemia in Rats, *American Journal of Physiology*, 1993, 265: R1376-R1379
85. Gospodarowicz D., The Fibroblast Growth Factor, *Oncogenesis*, 1989, 1:1-25

86. Azzoni C. Doglioni C. Viale G. Bordi C., Involvement of BCL -2 Oncoprotein in The Development of Enterocromaffin-like Cell Gastric Carcinoids, *American Journal of Surgical Pathology*, 1996, 20:433-441
87. Solcia E. Capella C. Buffa R. Frigerio B., Histochemical and Ultrastructural Studies on the Argentaffin and Argyrophil Cells of the Gut.In:Coupland R.E., Fujita T., editors, *Chromaffin, Enterochromaffin and Related Cells*, Elsevier, Amsterdam, 1976, ss.209-225
88. Inokuchi H. Kawai K. Takeuchi Y. Sano Y., Immunohistochemical Study on the Morphology of Enterochromaffin Cells in the Human Fundic Mucosa, *Cell Tissue Research*, 1984, 235:703-705
89. Kusumoto Y. Grube D. Sato A.G. Kaneda K. Nakamae E., Cytology and Arrangement of Enterochromaffin (EC) Cells in the Human Stomach, *Archives of Histology and Cytology*, 1988, 51:271-276
90. Kojima M Hosoda H. Date Y. Nakazato M. Matsuo H. Kangawa K., Ghrelin is a Growth Hormone Releasing Acylated Peptide From Stomach, *Nature*, 1999, S.402, ss.656-660
91. Bowers C.Y., Unnatural Growth Hormone Releasing Peptide Begets Natural Ghrelin, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2001, S.86, ss.1464-1469
92. Casanueva F.F. Dieguez C., Ghrelin; The Link Connecting Growth with Metabolism and Energy Homeostasis, *Reviews in Endocrine Disorders*, 2002, S.3, ss.325-338
93. Bilgin H.M., Ghrelin; Gündemdeki Hormon, *Dicle Tip Dergisi*, 2006, C.33, S.4, ss.268-272
94. Horvath T.L. Diano S. Sotonyi P. Heiman M. Tschop M., Ghrelin and the Regulation of Energy Balance a Hypothalamic Perspective , *Endocrinology*, 2001, S.142, ss.4163-4169
95. Hataya Y. Akamizu T. Takaya K. Kanamoto N. et al., A low dose of Ghrelin Stimulates Growth Hormone (GH) Release Synergistically With GH-releasing Hormone in Humans, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2001, S.86, ss.552-555
96. Kaiya H. Kojima M. Hosoda H. Kitajima Y. et al., Chicken Ghrelin: Purification, cDNA Cloning and Biological Activity, *Endocrinology*, 2002, S.143, ss.3454-3463

97. Dzaja A. Dalal M. Himmerich H. Schuld A. et al., Sleep Enhances Nocturnal Plasma Ghrelin Levels in Healthy Subjects, *American Journal of Physiology , Endocrinology and Metabolism*, 2004, S.286, ss.963-967
98. Tschop M. Weyer C. Tataranni P.A. Devanarayan V. Ravussin E. Heiman M.L., Circulating Ghrelin Levels are Decreased in Human Obesity, *Diabetes*, 2001, S.50, ss.707-709
99. Nagaya N. Kojima M. Uematsu M., Hemodynamic and Hormonal Effects of Human Ghrelin in Healthy Volunteers, *American Journal of Physiology: Regulatory. Integrative and Comparative Physiology*, 2001, S.280, ss.1483-1487
100. Tanaka K. Minoura H. Isobe T. Yonaha H. Kawato H. et al., Ghrelin is Involved in the Decidualization of Human Endometrial Stromal Cells, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2003, S.88, ss.2335-2340
101. Bayram N., *Histoloji*, Açıköğretim Fakültesi Yayınları, 1995, Eskişehir, ss.2-15
102. Demir R., *Histolojik Boyama Teknikleri*, Palme Yayıncılık, 2001, Ankara, s.123
103. Koptagel E., *Histolojik Teknikler 1*,
<https://tr.scribd.com/doc/53341024/HistolojikTeknikler> (erişim tarihi:18/01/2017)
104. Russell R., *The Bodian Stain for Nerve Fibers and Nerve Endings*, Laboratory Medicine, 1973, 4:40
105. Bancroft J.D. Cook H.C., *Manual of Histological Techniques*, Churchill Livingstone, 1984, ss.159-170
106. Staples D.C. Clark L.P., Dilute Ammoniacal Silver Nitrate Solutions for the Demonstration of Reticulum and Argentaffin Granules, *Journal of Histotechnology*, 1990, S.13, ss.137-139
107. Davenport H.A., Organic Constituents of Tissues: Polysaccharides, *Histological and Histochemical Technics*, W.B.Saunders Company, Philadelphia-London, 1960, s.295
108. Erdoğan D. Hatipoğlu M.T. Ilgaz C. Görgün M., PAS, *Histoloji Laboratuvar Kılavuzu*, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Ankara, 1990, S.1, s.16
109. Doran F., Histokimya, *Aegean Pathology Journal*, 2005, S.2, ss.62-70
110. Boenisch T. Farmilo A.J. Stead R.H., *Handbook of Immunochemical Staining Methods*, Edt. Naish S.J., 1998, ss.2-3
111. Fox C.H., Johnson F.B., Whiting J., Roller P.P. , Formaldehyde Fixation, *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 1985, S.33, ss.845–853

112. Shi S.R. Cote R.J. Taylor C.R. , Antigen Retrieval Immunohistochemistry: Past, Present and Future, *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 1997, S.45, ss.327–343
113. Evers P. Uylings H.B.M. Suurmeijer A.J.H., Antigen Retrieval in Formaldehyde-fixed Human Brain Tissue, *Methods*, 1998, S.15, ss.133–140
114. Shi S.R.- Imam S.A.- Young L.-Cote R.J.- Taylor C.R., Antigen Retrieval Immunohistochemistry Under the Influence of pH Using Monoclonal Antibodies, *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 1995, S.43, ss.193–201
115. Shi S.R. Key M.E. Kalra K.L., Antigen Retrieval in Formalin-fixed, Paraffin-embedded Tissues: Enhancement Method for Immunohistochemical Staining Based on Microwave Oven Heating of Tissue Sections, *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 1991, S.39, ss.741-748
116. Humason G.L., Immunohistochemistry, *Humason's Animal Tissue Techniques*, 1979, ss. 361-379
117. De Mey J.R., The Preparation of Immunoglobulin Gold Conjugates (IGS Reagents) and Their Use as Markers for Light and Electron Microscopic Immunohistochemistry, 1983, ss.55-63
118. Demir R., Histolojik Boyama Teknikleri, Palme Yayıncılık, 2001, Ankara, s.285-305
119. Culling C.F.A. Allison R.T. Barr W.T., *Cellular Pathology Techniques*, 4th edition, London, 1985, ss:475-477
120. Timurkaan S. Timurkaan N. Ozkan E. Girgin M., Immunohistochemical Distribution of Somatostatin, Glucagon and Gastrin in The Gastric Fundus of The Citellus (*Spermophilus xanthopyrmnus*), *Journal of Animal and Veterinary Science Advance*, 2009, S.8, ss.2210-2214
121. Waldum H.L. Sandvik A.K. Brenna E. Peterson H., Gastrin-Histamine Sequence in The Regulation of Gastric Acid Secretion, *Gut*, 1991, S.32, ss.698-701
122. Vinik A.L. Gaginella T.S. O'Dorisio T.M. Shapiro B. Wagner L., The Distribution and Characterization of Somatostatin -Like Immunoreactivity in Epithelial Cells, Submucosa and Muscle of The Rat Stomach and Intestine, *Endocrinology*, 1981, S.109, ss.1921-1926

- 123.Liu Y. Vosmaer G.D. Tytgat G.N. Xiao S.D. Ten Kate F.J., Gastrin (G) Cells and Somatostatin (D) Cells in Patient With Dyspeptic Symptoms:Helicobacter Pylori Associated and Non-associated Gastritis, *Journal of Clinical Pathology*, 2005, S.58, ss.927-931
- 124.Tzaneva M.A., Effects of Duodenogastric Reflux on Gastric Cells, Somatostatin Cells and Serotonin Cells in Human Antral Gastric Mucosa, *Pathology Research Practise*, 2004, S.200, ss.431-438
- 125.Tzaneva M.A., Ultrastructural Immunohistochemical Localization of Gastrin, Somatostatin and Serotonin in Endocrine Cells of Human Antral Gastric Mucosa, *Acta Histochemical*, 2003, S.105, ss.191-201
- 126.Xie X.Z. Zhao Z.G. Qi D.S. Wang Z.M., Assay of Gastrin and Somatostatin in Gastric Antrum Tissues of Children with Chronic Gastritis and Duodenal Ulcer, *World Journal of Gastroenterology*, 2006, S.12, ss.2288-2290
- 127.Kasacka I. Lebkowski W. Janiuk I. Lapinska J. Lewandowska A., Immunohistochemical Identification and Localisation of Gastrin and Somatostatin in Endocrine Cells of Human Pyloric Gastric Mucosa, *Folia Morphologica*, 2012, S.71, ss.39-44
- 128.Kasacka I. Majewski M., An Immunohistochemical Study of Endocrine Cells in The Stomach of Hypertensive Rats, *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2007, S.3, ss.469-478
- 129.Saffouri B. Duval J.W Makhlof G.M., Stimulation of Gastrin Secretion in vitro by Intraluminal Chemicals:Regulation by Intramural Cholinergic and Noncholinergic Neurons, *Gastroenterology*, 1984, S.87, ss.557-561
- 130.Arnold R. Hülst M.V. Neuhof C.H. Schwarting H. Becker H.D. Creutzfeldt W., Antral Gastrin- Producing G cells and Somatostatin-Producing D cells in Different States of Gastric Secretion, *Gut*, 1982, S.23, ss.285-291
- 131.Larsson L.I. Tingstedt J.E. Hougaard D.M., Co-expression of the Gastrin and Somatostatin Genes in Differentiating and Neoplastic Human Cells, *Histochemical Cell Biology*, 1995, S.104, ss.139-144
- 132.Raikhlin N.T. Kvetnoi I.M. Solomatina I.M., The APUD System and The Hormonal Basis of Gastrointestinal Activity, *Sovetskaia Meditsina*, 1983, S.6, ss.53-59

- 133.Sun F.P. Song Y.G., G and D cells in Rat Antral Mucosa: An Immunoelectron Microscopic Study, *World Journal of Gastroenterology*, 2003, S.9, ss.2768-2771
- 134.Soehartono R.H. Kitamura N. Yamagishi N. Taguchi K. Yamada J. Yamada H., An Immunohistochemical Study of Endocrine Cells in the Abomasum of Vagotomized Calf, *Journal of Veterinary Medicine Science*, 2002, S.64, ss.11-15
- 135.El-Salhy M. Gilja O.H. Hatlebakk J.G. Hausken T., Stomach Antral Endocrine Cells in Patients with Irritable Bowel Syndrome, *International Journal of Molecular Medicine*, 2014, S.34, ss.967-974
- 136.Rong-He M. Song Y. Zhi F., Gastrointestinal Hormon Abnormalities and G and D Cells in Functional Dyspepsia Patients with Gastric Dysmotility, *World Journal of Gastroenterology*, 2005, C:11, S.3, ss.443-446

EK 1.ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Okşan Uyar Gazezoğlu

Doğum Yeri : Muğla

Doğum Yılı : 31/10/1976

Medeni Hali : Evli

EĞİTİM VE AKADEMİK BİLGİLER

Lise 1990-1993 : Muğla Turgutreis Lisesi

Lisans 1994-2000 : Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Lisans 2003-2008 : Anadolu Üniversitesi İktisat Fakültesi Kamu Yönetimi

Yüksek Lisans 2012-2015 : Beykent Üniversitesi İşletme Yönetimi Hastane ve Sağlık Kurumları Yönetimi

Yabancı Dil : İngilizce

MESLEKİ BİLGİLER

2002-2004 : Muğla Özel Yücelen Hastanesi Hemodiyaliz Sorumlu Hekimi

2004-2006 : Muğla SSK Hastanesi Acil Hekimi

2006-2007 : Muğla Devlet Hastanesi Yoğunbakım Hekimi

2007-Halen : Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hemodiyaliz Hekimi


EK.2 MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL
ARAŞTIRMALAR VE YAYIN ETİĞİ KURULU DEĞERLENDİRME
FORMU


MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR
VE YAYIN ETİĞİ KURULU DEĞERLENDİRME FORMU


SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURULU	
Protokol No: 105	Karar No: 98
Araştırmanın Yürütücüsü	MSKÜ Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dr.Okşan UYAR GAZEZOĞLU
Araştırmanın Başlığı:	İnsan Midesindeki Enteroendokrin Hücrelerin Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi
Başvuru Formunun Etik Kurula Geldiği Tarih:	01.07.2015
Başvuru Formunun Etik Kurulda İncelendiği Tarih:	02.07.2015
Karar Tarihi:	02.07.2015

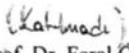
SONUÇ

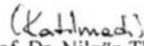
1.	<input checked="" type="checkbox"/> Kabul. Araştırmanın/Projenin uygulanabilirliği konusunda bilimsel araştırmalar etiği açısından bir sakınca yoktur.
2.	<input type="checkbox"/> Düzeltme gereklidir.
3.	<input type="checkbox"/> Red.


Prof. Dr. Yasemin BALCI
(Başkan)


Prof. Dr. Nazan TUĞAY


Prof. Dr. Erşan KARABABA


Prof. Dr. Feral ÖZTÜRK


Prof. Dr. Nilgün TURHAN