

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**SIÇANLARDA ASPIRİN İLE OLUŞTURULAN GASTRİK MUKOZAL
HASARIN ÖNLENMESİNDE KEFİRİN ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Gürsel ACARTÜRK

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Mehmet İŞLER**

ISPARTA - 2010

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince, bilimsel ve insani değerler açısından yetişmemdeki önemli katkıları nedeniyle tez danışmanım, saygın ve değerli hocam Prof. Dr. Mehmet İŞLER'e, uzmanlık eğitimine ilk kez yanında başladığım değerli hocam Doç. Dr. Yusuf AKCAN'a, hekimlik hayatıma model olacak prensipleri ve saygınlıkları ile değerli hocalarım Prof. Dr. Yıldırım SONGÜR'e ve Doç. Dr. Muhammed Cem KOÇKAR'a, fedakarlığı ve dostluğu için Yard. Doç. Dr. Altuğ ŞENOL'a, Anabilim Dalı'nın değerli hocaları Prof. Dr. Mehmet Numan TAMER'e, Prof. Dr. M. Tuğrul SEZER'e, Doç. Dr. Ş. Ercan TUNÇ'a, Doç. Dr. Mehmet ŞAHİN'e ve Yard. Doç. Dr. Güçhan ALANOĞLU'na şükranlarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim boyunca kader arkadaşlığımız olan Doç. Dr. İhsan USLAN'a ve bu süreçte misafirperverliği ve fedakarlıkları ile hep yanımda olan Yard. Doç. Dr. Şeref YÜKSEL'e minnettarım. Ortak mesaide bulunmaktan ve tanımaktan dolayı kendimi şanslı saydığım değerli arkadaşlarım Uzm. Dr. Mete AKIN'a, Uzm. Dr. Gökhan AKSAKAL'a, birlikte çalıştığım hemşire ve sağlık personeli arkadaşlarıma gösterdikleri fedakarlık, sabır ve hoşgörülerini için minnettarım. Tez çalışmalarına büyük fedakarlıklarla destek veren, bu süreçte tatlı hatıralara imza atan değerli arkadaşlarım Doç. Dr. Önder ŞAHİN'e ve Doç. Dr. Recep SÜTCÜ'ye teşekkür ederim.

Hayat serüvenimde sevgisiyle ve desteğiyle hep yanımda olan sevgili eşim Pınar ACARTÜRK'e, mutluluk kaynağım canım çocuklarım Emre ve İrem'e en derin sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Doç. Dr. Gürsel ACARTÜRK

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK	Sayfa No
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER ve KISALTMALAR	iv
ŞEKİLLER	vi
TABLolar	vii
RESİMLER	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Mide Anatomisi	3
2.1.1. Midenin Yerleşimi	3
2.1.2. Midenin Anatomik Bölümleri	3
2.1.3. Midenin Kanlanması	5
2.1.4. Midenin İnervasyonu	6
2.2. Mide Histolojisi	6
2.2.1. Mukoza	7
2.2.2. Submukoza	10
2.2.3. Muskularis Propriya	10
2.2.4. Seroza	10
2.3. Mide Fizyolojisi	10
2.3.1. Gastrik Sekresyon	11
2.3.1.1. Asid Sekresyonu	11
2.3.1.2. Midenin Diğer Sekresyon Ürünleri	13
2.4. Asetilsalisilik Asit (ASA, Aspirin)	14
2.4.1. Asetilsalisilik Asitin Mide Mukozasına Etkileri	16
2.5. Kefir	17
2.5.1. Kefirin Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkileri	18

3. MATERYAL ve METOD	19
3.1. Deney Hayvanları	19
3.2. Kefirin Hazırlanması	19
3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneyin Yapılması	19
3.4. Doku Örneklerinin Alınması	20
3.5. Örneklerin Homojenizasyonu ve Deney için hazırlanması	21
3.5.1. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi Ölçümü	21
3.5.2. Katalaz Aktivite Ölçümü	22
3.5.3. Glutasyon Peroksidaz Aktivite Ölçümü	23
3.5.4. Malondialdehit Tayini	23
3.6. Histopatolojik Analiz Yöntemleri	24
3.7. İstatistiksel Analiz	25
4. BULGULAR	26
4.1. Ratların Ağırlıkları ve Biyokimyasal Değerler	26
4.2. Makroskopik Değerlendirme	26
4.3. Histolojik Değerlendirmeler	30
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	37
ÖZET	42
SUMMARY	43
KAYNAKLAR	44

SİMGELER VE KISALTMALAR

Ach	Asetilkolin
ASA	Asetilsalisilik asit
cAMP	Siklik adenzin monofosfat
COX	Siklooksijenaz enzimi
CO ₂	Karbondioksit
EKL	Enterokromafin-like
GPx	Glutasyon peroksidaz
H ⁺	Hidrojen iyonu
HCO ₃	Bikarbonat
H ₂ O	Su
HCl	Hidroklorik asid
Hp	H. pylori
İF	İntrensek faktör
İL-1	İnterlökin 1
İL-2	İnterlökin 2
İL-8	İnterlökin 8
İNT γ	İnterferon gama

MDA	Malondialdehit
NSAİİ	Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç
OH ⁻	Hidroksil iyonu
PG	Prostaglandin
PKC	Protein kinaz-C
PPİ	Proton pompa inhibitörleri
SOD	Süperoksid dismutaz
TGF- β	Transforming growt faktör beta
TNF- α	Tümör Nekrozis Faktor- α

ŞEKİLLER

- Şekil 1:** Midenin bölümleri
- Şekil 2:** Midenin arteriyel kanlanması
- Şekil 3:** Asetilsalisilik asitin kimyasal yapısı
- Şekil 4:** Makroskopik mukozal hasarın gruplara göre dağılımı
- Şekil 5:** Histolojik mukozal hasar skorunun gruplara göre dağılımı
- Şekil 6:** İnflamasyon skorunun gruplara göre dağılımı
- Şekil 7:** Damarsal değişiklik skorunun gruplara göre dağılımı
- Şekil 8:** İntramukozal hemoraji skorunun gruplara göre dağılımı
- Şekil 9:** Hücre nekrozu ve dökülme skorunun gruplara göre dağılımı

TABLÖLAR

- Tablo 1:** Ağırlık ve biyokimyasal değerlerin gruplara göre dağılımı
- Tablo 2:** Makroskopik mukozal hasarın gruplar arasında karşılaştırılması
- Tablo 3:** Histolojik hasar skorlarının gruplara göre dağılımı

RESİMLER

- Resim 1:** Kontrol grubuna ait (A-8) midenin makroskopik görünümü
- Resim 2:** Kontrol+ASA grubuna ait (B-4)midenin makroskopik görünümü
- Resim 3:** Kefir grubuna ait (C-7) midenin makroskopik görünümü
- Resim 4:** Kefir+ASA grubuna ait (D-4) midenin makroskopik görünümü
- Resim 5:** Kontrol grubu: Mide mukoza hücreleri normal görünümde ve normal şekil, yerleşim ve yoğunlukta. A I;H&E,X100- E II;H&E,X200
- Resim 6:** Kontrol+ASA grubu: Yüzeyel mukus hücre haraplanması vakuollü, piknotik nüveli, parlak boyanmış veya lizise uğramış sitoplazmalı hücreler, Yüzeyel hücre haraplanması ve gastrik pitleri döşeyen hücrelerin ayrılma ve eksfoliyasyonu. Gastrik pitler boyunca uzanan, fakat mukoza kalınlığının %50'sinden azını tutan haraplanma. B I;H&E,X200- B II;H&E,X200
- Resim 7:** Kontrol+ASA grubu: İntramukozal damar yapısında minimal yada yer yer belirgin vazodilatasyon ve intramukozal hemorajiler. C I;H&E,X100- C II;H&E,X200
- Resim 8:** Yüzeyel mukus hücre haraplanması vakuollü, piknotik nüveli, parlak boyanmış veya lizise uğramış hücreler, mukozal hücrelerde nötrofil infiltrasyonu ve intra mukozal hemoraji. D I;H&E,X200- D II;H&E,X200
- Resim 9:** Mide mukoza hücreleri normale yakın görünüm, yerleşim ve yoğunlukta. Yüzeyel mukoza da hücre haraplanması ve gastrik pitleri döşeyen hücrelerin ayrılmasında azalma. Yüzeyel mukus hücre haraplanması , vakuollü, piknotik nüveli, veya lizise uğramış hücre miktarında düşüş izlenmiştir. E I;H&E,X100- E II;H&E,X200

1. GİRİŞ

Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), araşidonik asitten prostaglandin (PG) üretiminde görev alan siklooksijenaz-1 ve 2 enzimlerini (COX-1 ve COX-2) inhibe ederek, antiinflamatuvar, analjezik, antipiretik ve antiagregan etki gösterirler. Asetilsalisilik asid (ASA), NSAİİ'lerin bir üyesi ve prototipi olup, nonselektif özelliği ile doza bağlı olarak, hem COX-1, hem de COX-2'yi inhibe etmektedir (1). Akut romatizmal ateş ve romatoid artrit gibi bazı hastalıklarda yüksek doz ASA'nın antiinflamatuvar etkisinden yararlanılmakla birlikte, sıklıkla antiagregan etkisi için tromboembolik kardiyovasküler hastalıklarda düşük dozlarda kullanılan temel ilaçlardandır (2-5). Asetilsalisilik asidin, COX-1 inhibisyonu ile bir yandan istenen antiagregan etkisinin yanı sıra, yine COX-1 inhibisyonunun neden olduğu gastroprotektif PG'lerde azalma nedeniyle, gastrik mukozada hasara ve gastrointestinal kanamaya neden olabilme potansiyeli mevcuttur (6,7). Zira bir çalışmada hastaneye yatışların %5-7'sinin değişik ilaçlara bağlı yan etkiler nedeniyle oluştuğu ve bu ilaçların da %30'unu ASA ve NSAİİ'lerin oluşturduğu bildirilmiştir (8).

Asetilsalisilik aside bağlı gastrik mukozal hasarın önlenmesi, klinik olarak önemli olup, gastrointestinal komplikasyonlar açısından yüksek riskli bireylerde NSAİİ'lerin proton pompa inhibitörleri (PPI) ile birlikte kullanılması önerilmektedir (9). Bununla birlikte, ASA 10 mg/gün gibi düşük dozlarda bile gastroduodenal komplikasyonlara neden olabilmektedir (10). Bu nedenle ASA'ya bağlı gastrik mukozal hasarın önlenmesinde değişik moleküllerin etkilerinin araştırılması ilgi çeken bir konudur. Aspirin ve NSAİİ'ler başta olmak üzere, çeşitli ajanlara bağlı gelişen gastrik hasarın önlenmesinde; rebamipide (11), kafeik asit fenetil ester (12), elektroakupunktur (13), susam yağı (14), yeşil çay ekstraktları (15), antioksidan vitaminler (16) gibi moleküllerle yapılmış çalışmalar mevcuttur.

Bunlar dışında, değişik içerikli probiyotikler de gastrik koruma açısından araştırma konusudur. Probiyotikler, canlı mikroorganizmalar içeren ve yeterli sayıda alındığında sağlığa yararları olan gıda ürünleridir (17,18). Kefir de, değişik türde laktik asid bakterileri ve mayalardan oluşan kompleks bir probiyotiktir (19). En önemli etkisi, patojen bakterilerin baskılanarak barsak florasının düzenlenmesi

şeklindedir (20). Antibiyotiğe bağlı ishal, fonksiyonel kabızlık gibi gastrointestinal sistem rahatsızlıklarında olumlu etkileri mevcut olup, sağlığa olumlu etkileri nedeniyle günümüzde kullanımı giderek artan bir endüstriyel üründür (21,22).

Probiyotiklerin gastrik mukoza üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar daha çok, probiyotiklerin H. pylori'yi (Hp) baskılaması, eradikasyon tedavisine eklenmesiyle başarı oranının artması ve Hp ile ilişkili gastritin aktivitesinin azalması şeklindedir (23-25). Oysa gastrik mukozal hasarın oluşmasında, iki temel neden Hp infeksiyonu ve NSAİİ'lerin tüketimidir (26). Antitrombosit etkisi nedeniyle kullanımı yaygın olan ASA'ya bağlı gastrik mukozal hasarın önlenmesinde, probiyotiklerin etkileri ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır (27). Bunun da ötesinde, diğer probiyotiklere göre, üretim şartlarına bağlı olarak daha çok laktobasil suşu ve maya içeren, endüstriyel olarak günlük hayatta rahat ulaşılan ve sıkça tüketilen kefirin ASA'ya bağlı gastrik mukozal hasar üzerine etkisi bilinmemektedir.

Bu çalışma ile kefir tüketiminin, sıçanlarda ASA kullanılarak oluşturulacak gastrik mukozal hasar üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mide Anatomisi

2.1.1. Midenin Yerleşimi

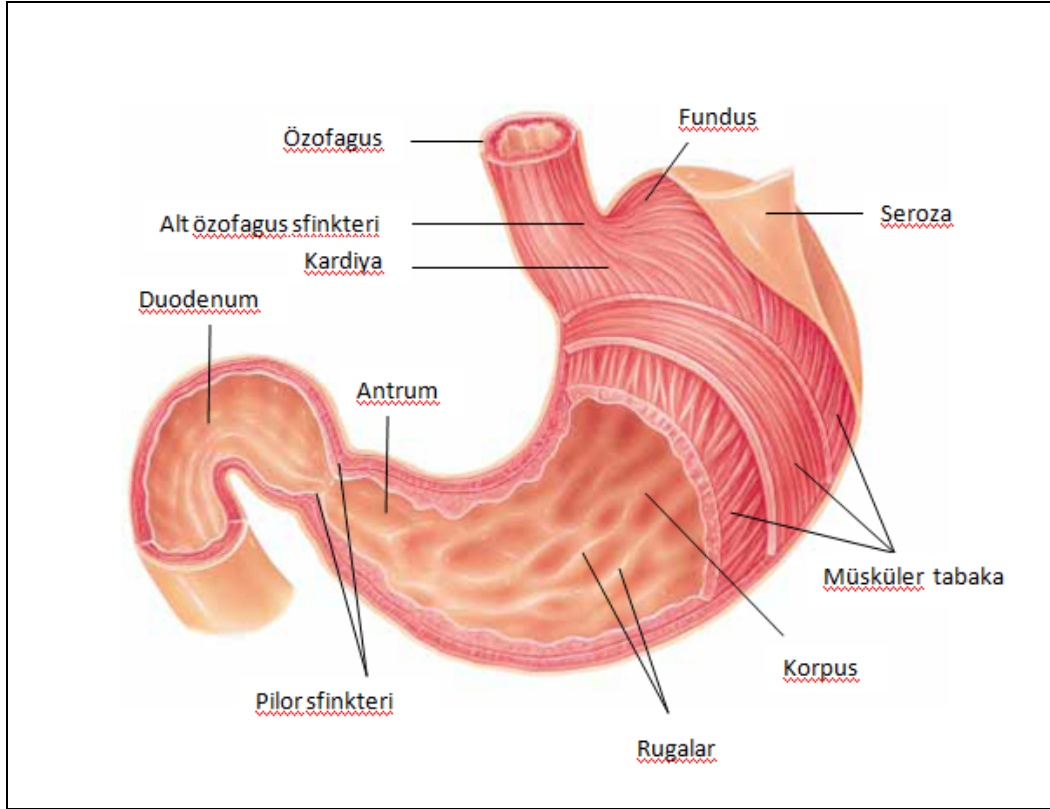
Mide, diyaframın hemen altındaki karın boşluğuna yerleşmiş olan sindirim kanalının en geniş bölümüdür (28). Karın orta hattında yerleşmesi ve boyutu nedeniyle karın içi birçok organla temas halindedir. Sol hipokondriyak bölgenin tamamını, epigastrik bölgenin büyük kısmını dolduran mide, üstte diyafragma ve altta transvers kolon ile komşudur. Ön yüzü büyük oranda karın ön duvarı ile olmak üzere, sol arkus kostalis, karaciğerin sol lobu ve diyafragma ile, arkada ise dalak, sol böbrek üstü bezi, sol böbreğin üst kısmı, lienal arter, bursa omentalis, pankreas ve transvers kolon ile komşudur (29).

Mide proksimalde özofagusa ve distalde duodenuma oldukça sabit olarak bağlı iken, uçlar arasındaki bölüm çok hareketlidir. Genelde “J” harfi şeklinde tanımlanmakla birlikte, şekli aynı şahısta bile mide içeriğinin miktarına ve vücudun pozisyonuna bağlı olarak önemli değişikliklere uğrar. Mide hacmi erişkinlerde, açlıkta birkaç yüz mililitre iken, gıda alımıyla 1.5-2 lt'ye kadar ulaşabilir (30).

Özofagus lümeninin mide lümeni ile birleştiği midenin üstteki açıklığına ostium kardiyakum, duodenuma açılan alttaki açıklığına ise ostium pilorikum denilir. Ostium kardiyakumda anatomik bir sfinkter bulunmamasına rağmen, mide içeriğinin özofagusa geri kaçmasına engel olan fizyolojik bir mekanizma vardır (29). Ostium pilorikum yaklaşık 2.5cm uzunluğunda bir kanal olup, midenin sirküler kas tabakası burada kalınlaşarak anatomik ve fizyolojik bir sfinkter olan pilor sfinkterini oluşturur (29)

2.1.2. Midenin Anatomik Bölümleri

Mide anatomik olarak 4 bölüme ayrılır: Kardiya, fundus, korpus ve pilor (Şekil-1) (31,32).



Şekil 1. Midenin bölümleri (31. kaynaktan değiştirilerek alınmıştır)

Kardiya: Midenin, özofagogastrik bileşkedeki sonraki ters çevrilmiş huni şeklindeki 1-2 cm'lik bölümüdür (28).

Fundus: Midenin, ostium kardiyakum düzeyinin üzerinde kalan kubbe şeklindeki bölümüdür. Fundus ostium kardiyakumun solunda, yukarı doğru uzanır ve genellikle gazla doludur.

Korpus: Midenin orta bölümüdür. Kardiya ve fundusun altında kalan ve pilora kadar olan bölümdür. Kurvatura ventrikuli minor ve kurvatura ventrikuli majör olmak üzere uzun ve kısa kenarları mevcuttur. Kurvatura ventrikuli minor midenin sağ kenarını oluşturmakta ve ostium kardiyakumdan pilora kadar uzanmaktadır. Kurvatura ventrikuli major ise ostium kardiyakumun solundan başlayıp, fundus kubbesinin üzerini ve midenin sol kenarını geçerek pilora ulaşır.

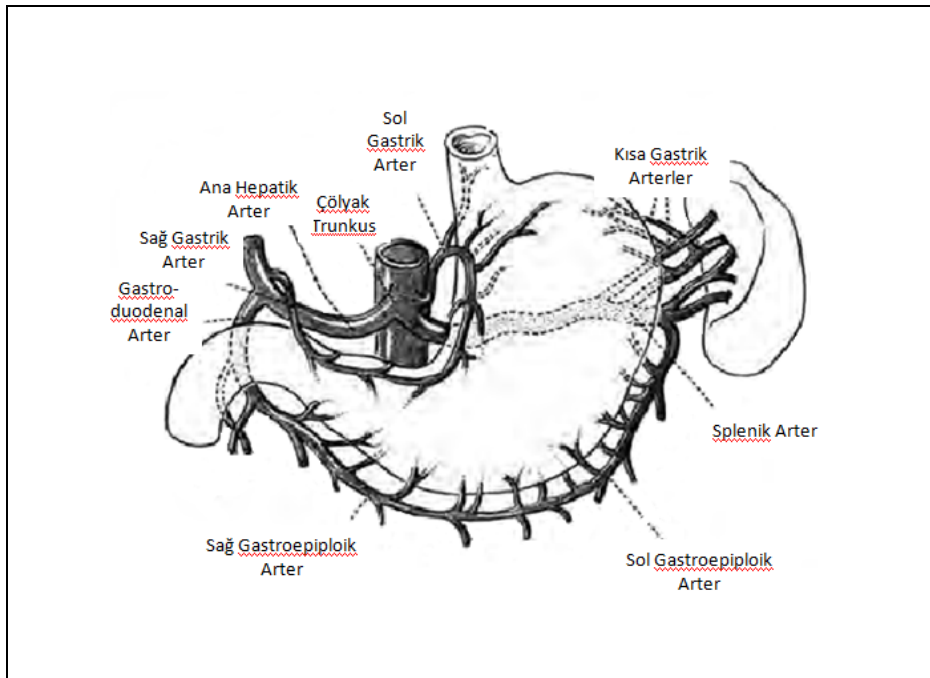
Pilor: Midenin duodenuma yakın distal ve tübüler bölümüdür. Antrum pilorikum ve kanalis pilorikus olarak adlandırılan iki alt bölümü vardır (29).

2.1.3. Midenin Kanlanması

Midenin arteriyel kanlanması abdominal aortadan çıkan çölyak trunkus aracılığıyla olur. Çölyak trunkusun dalları; splenik, sol gastrik ve ana hepatik arterlerdir. Bu büyük arterlerin dalları mide çevresinde yoğun anastomoz ağı oluşturur. Direkt olarak çölyak trunkustan ayrılan sol gastrik arter, özofagusu doğru yukarıya ve daha sonra küçük kurvatur boyunca aşağıya doğru uzanır. Özofagusun distal 1/3'ünü ve midenin ön ve üst bölgesini kanlandırır. Sağ gastrik, gastroduodenal ve sağ gastroepiploik arterler, hepatik arterden çıkarlar ve midenin sağ alt bölümü ile büyük kurvaturanın alt kısmını besler. Splenik arterden çıkan kısa gastrik ve sol gastroepiploik arterler ise fundus ve büyük kurvaturanın üst kısmını besler.

Midenin venöz drenajı doğrudan veya dolaylı olarak portal vene olur. Sağ ve sol gastrik venler küçük kurvaturu drene edip, doğrudan portal vene açılır. Fundusu ve büyük kurvaturanın üst kısmını drene eden kısa gastrik ve sol gastroepiploik venler ise splenik vene açılır. Büyük kurvaturanın alt bölümünü drene eden sağ gastroepiploik ven ise süperiyor mezenterik vene açılır.

Midenin submukozaal, müköler ve serozal lenfatik drenajları, mide arterlerini izleyerek, mide çevresindeki dört büyük noda drene olurlar: süperiyor gastrik nod, pankreatikolienal nod, inferiyor gastrik nod ve subpilorik nod. Bu lenf nodları da, çölyak lenf noduna drene olurlar (28,29).



Şekil 2. Midenin arteriyel kanlanması (28. kaynaktan değiştirilerek alınmıştır)

2.1.4. Midenin İnervasyonu

Mide, otonom sinir sisteminin sempatik ve parasempatik nöronlarınca inerve edilir. Sempatik inervasyonda, medulla spinalisin torakal 6. ve 12. vertebraları arasındaki ön köklerinden çıkarak büyük ve küçük splanknik sinirleri oluşturan nöral aksonlar çölyak gangliyonda sinaps yaparlar. Postgangliyonik lifler hepatik, splenik ve sol gastrik arterleri izleyerek mideye ulaşırlar ve intramural otonomik pleksusları oluştururlar. Sempatik sistemin aferent lifleri de, ters yönde eferent lifleri takip etmekle birlikte çölyak gangliyonda sinaps yapmaksızın spinal kordun arka kök gangliyonlarına ulaşır. Sempatik sistemin bu aferent lifleri, mideye ait viseral ağrının iletilmesinde görevlidir.

Midenin parasempatik inervasyonu vagus siniri ile sağlanır. Sol n. vagus'tan toraks içinde ayrılan trunkus vagalis anterior, özofagusun ön yüzünde abdomene girer ve midenin ön yüzünü innerve eden dallarına ayrılır. Ramus hepatikus denilen büyük bir dalı da karaciğere gider ve bundan ayrılan bir dal piloru innerve etmek üzere aşağı iner. Sağ n. vagus'tan toraks içinde ayrılan trunkus vagalis posterior ise özofagusun arka yüzünde abdomene girer. Daha sonra midenin arka yüzünü innerve eden dallarına ayrılır. Bu vagus sinirleri, pregangliyonik eferent ve viseral aferent lifleri içerir. Eferent lifler, midedeki değişik hücreleri inerve etmek için, mide duvarındaki kolinerjik ve peptiderjik nöronlar ile sinaps yaparlar. Vagal liflerle sinaps yapan mide duvarındaki bu gangliyonlar; myenterik pleksus (Auerbach) ve submukozal pleksus (Meissner) olarak bilinmektedir. Aferent vagal liflerin fonksiyonları ise yeterince bilinmemektedir.(28,29)

2.2. Mide Histolojisi

Midede anatomik olarak dört bölgede incelenmekle birlikte, fundus ve korpusun benzer mikroskopik yapılara sahip olmaları nedeniyle histolojik olarak üç bölgede incelenmektedir: kardiya, fundus-korpus ve pilor (33).

Mide duvarı, dört doku tabakasından oluşur. Bunlar:

- 1.Mukoza: Lamina epitelyalis, lamina propriya, lamina muskularis mukoza
- 2.Submukoza
- 3.Muskularis propriya
- 4.Seroza

Çıplak gözle mide soluk gri-pembe renklidir. Mide boş iken, mukoza ve submukozanın büzüşmesiyle oluşan ve ruga adı verilen, longitudinal katlantılar mevcuttur. Yiyecek alındığında rugalar düzleşerek, midenin besinlerle meydana gelen hacim değişikliklerine yardımcı olurlar.

Midenin yüzey epiteli olan tek katlı kolumnar epitel, mukoza içine girintiler yaparak gastrik çukurcuklar (pit, foveola) oluşturur. Bu gastrik pitlerin derinliği, kardiyadan pilora doğru gidildikçe artar. Gastrik pitlere lamina propriayada bulunan gastrik bezler açılır. Tek katlı yüzey epiteli, gastrik pitlere ve gastrik bezlere kadar uzanır. Ancak, bu bölgelerdeki farklı yapı ve fonksiyonları nedeniyle, aşağıda belirtileceği gibi, farklı isimler alır. Gastrik bezler ise basit tübüler veya dallı tübüler yapıda olup, bu tübüler yapılar muskularis mukozaya kadar uzanır.

2.2.1. Mukoza

1. Lamina epitelyalis

Mide yüzeyinin tamamı tek katlı kolumnar epitel ile döşenmiştir. Gastroözofageal bileşkede ise, distalde midenin tek katlı kolumnar epiteli ile proksimalde özofagusun çok katlı yassı epitelinin bulunduğu, lümeni çevreleyen düzensiz bir çizgi (Z-çizgisi) görünümündeki mukozal kesişme mevcuttur. Midenin yüzey epitelini oluşturan hücrelerin lümene bakan yüzeylerinde kısa ve kalın mikrovilluslar vardır. Sitoplazmasının apikale yakın bölümünde yoğun müsün granülleri mevcuttur. Hücrelerin yan yüzlerinde hücreler arası sıkı bağlantıları sağlayan zonula okludens ve zonula adherensler bulunur. Yüzey epitelyum hücreleri, gastrik pitlerin derinlerinde yer alan farklılaşmamış hücrelerin mitozuyla yenilenirler. Yüzey epitelinin üzerinde ise, bu hücrelerce salgılanan nötral yapıda kalın mukus tabakası mevcuttur. Mukus, asidin geri difüzyonuna karşı mukozayı korur. Ayrıca bu tabaka bikarbonat (HCO_3) iyonlarını tutarak mukusun yüzey epitel hücrelerine bakan yüzünde pH'yı yükseltir (34).

2. Lamina propriya

Epitelin altında yer alan, vasküler yapıları, lenfatikleri ve sinirleri içeren gevşek bir bağ dokusudur. Gevşek olarak bulunan kollajen ve retiküler lifler arasında dağınık halde lenfositler, plazma hücreleri, mast hücreleri ve az miktarda düz kas hücreleri mevcuttur. Gastrik pitler, lamina propria içerisine uzanıp, mide bezlerini

oluşturulur. Bu bezler midenin kardiya, fundus ve pilor bölgelerinde farklı özellik gösterirler.

Kardiyadaki bezleri oluşturan hücreler esas olarak mukus salgılayan hücrelerdir. Az miktarda pariyetal hücre ve enteroendokrin hücreye rastlanabilir. Fundus bezleri, fundus ve korpusta bulunur. Midede en geniş yeri kaplayan bezler olması nedeniyle, mide mukozası tarafından salgılanan enzim ve asidin çoğunu üretirler. Bu bölgedeki bez epitelinde; mukus, asid, enzim ve hormonları üreten farklı hücre tipleri mevcuttur. Fundus bezleri; istmus, boyun ve bazal olmak üzere üç ayrı bölgeye ayrılır (33,34).

Fundus bezlerinde bulunan hücreler:

- Boyun mukus hücreleri

Yüzey mukus hücrelerine benzer olarak, gastrik bezlerin boyun bölgesinde yerleşen boyun mukus hücreleri de, ürettikleri mukusu ekzositoz yoluyla lümene verirler. Mukus üretimin yanı sıra, yüzey mukus hücreleri, pariyetal hücreler, esas hücreler ve endokrin hücreler için prekürsör kök hücre görevi görmektedir.

-Pariyetal (oksintik) hücreler

Pariyetal hücreler, fundus bezlerinin boyun bölgesinden bezlerin tabanına kadar, hücreler arasına tek tek veya küçük gruplar halinde dağılmış asidofilik hücrelerdir. Bu hücreler, yoğun nükleuslu ve piramidal görünümündedir. Diğer hücre tiplerinde izlenmeyen bir özelliği, intraselüler kanaliküllerin varlığıdır. Sitoplazmada kanaliküllere komşu olarak sıkı paketlenmiş tubuloveziküller görülür. Tubulovezikül sisteminin yüzeyi, muhtemelen hücre membran rezervi olarak görev yapar. İstirahat halindeki pariyetal hücrelerde tubuloveziküller çok sayıda iken, kanaliküller ise az mikrovillus içerir. Asit salgısı sırasında ise, kanaliküllerde mikrovillus sayısı artar, tubuloveziküller azalır. Bu şekilde sitoplazmadaki tubuloveziküller ve yüzeydeki mikrovilluslar arasında membran değişimi olduğu düşünülmektedir. Pariyetal hücrelerden hidroklorik asid (HCl) sekresyonun yanı sıra, vitamin B12 emilimi için gereken intrinsek faktör (IF) ve gastrik epitelinin çoğalması ve farklılaşması için gereken transforming growth faktör- α (TGF- α) da sentezlenir (28, 34).

- Esas (zimojenik) hücreler

Esas hücreler, belirgin olarak gastrik bezlerin alt 1/3'ünde yer alır. Sitoplazmanın apikal bölümünde yoğun olarak pepsinojen içeren granülleri vardır.

Hücreler uyarıldıklarında pepsinojeni mide lümenine verirler. Pepsinojen, midenin asit ortamında, aktif enzim olan pepsine dönüşür. Pepsin ise proteinleri peptidlere hidrolize eder (28).

- Enteroendokrin hücreler

Enteroendokrin hücreler, çoğunlukla pilorik antrumdaki bezlerde ve bezlerin bazalinde yer alan, salgıladıkları hormonlarla parakrin özellik gösteren hücrelerdir. Enteroendokrin hücreler sadece mide mukozasında değil, duodenum başta olmak üzere tüm barsak epitelinde ve sınırlı miktarda karaciğer ve pankreasın ana kanal epitellerinde de bulunurlar. Bu hücreler; enterokromafin-like (EKL) hücreler, G hücreleri ve D hücreleridir (28,34,35).

Enteroendokrin hücrelerin çoğunluğu antral bezlerde bulunurken, EKL hücreler fundus bezlerinde ve bezdeki paryetal hücrelerin yanında dağınık olarak bulunurlar. Bezin lümeni ile bağlantısı olmayan EKL hücreleri, esas olarak histamin granülleri içerirler. Bu bezlerden salgılanan histamin ise, parakrin etki ile pariyetal hücrelerden gastrinle uyarılan asit sekresyonunda görev alır. G hücreleri antrum bezlerinin orta kısmında yer alır. Vagal uyarı, antrumun distansiyonu ve aromatik aminoasitlerin lümeninde bulunmasıyla uyarılan G hücreleri kan dolaşımına gastrin sekrete ederler. D hücreleri fundus ve antrum bezlerinde yer alıp, bir peptid olan somatostatin içerir. Somatostatin parakrin etki ile bezlerdeki diğer hücreler üzerine inhibitör etki gösterir (28).

Pilorik bezler, pilorik antrum ve kanalda bulunurlar. Bu bölgedeki bezlerde çoğunluğu oluşturan hücreler, boyun mukus hücrelerine benzeyen mukus salgılayan hücrelerdir. Bunun yanı sıra epitelyum arasında birkaç pariyetal ve G hücresi başta olmak üzere enteroendokrin hücreler mevcuttur (34).

3. Lamina muskularis mukoza

Lamina muskularis mukoza bezlerin altında uzanan ince bir düz kas tabakasıdır. İçte sirküler, dışta longitudinal seyirlidir. Bazen üçüncü bir tabaka sirküler olarak en dışta yer alabilir. En içteki sirküler tabakadan, gastrik bezlerin arasına düz kas lifleri uzanır. Bunlar kontraksiyonları aracılığı ile gastrik bezlerin boşalmasına yardım ederler (30).

2.2.2. Submukoza

Submukoza tabakası, kalın kollajen demetleri ve ince elastik fibrilleri içeren gevşek bir bağ dokusudur. Bu doku içerisinde, fibroblastlar, lenfosit, plazma hücreleri, yağ hücreleri ve az miktarda mast hücreleri yer alır. Bu tabakada ayrıca, kan ve lenf damarları ile otonom sinir pleksusları (Meissner) yer alır (33,34).

2.2.3. Muskularis Propriya

Muskularis propriya, dışta longitudinal, ortada sirküler ve içte oblik olmak üzere üç kas tabakasından oluşur. Pilor düzeyinde, orta sirküler tabaka kalınlaşarak sfinkteri oluşturur (34).

2.2.4. Seroza

Mide duvarını en dış tabakası olan seroza, tek katlı yassı mezotelyal hücreler ve bu hücrelerin altındaki destek dokudan (subseroza) oluşmaktadır. Büyük ve küçük kurvaturdaki seroza büyük ve küçük mezenterlerle (omentum) devam eder. (34).

2.3. Mide Fizyolojisi

Alınan besinler, gastrointestinal sistemde motilite, sekresyon, sindirim, absorpsiyon ve eliminasyon gibi fizyolojik süreçlere neden olurlar (36). Besinlerin ağızdan alınmasını takiben midede oluşan fizyolojik olaylar özetlenecek olunursa; yemeğin sefalik fazında parasempatik inervasyonuna bağlı midede sekresyon artışı ve fundusta relaksasyonun başlaması, peristaltizm ile özofagus distaline ulaşan besinlerin alt özofagus sfinkterinin gevşemesiyle mideye geçişi, besinlerin midede yol açtığı distansiyona fundus relaksasyonu ile uyum sağlanması ve besinlerin depolanması, müküler aktivitesi ile besinlerin kimus adı verilen visköz bir kitle haline getirilmesi, pepsin enzimi ile protein sindiriminin başlatılması, kimusun barsağa geçişinin uygun bir hızda düzenlenmesi şeklindedir (36-38). Burada midenin sekretuar fizyolojisi üzerinde durulacaktır.

2.3.1. Gastrik Sekresyon

Mide esas olarak HCl salgılamakla birlikte, pepsinojen, mukus, HCO_3^- , intrinsek faktör (İF), PG ve düzenleyici peptidler de salgılar. Bu sekresyon görevinde, değişik gastrik bez hücreleri, inervasyon ve vasküler kanlanma görev alır.

2.3.1.1. Asid Sekresyonu

Pariyetal hücrelerden HCl salınımı, bazal veya uyarılmış asid sekresyonu olarak incelenir. Açlıktaki (bazal) veya yemek sonrasındaki (uyarılmış) asid salınımı için temel uyarılar, vagal uyarı (asetilkolin), gastrin ve histamindir. Besinlerin uyardığı asid salınımı üç fazda incelenir: sefalik, gastrik ve intestinal. Sefalik faz, besin maddesinin görülmesi, tadılması, koklanması, çiğnenmesi ve yutulması ile başlar. Bu fazda santral sinir sisteminden kaynaklanan uyarılar vagal sinirdeki parasempatik lifler aracılığı ile submukozal pleksuslara ulaşır ve kolinerjik etki ile asetilkolin (ACh) salınımına neden olur. Asetilkolin, bir taraftan asit salgılayan pariyetal hücreleri doğrudan etkileyerek, diğer taraftan da antrumdaki G hücrelerini uyarıp sirkülasyondaki gastrin düzeyini arttırarak asid salınımını sağlar. Gastrik fazda, besinlerin mideye inmesiyle oluşan fundus ve korpusun distansiyonu bu bölgelerden asid sekresyonunu arttırırken, mide içerisinde pepsin ile parçalanan proteinlerden açığa çıkan aminoasitler de, özellikle aromatik aminoasitler olmak üzere, antrumda G hücrelerinin apikal yüzeyindeki reseptörlere bağlanıp, bu hücrelerin bazal yüzeyinden sirkülasyona verilen gastrin düzeyinde artışa neden olurlar. Bu şekilde iki yönlü asid sekresyonu arttırılmış olur. İntestinal faz, besinlerin proksimal ince barsağa geçmesiyle başlar. Bu fazdaki asid sekresyonu için uyarılar, barsağın distansiyonu, proteinler ve sindirilmiş protein ürünlerinin ince barsaktaki G hücrelerinden gastrin salgılanmasını arttırdığı düşünülmekle birlikte, gastrinin bu fazdaki yeri tartışmalıdır. Zira, vagotomili hayvanlarda intestinal beslenmenin asid sekresyonunu uyardığı görülmüş ve serum gastrin düzeyi artmaksızın, sirkülasyondaki aminoasitlerin asid sekresyonunu uyarabileceği düşünülmüştür (39).

Pariyetal hücre düzeyindeki asid sentezi için öncelikle, ligand olarak asetilkolin, gastrin veya histaminin hücre yüzeyindeki reseptörlerine (sırasıyla, muskarinik, gastrin ve histamin- H_2) bağlanması gerekir. Asid sentezini baskılayan somatostatinin de pariyetal hücre yüzeyinde reseptörü-CCK2 mevcuttur. Bütün bu

reseptörler G protein ailesindedir. Ligandların reseptöre bağlanması ile hücre içi postreseptör sinyal yolları; siklik adenosin monofosfat (cAMP) veya inositol fosfolipid yoludur. Somatostatin ve histamin uyarıları hücre içinde cAMP aracılığı ile iletilirken, gastrin ve asetil kolin uyarıları inositol fosfolipid yolu ile iletilir. Sonuçta her iki yol da protein kinaz C'nin (PKC) aktiflenmesi veya inhibe edilmesi ile sonuçlanır. Somatostatin uyarısı PKC'yi inhibe ederken, diğerleri aktive ederler. İstirahat halindeki pariyetal hücrede intraselüler kanaliküler sistem kollaps halinde ve sitoplazmik tübüloveziküller proton pompası olan H^+,K^+ -ATPaz ile doludur. Protein kinaz C'nin aktive olması ile uyarılan pariyetal hücrede ise, tübüloveziküller kanaliküller ile birleşip kaybolurken, intraselüler kanaliküller ve mikrovillusleri belirginleşir. Bu şekilde, H^+,K^+ -ATPaz, K^+ iyonunu hücre içine alıp, H^+ iyonunu hücre dışına pompalamak üzere veziküller membrandan kanaliküler membrana geçmiş olur (39).

Hücre içerisinde ise, gerek hücre içi metabolizma sonucu açığa çıkan, gerekse kandan difüzyon yolu ile hücre içine giren karbondioksit (CO_2), karbonik anhidraz enzimi aracılığı ile su (H_2O) ile birleşerek karbonik asit (H_2CO_3) meydana getirir. Hücre içi suyun dissosiyasyonu ile hidrojen iyonu (H^+) ve hidroksil iyonu (OH^-) meydana gelir ($H_2O \rightarrow OH^- + H^+$). Hücre içerisinde oluşan H^+ iyonu kanaliküler membrandaki proton pompaları ile (H^+,K^+ -ATPaz) intraselüler kanaliküle atılır. Pariyetal hücrede kanaliküllere, dolayısıyla mide lümenine proton pompaları ile salınan izotonik HCl pH'sı 0.8 iken, hücre içi pH 7.2 dolaylarındadır. Hücre içinde kalan OH^- ile H_2CO_3 birleşerek H_2O ve HCO_3^- meydana getirir ($H_2CO_3 + OH^- \rightarrow H_2O + HCO_3^-$). Bikarbonat iyonu bazolateral yüzeyden kana geri dönerken, bu iyonun yerine kandan Cl^- hücre içine alınarak aktif transportla intraselüler kanaliküle verilir. İntraselüler kanaliküle ayrı ayrı verilen H^+ ve Cl^- burada birleşerek HCl'yi oluşturur (40). Mide bezi düzeyinde bazolateral yüzden kana verilen HCO_3^- ise, mikrosirkülasyon ile mide yüzey epiteline ulaştırılır ve mukus tabakası altında alkali ortam sağlar (39).

Bu şekilde sentezlenen HCl'nin midede birçok fonksiyonu vardır. Bunların en önemlisi inaktif pepsinojenin aktif pepsine çevrilmesidir. Ayrıca, pepsin enziminin fonksiyonu için gerekli asiditeyi sağlar. Hidroklorik asidin bunlardan başka bazı mineralleri (örneğin kalsiyum, demir) indirgeyerek barsaklardan emilimlerini

kolaylaştırmak, sütteki kazeinojeni kazein haline dönüştürmek, besinlerle vücuda giren bakterilerin yaşamalarını ve üremelerini engellemek gibi fonksiyonları da vardır (40).

2.3.1.2. Midenin Diğer Sekresyon Ürünleri

Histamin: Midedeki EKL ve mast hücrelerinden sentezlenen histamin, gastrin gibi sekretegogların uyarıcı etkilerinin bir kısmına aracılık ederek, pariyetal hücrelerden asid sekresyonunu regüle eder. Gastrin de, bir taraftan pariyetal hücreye etki ile asid salınımını arttırırken, diğer yandan kendisinin pariyetal hücrelerdeki uyarıcı etkisine aracılık edecek olan histaminin EKL hücrelerden salınımını arttırmaktadır. Gastrin, histamin sentezini uyarmasının yanı sıra, EKL hücrelerinde proliferasyona da neden olmaktadır. Bu durum hipergastrinemiye bağlı gelişen karsinoid tümör patogenezi açıklamaktadır (39).

Pepsinojen: Mide bezlerinin tabanında yer alan esas hücrelerden, yemek alımına cevap olarak inaktif proenzim olarak pepsinojen salgılanmakta ve asidik mide sıvısında aktif formu olan pepsine dönüşmektedir. Esas hücrelerin apikal granüllerinde pepsinojen paketlenip depolanmakta ve uyarılar ile lümene verilmektedir. Pepsin aspartik proteazlar sınıfından bir proteolitik enzimdir. Özellikle kollajenler olmak üzere proteinleri sindirir ve peptidlere dönüştürür. Midede açığa çıkan peptidler ise gastrin ve kolesistokinin gibi hormonlar için uyarıcı görevindedirler. Pepsinojen salınımı için esas hücrelere uyarı, temel olarak asetil kolin aracılığı ile olmaktadır. Gastrinin uyarıcı etkisi zayıf iken, histaminin etkisi tartışmalıdır (39).

Mukus: Gastrik mukozayı asid, pepsin, safra tuzları ve alkol gibi hasarlayıcı ajanlardan koruyan mukus bariyeri, müsin, HCO_3 , yüzey fosfolipidleri ve sudan oluşmaktadır. Müsin serin, treonin ve prolin gibi aminoasidlerin glikozillenmesiyle oluşan yüksek molekül ağırlıklı bir glikoprotein olup, yüzey mukus hücreleri, boyun mukus hücreleri ve glandüler mukus hücrelerinde sentezlenir. İlginç olarak, başta gastrin olmak üzere asid sentezini arttıran sekretegoglar, diğer taraftan da buna paralel olarak mukus sentezini de uyarırlar. Bunların salınımını uyarıp, mukus tabakasının kalınlığını arttırırlar (39).

Bikarbonat: Mide ve duodenumdaki yüzey epitel hücreleri tarafından salgılanır. Salgılanan HCO_3^- 'ün bir kısmı lümeneye erişmesine rağmen, büyük bir kısmı mukusun altında veya mukusun içerisinde kalır. Bundan dolayı mukozal yüzeyin pH'sı mide lümen pH'sına göre daha yüksektir. Bu durum lümen ve yüzey epitel hücreleri arasında bir pH gradientine neden olur. Lümen pH'sı 2 iken mukozal pH 7 civarındadır. Beslenme, lümenal asid düzeyi ve vagal uyarı HCO_3^- sekresyonunu arttırırken, gastrin ve histaminin etkisi yoktur (39).

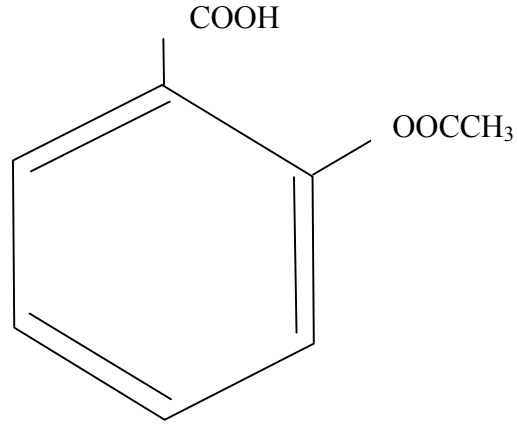
İntrensek faktör: Kobalamine (vitamin-B12) bağlanıp, emiliminde rol oynayan ve gastrik bezlerdeki başta pariyetal hücreler olmak üzere, esas hücreler ve enteroendokrin hücreler tarafından sentezlenen 45-kDa'luk bir glikoproteindir. Gastrin, asetilkolin ve histamin İF sentezini, asid sentezinden bağımsız olarak uyarır. Öyle ki, proton pompa inhibitörlerinin kullanılması, asit sentezini baskımlarken, İF sentezini etkilemez (39).

Prostaglandinler: Prostaglandinler, membrana bağılı fosfolipidlerin fosfolipaz A2 ile araşidonik aside dönüştürülmesi, araşidonik asidin de siklooksijenaz enziminin parçalanması sonucu ortaya çıkan 20 karbonlu yağ asidi deriveleridir. Mide mukozasında PGE2 ve PGI2 sentez ve sekrete edilir. Gastrik PG'ler parakrin etki ile pariyetal hücrelerden asid sentezini inhibe ederler. Bunun yanı sıra, gastrik sıvıda bulunup lümenal hormon görevi ile, mukus ve HCO_3^- sentezini uyarır, mukozal kanlanmayı arttırır, H^+ iyonun geri difüzyonunu azaltır ve mukozal hücre yenilenmesini uyararak mukozal savunmaya yardımcı olur. Bu nedenle nonsteroid antiinflatuvar ilaçlar gibi siklooksijenaz inhibitörlerinin kullanılması, PG'leri azaltarak mukozal hasara neden olurlar (39).

2.4. Asetilsalisilik Asit (ASA, Aspirin)

Asetilsalisilik asit, NSAİİ grubunun bir üyesi ve prototipidir. Kimyasal formülü $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$ olup, molekül ağırlığı 180.2 g/mol'dür (Şekil 3) (41).

Emilimi oldukça hızlıdır. Yeterli kan düzeyine yaklaşık 30 dk'da ulaşır ve 1-2 saatte pik yapar. Plazma yarılanma ömrü yaklaşık 15-20 dk'dır. Oral alım sonrası ASA'nın bir kısmı mide asit ortamında, kalan büyük kısmı ise ince barsak proksimalinde emilir. Emilim sonrası tüm vücut sıvılarına dağılır. Vücuttan salisilürük asit ve salisik asit olarak idrarla atılır (42).



Şekil 3: Asetilsalisilik asitin kimyasal yapısı (42. Kaynaktan değiştirilerek alındı).

Tedavide, ASA ve diğer NSAİİ'ler temelde inflamasyonun baskılanması için kullanılır. Antiinflamatuvar özelliklerinin yanı sıra, analjezik, antipiretik ve antiagregan özelliklerinden de yararlanır. Tüm bu etkilerini, COX ve peroksidaz aktiviteleri içeren iki fonksiyonlu enzim olan prostaglandin H₂ sentazın COX kısmına bağlanarak inhibe etmesi ve bu yolla PG sentezini baskılaması ile gösterirler. Zira, memeli organizmalarda PG'ler, araşidonik asitten COX enzimleri aracılığı ile üretilirler. Asetilsalisilik asit, COX üzerindeki bir serin grubunu asetilleyerek yapısını değiştirir ve araşidonik asit COX enzimine bağlanamaz. Bu şekilde PG yapımı geriye dönüşümsüz olarak engellenir. Diğer NSAİİ'lerin COX enzim inhibisyonu ise geri dönüşümlüdür. Memelilerin hücrelerinde COX'lerin iki izoenzimi mevcuttur: prostaglandin endoperoksid H₂ sentaz-1 ve -2 (COX-1 ve COX-2). COX-1 vücut dokularının çoğunda bulunan temel izoenzimdir. Gastrik sitoproteksiyon, vasküler hemostaz, renal fonksiyonlar ve trombosit agregasyonu gibi süreçlerde düzenleyici görevleri olan koruyucu PG'lerin üretiminde görev alır. COX-2 ise, sıklıkla inflamasyonlu dokularda baskındır ve inflamatuvar süreçte görev alan PG'lerin üretiminde görev alır. (43). Aspirin ve NSAİİ'lerin çoğunluğu nonselektif olup, hem COX-1, hem de COX-2'yi inhibe ederler. Sağlanan COX-2 inhibisyonu ile başta antiinflamatuvar etki olmak üzere tedavi hedeflerine ulaşmakla birlikte, COX-1'in inhibisyonu ile gastrik sitoproteksiyonda ve renal perfüzyonda azalma gibi istenmeyen yan etkilere de neden olabilmektedir. Bu

nedenle antiinflamatuvar etki için COX-2'ye selektif NSAİİ kullanıma girmiştir. Bununla birlikte, ASA düşük dozdaki antiagregan etkisi nedeniyle kardiyovasküler hastalıklarda kullanılan temel ilaçtır. Bu nedenle sıkça kullanılan ASA'nın COX-1 inhibisyonu ile bir yandan istenen antiagregan etkisinin yanı sıra, yine COX-1 inhibisyonu nedeniyle, düşük dozlarda bile gastrik mukozada hasara ve gastrointestinal kanamaya neden olabilme potansiyeli mevcuttur (4-7).

2.4.1. Asetilsalisilik Asidin Mide Mukozasına Etkileri

Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların gastrik mukozadaki hasarları; peteşi, erozyon ve yüzeysel küçük ülserler şeklindeki yüzeysel hasarlar ile klinik ülserler şeklinde sınıflanabilir. Klinik çalışmalarda kronik NSAİİ kullananların endoskopik incelemesinde, yaklaşık %35'inde normal görünüm, %50'sinde peteşi veya erozyon ve %5-30'unda ülser saptandığı bildirilmiştir (45,46). Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların neden olduğu gastrik mukozal hasarın nedeni, esas olarak bu ilaçların sistemik etkilerine, bir miktar da mukozaya doğrudan olan lokal etkilerine bağlıdır. Sistemik etkileri, COX-1 inhibisyonu yapmaları ve buna bağlı PG'lerin sentezinin engellenmesidir. Zira selektif COX-2 inhibitörlerinin kullanılması ile gastrik mukozal hasar gelişmeden, istenen antiinflamatuvar etki sağlanabilmektedir (47,48). Prostaglandinlerin gastroprotektif etkileri daha önce de belirtildiği gibi, pariyetal hücrelerdeki adenilat siklaz enzim aktivitesini baskılayıp asit salgısını azaltması, mukus ve HCO₃ sentezini uyarıp H⁺ iyonun geri difüzyonunu azaltması, vazodilatatör etki ile mukozal kanlanmayı artırıp mukozal hücre yenilenmesini uyarması şeklindedir (39). Asetilsalisilik asit kullanımı ise, gastroprotektif özellikleri olan PG sentezini sistemik yoldan azaltarak; asid sekresyonunun artmasına, mukus tabakasının incelmeye ve HCO₃ sentezinin azalmasına, böylelikle H⁺ iyonun geri difüzyonunun artmasına, mukozal kan akımını bozarak iskemiye neden olur (26,49). Diğer yandan, iyonize olmayan zayıf asid özellikleri nedeniyle gastrik bariyere serbestçe pentre olup mukozal hücrelerde birikir ve doğrudan lokal hasara neden olabilir (50).

2.5. Kefir

Kefir, kökeni Kuzey Kafkasya bölgesindeki dağlara dayanan fermente bir süt içeceğidir. Türkçe “keyif” kelimesinden türediği düşünülmektedir. Kefiri diğer süt ürünlerinden ayıran özelliği, kefir taneleri denilen biyolojik olarak canlı organizmalarından elde edilmesidir (51). Dolayısıyla, sağlığa yararlı mikroorganizmalar içeren gıda anlamına gelen “probiyotik” ürünlerin bir örneğidir (17-19).

Kaynatılıp 25 °C’ye kadar soğutulan 1 litre kadar süte 15-20 gram kefir tanesi katılıp, 25-30 °C’de 12-24 saat bekletilmekle kefir elde edilir. Kefir taneleri, simbiyotik bir ilişki içerisinde olan laktik asit bakterileri ve mayalar tarafından oluşturulan kompleks bir mikrobiyolojik yapıya sahiptir. Bu mikrobiyolojik yapı, laktobasillus türlerinin kapsüler polisakkaritlerinden (eksopolisakkarit) oluşan “kefiran” isimli jel kıvamındaki, suda çözünen glukogalaktan yapılu polisakkarit matriks içine gömülü olarak bulunur. Kefir taneleri bu kompleks içeriği ile, sütün asit-alkolik bir fermentasyonuna neden olurlar. Böylece sütün laktoz içeriği azalır, değişik oranlarda laktik, formik, süksinik ve propiyonik asitler, CO₂, etil alkol, çeşitli aldehitler, izoamil alkol ve aseton ortaya çıkar ve kefir oluşur (52).

Kefir tanelerinde, değişik çalışmalarda oldukça çeşitli türlerde bakteri ve mantarlar izole edilmiştir. İzole edilen bu mikroorganizmalar sıklıkla, laktik asit bakterileri (*Lactobacilli* ve *Streptococcus lactic*), asetik asit bakterileri (*Acetobacter*) ve mayalardır. Kefir tanelerindeki popülasyonun %90’ından fazlasını değişik laktobasil türleri (*Lactobacilli*, *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. kefir*, *L. kefiranofasiens*, *L. kefirgranum*, *L. laktis*, *L. parakefir*, *L. plantarum* vb.) oluşturur. Laktobasiller dışında, *Leuconostoc* subs, *Streptococcus thermophilus* ve *Acetobacter aceti* gibi bakteriler de mevcuttur. Kefir içerisinde bulunan belli başlı mayalar ise, *Candida kefir*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Torulospira delbrueckii*, *Saccharomyces exiguus*, *Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces turicensis*, *Pichia fermentans*, *Yarrowia lypolytica*’dır (52). Çalışmalarda, kefir tanelerinin yapısındaki hakim mikroorganizmaların farklı farklı saptanması, süt kaynaklarının farklılığı, kefir tanelerinin kültür şartları ve farklı mevsimlerde eldesi gibi koşullara bağlı olduğu düşünülmektedir (51).

2.5.1. Kefirin Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkileri

Kefirin gastrointestinal sistem üzerindeki en önemli etkisi barsak florası üzerinedir. Sıçanlarla yapılan çalışmalarda barsaklarda laktik asit bakterileri artarken, postoperatik septik komplikasyonlarda önemli rolü olan gram (-) anaerobik bakteri sayısında azalma olur. Kefirin içerdiği mikroorganizmalar tarafından üretilen laktik asit ve çeşitli bakterisidler, salmonella, helikobakter, E. Coli gibi çeşitli patojenlerin yıkımında ve çoğalmasının inhibisyonunda rol oynar (52). Bunun dışında kefirin, immünmodülatuvar, östrojen bağımlı tümörlerde antitümöral, radyasyonla indüklenen apoptozda antiapoptotik, gıda antijenlerine karşı intestinal permeabilityi azaltarak antialerjik ve lipid peroksidasyonunu azaltarak antioksidan özelliklerinin olduğuna dair bildiriler mevcuttur (53-60).

Laktik asid içeren probiyotiklerin, gastrik mukoza üzerine olan etkileri ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Son yıllardaki çalışmalarda, değişik probiyotik içerikli fermente süt ürünlerinin ilave edilmesinin Hp eradikasyon başarısını arttırdığı ve gastrik mukozal hasar skorunu azalttığı bildirilmektedir (23-25,61-63). Ancak bu probiyotiklerin, Hp eradikasyonundan bağımsız olarak gastrik mukozal hasar üzerine etkileri açık değildir. Yine, ticari ürün olarak sıkça tüketilen ve antioksidan özelliği de olan kefirin, gastik mukoza üzerine etkileri araştırılmamıştır.

3. MATERYAL VE METOD

Çalışma Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınarak, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvan Laboratuvarı ve Biyokimya Anabilim Dalı ile Namık Kemal Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Hayvan Laboratuvarı'ndan temin edilen 8-12 haftalık, ağırlıkları 156-246 g arasında olan 32 adet erkek Wistar-Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar deneyden 1 hafta önce temin edilerek ortama uyumu sağlandı. Sıçanların bakımı, Tıbbi Araştırmalar Ulusal Derneği tarafından biçimlendirilen "Deney Hayvanlarının Bakım Prensipleri" ne ve Laboratuvar Hayvanı Kaynakları Enstitüsü tarafından hazırlanıp Ulusal Sağlık Enstitüsü tarafından yayınlanan (NIH basım no.85-23, 1985 revize edildi) "Laboratuvar Hayvanlarının Bakım ve Kullanımı için Kılavuz" unda belirtilen esaslara uygun olarak, Deneysel Hayvan Laboratuvarı'nda havalandırması olan, mevsimsel gün ışığı ritmindeki 22-24 °C sıcaklığında ve %50-60 nem oranındaki odalarda, özel kafesler içinde yapıldı. Standart sıçan pellet yemi ve çeşme suyu ile beslendi.

3.2. Kefirin Hazırlanması

Lactobasillus ssp., Leuconostoc ssp, Lactococcus lactis ssp. lactis, Streptococcus thermophilus ve kefir mayası içeren Danisco®, Poland isimli ticari kefir kültürü, steril süt ile karıştırıldı ve 26 °C'de 16 saat etüvde bekletilerek kefir elde edildi.

3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneyin Yapılması

Deneyden bir gün önce 32 sıçan rastgele seçilerek eşit sayıda 4 gruba ayrıldı.

Kontrol grubu (A) (n:8): Yedi gün boyunca standart sıçan yemi ve çeşme suyu alırken, aynı zamanda günde bir defa, sabah saat 9-10 arasında oral gavaj yoluyla 2 ml serum fizyolojik (SF) verildi. Sekizinci gün 2 cc SF verilip, intramüsküler 100 ml/kg ketamine hydrochloride (Ketalar®, Parke-Davis, Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve 25 mg/kg xylazine hydrochloride (Rompun®, Bayer, Almanya) verilerek sakrifiye edildi ve mide dokusu alındı.

ASA grubu (B) (n:8): Yedi gün boyunca standart sıçan yemi ve çeşme suyu alırken, aynı zamanda günde bir defa, sabah saat 9-10 arasında oral gavaj yoluyla 2 ml serum fizyolojik (SF) verildi. Sekizinci gün 200 mg/kg dozunda ASA oral gavaj yoluyla verilip, 3. saatte verilerek sakrifiye edildi ve mide dokusu alındı.

Kefir grubu (C) (n:8): Yedi gün boyunca standart sıçan yemi ve çeşme suyu alırken, aynı zamanda günde bir defa, sabah saat 9-10 arasında oral gavaj yoluyla 2 ml kefir verildi. Sekizinci gün 2 cc SF verilip, sakrifiye edildi ve mide dokusu alındı.

Kefir + ASA grubu (D) (n:8): Yedi gün boyunca standart sıçan yemi ve çeşme suyu alırken, aynı zamanda günde bir defa, sabah saat 9-10 arasında oral gavaj yoluyla 2 ml kefir verildi. Sekizinci gün 200 mg/kg dozunda ASA oral gavaj yoluyla verilip, 3. saatte sakrifiye edildi ve mide dokusu alındı.

3.4. Doku Örneklerinin Alınması

Sıçanlar sakrifiye edildikten sonra, mideleri özofageal ve duodenal uçları karışmayacak şekilde işaretlenerek çıkarıldı. Büyük kurvatura yönündeki kesi ile kardiyadan pilora kadar mide açıldı. Mide iç yüzeyi serum fizyolojik ile yıkandı ve milimetrik kağıt üzerine kenarları kürdan ile sabitlendi. Mukozası hemoraji, erozyon ve ülser açısından makroskopik olarak incelendi ve her bir midenin dijital fotoğrafı çekildi. Mukozanın makroskopik incelemesinde hasar skoru, Coleman ve ark.'nın tanımına uygun olarak yapıldı (64).

Makroskopik olarak gastrik mukozal hasar evrelemesi

0 puan: Normal

1 puan: Hafif ödem ve konjesyon

2 puan: Ödem, konjesyon ve kanama

3 puan: 1-2 spot erozyon

4 puan: 1-2 lineer erozyon

5 puan: Birçok küçük ve birkaç büyük erozyon

6 puan: Tüm mukoza boyunca yaygın erozyon

Makroskopik inceleme sonrası, korpus bölgesinden yaklaşık 1 cm²'lik 2 doku parçası alındı. Parçalardan birisi histopatolojik inceleme için %10'luk nötral tamponlu formol içine, diğer parça ise 50 mM fosfat tamponu dolu ependorf tüplerine konuldu ve analizin yapıldığı tarihe kadar -80 C⁰'de saklandı.

3.5. Örneklerin Homojenizasyonu ve Deney için hazırlanması

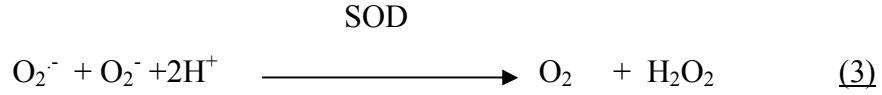
Mide dokusu tartılarak 1/9 oranında soğuk fosfat tamponuyla (100mmol/L, pH:7.4) buz üzerinde, homojenizatörle (Ultra-Turrax T25, Almanya) 10.000 devirde 3 dakika süreyle homojenize edildi. Bu süre sonunda elde edilen %10 luk homojenatlar 30 saniye süreyle sonifikiye edilerek 10.000 g' de +4°C de santrifüj edildi. Süpernatant kısımdan SOD, katalaz, GSH-PX. antioksidan enzim aktiviteleri ile MDA ve protein düzeyleri ölçüldü.

3.5.1. Süperoksid Dismutaz Aktivitesi Ölçümü

Deneyin prensibi Woilliams ve arkadaşlarının metoduna dayanmaktadır. (65).

Deneyin Prensibi:

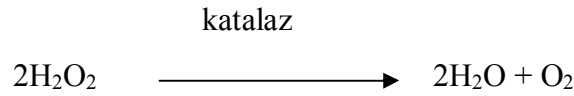
Süperoksit dismutaz (SOD) çeşitli yollarla ortaya çıkan süperoksit (O₂⁻) radikalinin H₂O₂' ye dismutasyonu reaksiyonunu katalizler. Ksantin – ksantin oksidaz (XOD) sistemi tarafından üretilen O₂⁻ radikallerinin (reaksiyon 1) 2-(4-iodophenyl)-3-4-(4-nitrophenol)-5-phenyl tetrazolium chloride (INT) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazan boyasının (reaksiyon 2) 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin spektrofotometrik olarak okunması esasına dayanmaktadır. Bu reaksiyona dayanan optik dansitedeki azalmadan yararlanarak SOD tarafından reaksiyonun % inhibisyonu belirlendi.



Daha önce standart çalışılarak hazırlanan % inhibisyon-konsantrasyon grafiğinden yararlanılarak konsantrasyonlar saptandı. Enzim aktivitesi U/ml olarak bulundu. Bu değerler dilüsyon katsayısı ile çarpılıp proteine bölünerek U/mgprotein birimi şeklinde sonuçlar verildi.

3.5.2. Katalaz Aktivite Ölçümü

Aebi metoduna dayalı olarak yapıldı (66).



Deneyin Prensibi:

Hidrojen peroksidin katalaz tarafından parçalanması temeline dayalı UV spektrofotometrik yöntem ile katalaz aktiviteleri tayin edilmiştir.

Hazırlanan homojenat fosfat tamponuyla 10 kat dilüe edildi. 2 ml homojenat üzerine taze hazırlanan ve 30 mM H₂O₂ içeren fosfat tampon çözeltisinden 1 ml eklendi. 240 nm'de absorbansın azalması 15 saniye aralıklarla, 3 dk boyunca okunup ve lineer regresyonlara göre her bir analiz için en uygun absorbanslar bulunarak, k değeri aşağıdaki şekilde hesaplandı:

$$k = 2.3 / \Delta t \times (\log A_1 / A_2) = 0,076 (\log A_1 / A_2) (\text{sn}^{-1})$$

$$k / \text{ml} = k.a$$

$$k / \text{g protein} = k / \text{ml} (1000 / b) = (2.3 / 30) (a / b) (\log A_1 / A_2) (\text{sn}^{-1})$$

A₁: 240 nm deki başlangıç absorbansı (t₁=0)

A₂: 240 nm deki 30. sndeki absorbansı (t₂=30)

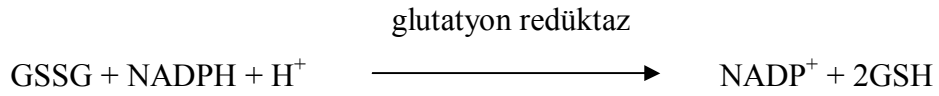
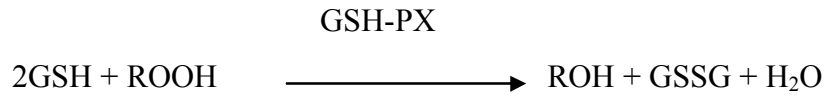
a: dilüsyon faktörü

b: dokunun protein miktarı

3.5.3. Glutatyon Peroksidaz Aktivite Ölçümü

Deneyin prensibi Paglia ve Valentine' nin metoduna dayanmaktadır (67).

Deneyin Prensibi: Glutatyon peroksidaz (GPx), cumen hidroperoksid tarafından glutatyon oksidasyonunu katalizler. Okside glutatyon, NADPH varlığında glutatyon redüktaz tarafından indirgenir. Bu arada NADPH, NADP⁺ ye oksitlenir.



NADPH nin azalmasına bağlı olarak 340 nm de meydana gelen absorbans değişimi ölçülerek enzim aktivitesi hesaplandı.

Homogenatın protein miktarı Lowry yöntemine göre belirlendi ve sonuçlar U/mg protein cinsinden verildi.

3.5.4. Malondialdehit Tayini

Mateos ve arkadaşlarının metoduna dayalı olarak HPLC ile ölçüldü (68).

Homojenat örneğinden 250µl alınarak üzerine 6M NaOH ilave edildi. Alkali süpernatantlar daha sonra 60 ° C su banyosunda soğutulduktan sonra %35 lik (v/v) perklorik asit ilavesiyle proteinklerin presipitasyonu sağlandı. Karışım 2800 g de 10 dakika santrifüj edilip süpernatantlar ayrıştırıldı. Süpernatant üzerine 25µl dinitrofenilhidrazin (DNPH, 5mM) eklenerek vortekslendi. 30 dakika karanlıkta türevlenmeye bırakılan numunelerden 50µl alınarak HPLC sistemine enjekte edildi. HPLC' de Mobil faz: Asetonitril/H2O/Asetik asit (62:38, v/v) Akış hızı: 0.6 ml/dakika dalga boyu:310 nm de C18 kolonu (5µm, 125 x 4mm) kolonu kullanılarak MDA tayini gerçekleştirildi.

3.6. Histopatolojik Analiz Yöntemleri

Mide dokularının %10 nötral tamponlu formalin ile fiksasyon işlemi tamamlandı. Dehidrasyon basamaklarını takiben doku örnekleri parafin ile bloklandı. 4 µm kalınlığında mikrotomla kesitler alındı ve kesitlere hematoksilin – eozin boyaması uygulandı ve preparatlar entellan ile kapatıldı. Kesitler ışık mikroskopunda (Nicon Eclipse E600W, Tokyo, Japan) incelendi ve dijital fotoğraf makinesi (Nicon Microscope Digitale Camera DP70, Tokyo, Japan) ile fotoğraf çekimleri yapıldı. Kesitlerde; mukozal hasar ve akut inflamasyonun şiddeti, damarsal değişiklikler, intramukozal hemoraji ile bez hücre nekrozu ve dökülme şiddet skorlarına bakıldı (69-71).

Histolojik Değerlendirme:

Mukozal hasar skoru

Evre 0: Mide mukoza hücreleri normal görünümde ve normal şekil, yerleşim ve yoğunlukta.

Evre 1: Yüzeysel mukus hücre haraplanması (vakuollü, piknotik nüveli, parlak boyanmış veya lizise uğramış sitoplazmalı hücreler)

Evre 2: Yüzeysel hücre haraplanması ve gastrik pitleri döşeyen hücrelerin ayrılma ve eksfoliyasyonu.

Evre 3: Gastrik pitler boyunca uzanan, fakat mukoza kalınlığının %50'sinden azını tutan haraplanma.

Evre 4: Mide mukoza kalınlığının %50'sinden fazlasını tutan yaygın mukoza haraplanması.

İnflamasyon skoru

Evre 0: Normal.

Evre 1: 40'lık büyütmede 2-5 nötrofil.

Evre 2: 5 üzerinde nötrofil

Evre 3: 20 üzerinde nötrofil

Evre 4: Follikül oluşturmuş nötrofil kümesi.

Damarsal değişiklik skor

Evre 0: Normal.

Evre 1: Minimal vazodilatasyon.

Evre 2: Belirgin vazodilatasyon.

İntra mukazal hemoraji skoru

Skor 0: Normal

Skor 1: Hafif

Skor 2: Orta

Skor 3: Şiddetli

Bez hücre nekrozu ve dökülme şiddet skoru

Skor 0: Normal

Skor 1: Hafif

Skor 2: Orta

Skor 3: Şiddetli

3.7. İstatistiksel Analiz

Sıçanların bazal ağırlıkları, son ağırlıkları, MDA, GPx, SOD ve katalaz düzeyleri ortalama±standart sapma şeklinde gösterildi. Makroskopik ve histolojik hasarları gösteren skorlar ise medyan (çeyreklerarası aralık; %25-%75) olarak gösterildi. Sayısal verilerin dağılımına Kolmogorov-Smirnov testi ile bakıldı. Sıçanların ağırlıkları, GPx, SOD ve katalaz düzeylerinin dağılımları normal idi. Malondialdehitin ise dağılımı normal değil idi. Bazal ve deney sonundaki ağırlıklarının karşılaştırılmasında paired *t* testi kullanıldı. Gruplar arasındaki, ağırlık ve GPx, SOD ve katalaz değerlerinin karşılaştırmaları için One Way ANOVA kullanıldı ve anlamlı olanlarda ikili grup karşılaştırmaları Tukey B testi ile yapıldı. MDA'nın karşılaştırılmasında ise Krukal Wallis testi kullanıldı. Midenin makroskopik ve histolojik incelemesine göre verilen hasar skoru değerleri, Makroskopik mukoza hasar skoru, histolojik mukozal hasar skoru, inflamasyon skoru, damarsal değişiklik skoru, intramukozal hemoraji skoru, hücre nekrozu ve dökülme şiddet skorunun gruplararası karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi, ikili grup arası karşılaştırmada ise Whitney U testleri kullanıldı.. P<0.05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Ratların Ağırlıkları ve Biyokimyasal Değerler

Toplam 32 sıçanın bazal ve son ağırlıkları, $196,3 \pm 23,0$ g ve $194,9 \pm 21,6$ g olup, anlamlı bir fark saptanmadı. Her bir grubun bazal ve deney sonu ağırlıkları Tablo 1'de gösterilmiş olup, gruplar arasında bazal ve son ağırlıklar açısından fark olmadığı gibi, her bir grubun deney süresince olan ağırlık değişimleri anlamlı değil idi. Gruplar arasında katalaz ve SOD değerleri açısından fark saptanmaz iken, MDA ve GPx değerleri anlamlı olarak farklı idi (Tablo 1). Yapılan ikili karşılaştırmalarda kontrol grubunun MDA düzeyleri, ASA grubundan ($p=0,005$) ve kefir grubundan ($p=0,015$) anlamlı olarak yüksek idi. Glutatyon peroksidaz düzeyleri ise kefir+ASA grubunda, kefir grubundan ($p=0,002$) ve ASA grubundan ($p=0,005$) anlamlı olarak düşük idi (Tablo 1).

Tablo 1. Ağırlık ve biyokimyasal değerlerin gruplara göre dağılımı

Veriler	Kontrol (n=8)	ASA (n=8)	Kefir (n=8)	Kefir+ASA (n=8)	P
Bazal Ağırlık (g)	195,5±19,9	195,7±23,0	195,3±31,1	198,8±21,1	0,990
Son Ağırlık (g)	188,0±14,2	195,6±22,2	198,7±29,8	197,2±19,9	0,777
MDA (nmol/mg protein)	11,6±5,2	8,3±1,1	8,3±1,3	9,2±1,1	0,012
GPx (U/mg protein)	9,4±3,0	8,3±0,6	8,6±0,5	6,4±1,0	0,008
SOD (U/mg protein)	1181,8±758,4	708,3±360,9	608,2±163,4	739,1±196,8	0,066
Katalaz (k/g protein)	9,7±9,4	4,1±0,6	6,8±4,5	4,4±2,4	0,184

4.2. Makroskopik Değerlendirme

Serum fizyolojik ile yıkama sonrası makroskopik incelemesi yapılan mide iç yüzeyi, kontrol grubunda tümüyle normal idi (Resim 1). Gruplar arasında makroskopik mukozal hasar skoru ise anlamlı farklılıklar göstermekte idi ($p<0.001$) (Tablo-2).

ASA grubunda, hiç normal mide mukozası izlenmez iken (Resim 2), mukoza hasar skoru 4,00 (3,00-4,75) [medyan (%25-%75)] şeklinde, belirgin olarak yüksek saptandı. Sadece kefir verilen grupta, mukoza genelde normal olup ödem, konjesyon

ve kanama gibi hafif bulgular 2 örnekte izlendi (Resim 3). Kefir+ASA grubunda ise mukoza, ASA grubuna göre daha az hasarlı olup (Resim 4), mukozal hasar skoru 1,00 (1,00-2,75) idi.

Tüm gruplar arasında makroskopik mukozal hasar skoru açısından anlamlı farkın olduğunun görülmesinden sonra, farkın olduğu grupların tespiti için ikili grup karşılaştırmalarına geçildi (Tablo 3, Şekil 3). ASA grubunun makroskopik mukozal hasar skoru, kontrol grubundan ($p<0,001$), kefir grubundan ($p<0,001$) ve kefir+ASA grubundan ($p=0,005$), yani diğer tüm gruplardan anlamlı olarak yüksek idi. Kontrol grubu ile kefir grubu arasında fark saptanmadı. Kefir+ASA grubunun hasar skoru ise, kontrol grubundan ($p=0,002$) ve kefir grubundan ($p=0,028$) anlamlı olarak yüksek olmakla beraber, ASA grubunun hasarından ise anlamlı olarak düşük saptandı ($p=0,005$).

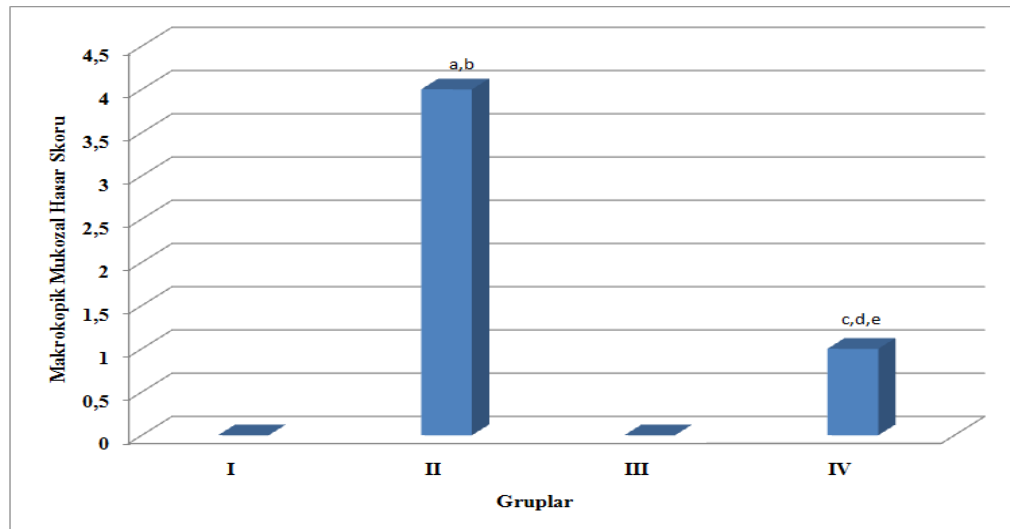
Tablo 2. Makroskopik mukozal hasarın gruplar arasında karşılaştırılması

Veriler	Kontrol (n=8)	ASA (n=8)	Kefir (n=8)	Kefir+ASA (n=8)	P
Makroskopik Mukozal Hasar	0,00 (0,00-0,00) ^a	4,00 (3,00-4,75) ^b	0,00 (0,00-0,75)	1,00 (1,00-2,75) ^c	<0,001

^aKefir grubundan farkı yok

^bDiğer tüm gruplardan anlamlı olarak yüksek

^cKontrol ve kefir gruplarından yüksek iken, ASA grubundan düşük



Şekil 4. Makroskopik mukozal hasarın gruplara göre dağılımı

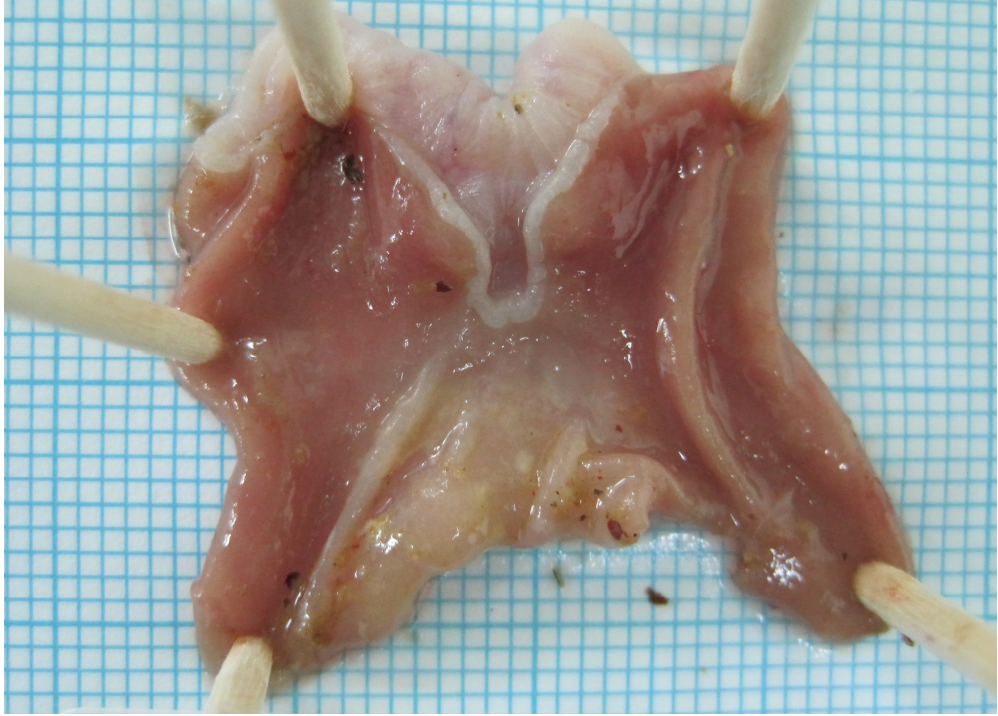
^a $P<0,001$: II-I ve II-III,

^b $P=0,005$: II-IV,

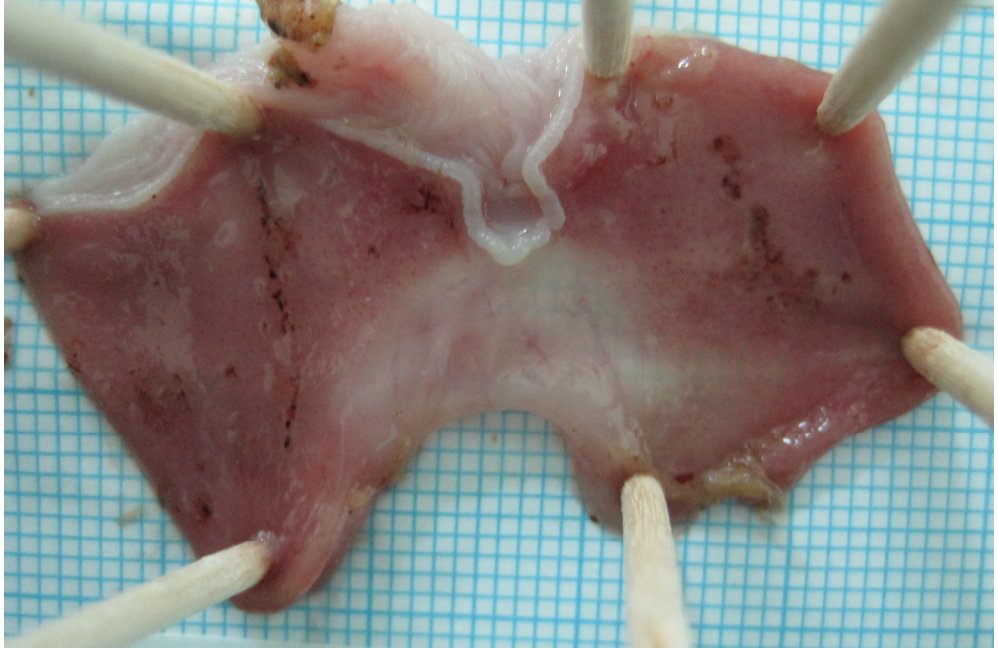
^c $P=0,002$: IV-I,

^d $P=0,028$: IV-III,

^e $P=0,005$: IV-II



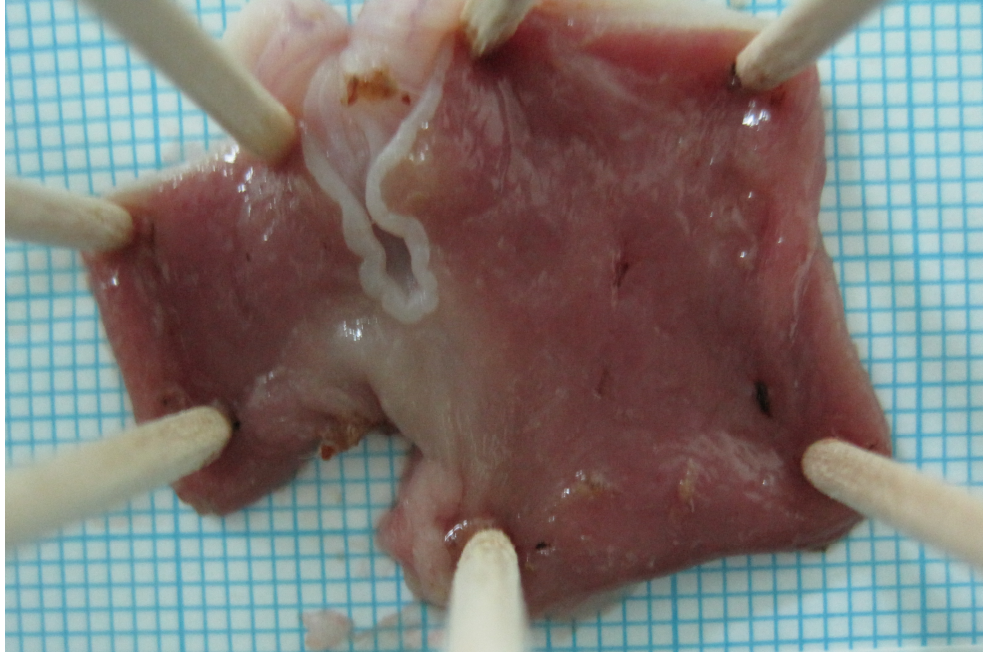
Resim 1. Kontrol grubuna ait (A-8) midenin makroskopik görünümü, mukozal hasar skoru: 0.



Resim 2. ASA grubuna ait (B-4) midenin makroskopik görünümü, mukozal hasar skoru: 5



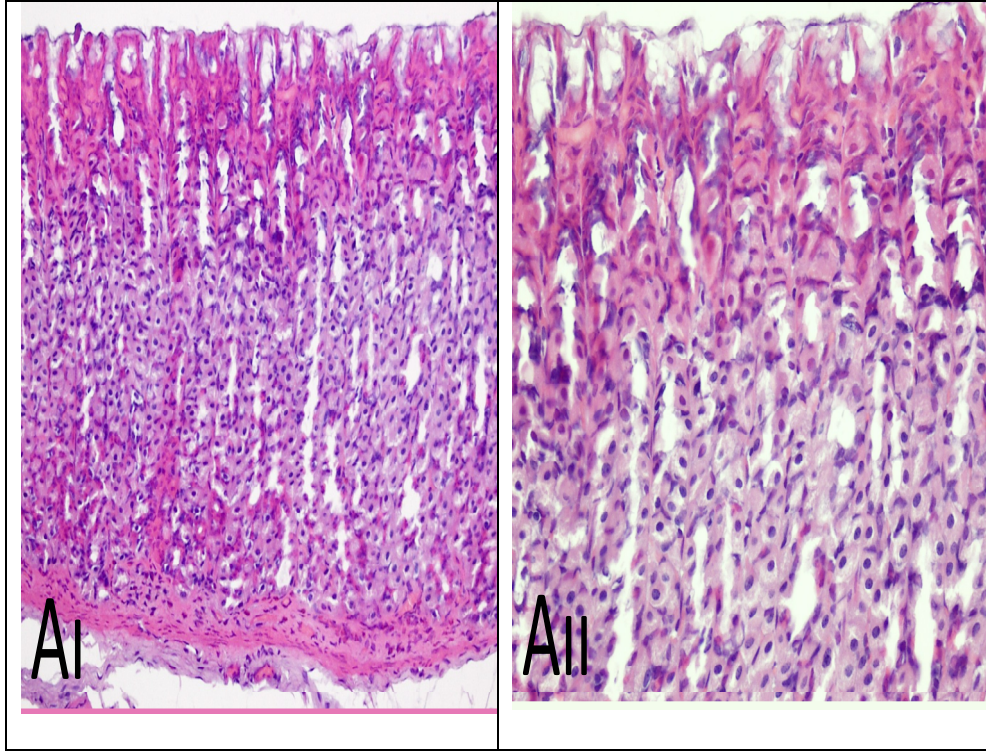
Resim 3. Kefir grubuna ait (C-7) midenin makroskopik görünümü, mukoza hasar skoru: 0



Resim 4. Kefir+ASA grubuna ait (D-4) midenin makroskopik görünümü, hasar skoru: 1

4.3. Histolojik değerlendirmeler

Kontrol grubunun histopatolojik incelemesinde; doku örneği normal görünümde olup, mukozal hasar, inflamasyon, damarsal değişiklikler, intramukozal kanama veya bez hücre nekrozu saptanmadı (Resim 5).

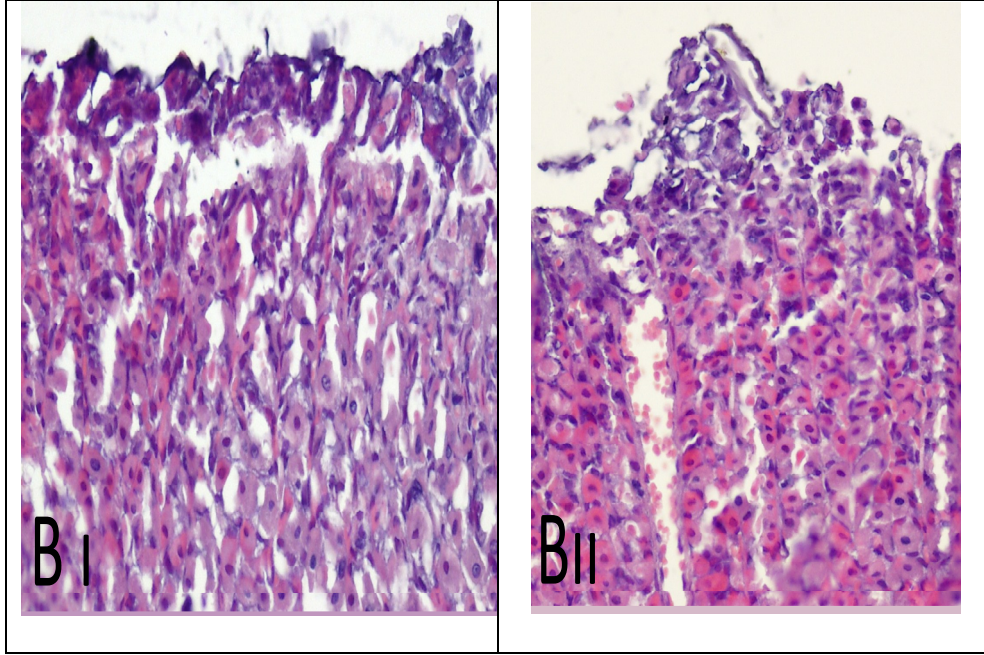


Resim 5. Kontrol grubu: Mide mukoza hücreleri normal görünümde ve normal şekil, yerleşim ve yoğunlukta. A I;H&E,X100- E II;H&E,X200

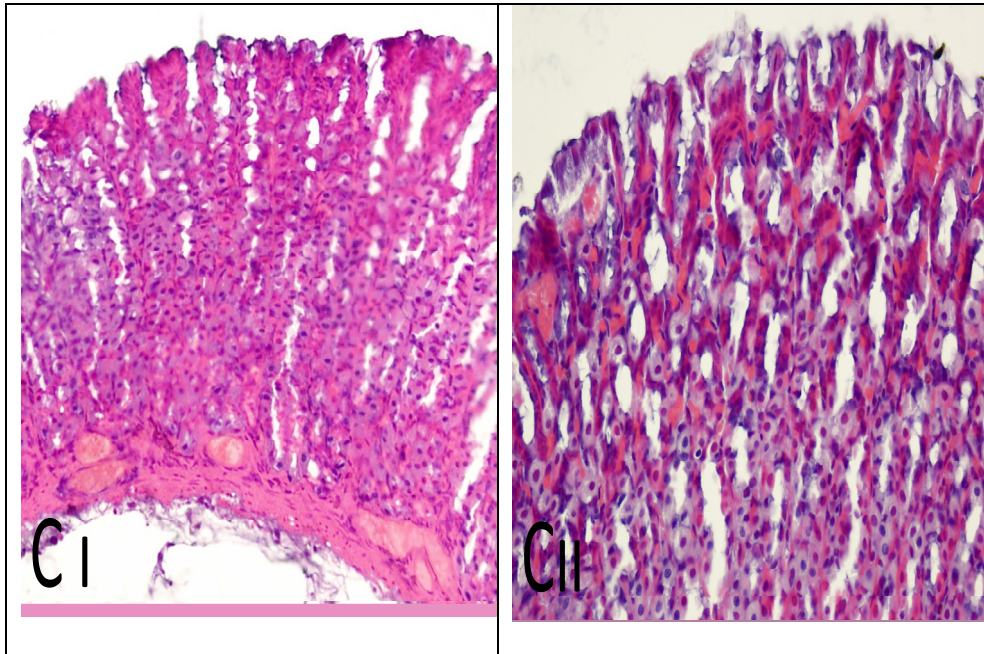
Sadece kefir verilen 3. gruptaki bulgular kontrol grubuna benzer olup, iki sıçanda (C2 ve C3) hafif değişiklikler saptandı. C2’de hafif düzeyde yüzeysel mukus hücre haraplanması (evre 1 mukozal hasar) ve C3’te 40’lık büyütmede 2-5 nötrofil (evre 1 inflamasyon) ve minimal vazodilatasyon (evre 1 damar değişiklikleri) izlendi.

ASA grubunda ise belirgin mukozal hasar ve bez epiteli nekrozu (Resim 6), belirgin damarsal deęişiklikleri ve intramukozal hemorajiler (resim 7) ve belirgin inflamasyon (Resim 8) mevcut idi.

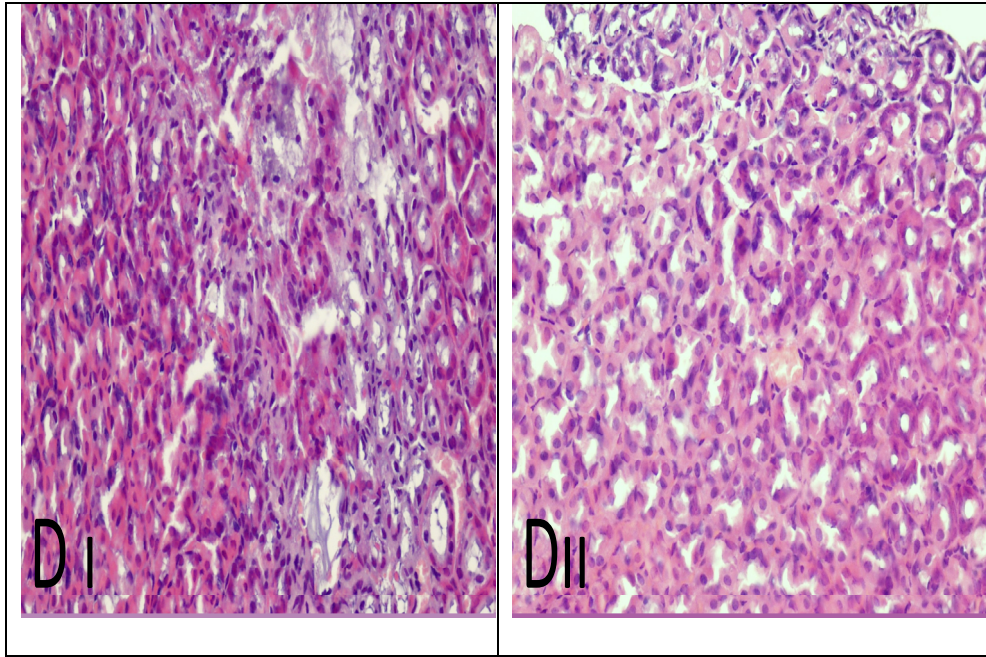
Aspirin öncesi kefir kullanılan 4. grupta ise, ASA grubuna göre histolojik mukozal hasar, evre 1-2 ile daha düşük olarak saptandı (Resim 9).



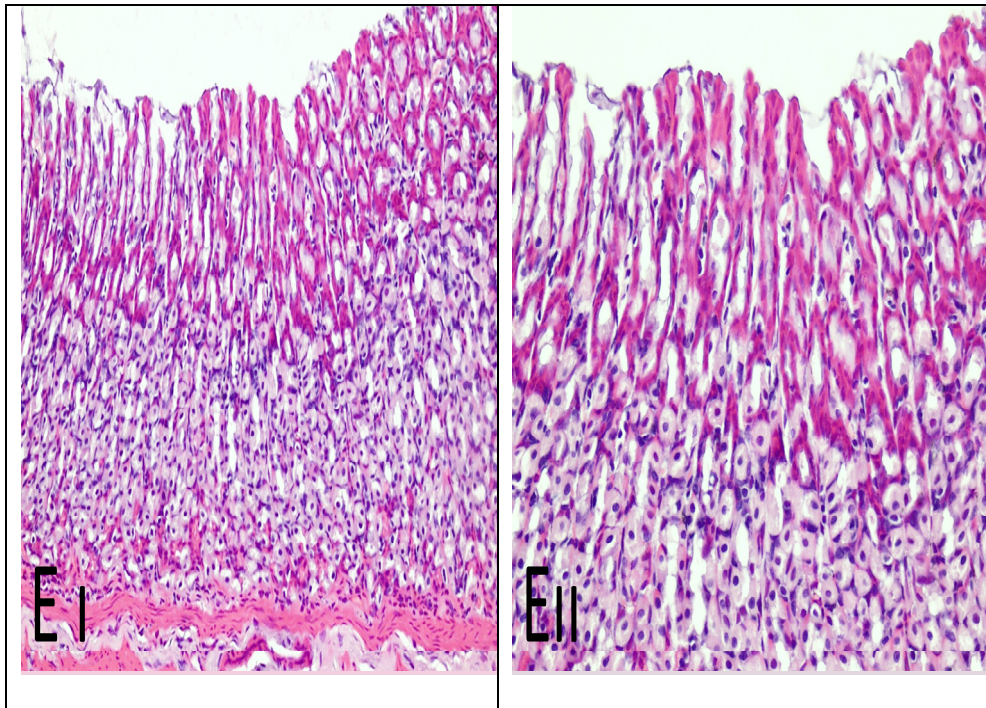
Resim 6. ASA grubu: Yüzeysel mukus hücre haraplanması vakuollü, piknotik nüveli, parlak boyanmış veya lizise uğramış sitoplazmalı hücreler, Yüzeysel hücre haraplanması ve gastrik pitleri döşeyen hücrelerin ayrılma ve eksfoliyasyonu. Gastrik pitler boyunca uzanan, fakat mukozanın kalınlığının %50'sinden azını tutan haraplanma. B I;H&E,X200- B II;H&E,X200



Resim 7. ASA grubu: İntramukozal damar yapısında minimal yada yer yer belirgin vazodilatasyon ve intramukozal hemorajiler. C I;H&E,X100- C II;H&E,X200



Resim 8. Yüzeyel mukus hücre haraplanması vakuollü, piknotik nüveli, parlak boyanmış veya lizise uğramış hücreler, mukozal hücrelerde nötrofil infiltrasyonu ve intra mukozal hemoraji. D I;H&E,X200- D II;H&E,X200



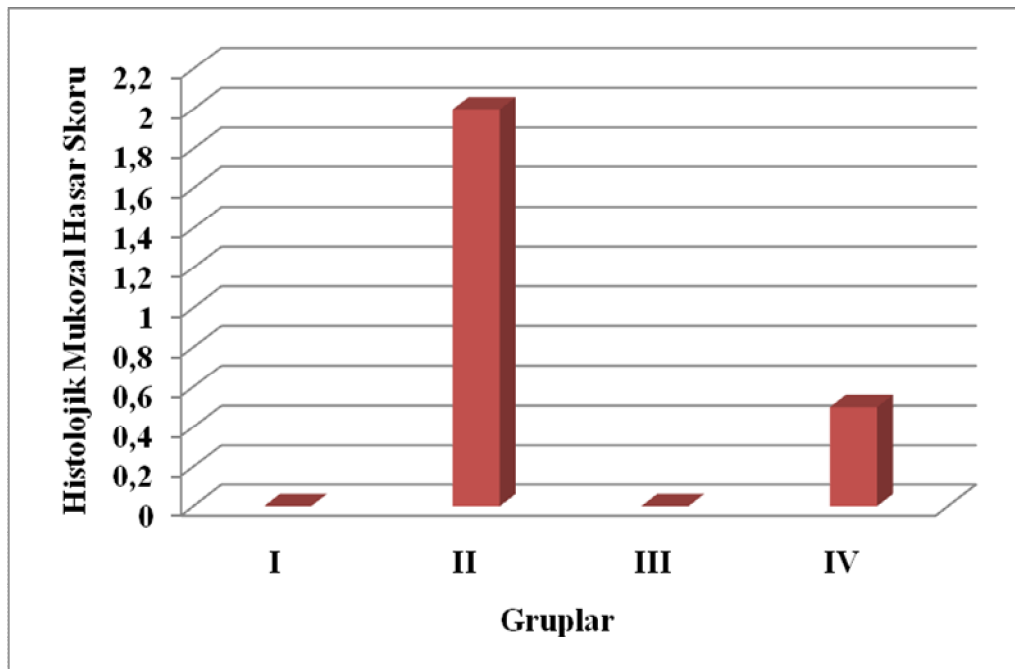
Resim 9. Mide mukoza hücreleri normale yakın görünüm, yerleşim ve yoğunlukta. Yüzeyel mukoza da hücre haraplanması ve gastrik pitleri döşeyen hücrelerin ayrılmasında azalma. Yüzeyel mukus hücre haraplanması , vakuollü, piknotik nüveli, veya lizise uğramış hücre miktarında düşüş izlenmiştir. E I;H&E,X100- E II;H&E,X200

Tüm gruplar arasında, histolojik mukozal hasar, inflamasyon, damarsal değişiklik, intramukozal hemoraji, hücre nekrozu ve dökülme şiddet skorları anlamlı olarak farklı idi (Tablo-3).

Tablo 3. Histolojik hasar skorlarının gruplara göre dağılımı

Veriler	Kontrol (n=8)	ASA (n=8)	Kefir (n=8)	Kefir+ASA (n=8)	P
Histolojik Mukozal Hasar	0,00 (0,00-0,00)	2,00 (1,25-2,00)	0,00 (0,00-0,00)	0,50 (0,00-1,00)	<0,001
İnflamasyon	0,00 (0,00-0,00)	1,50 (1,00-2,00)	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-1,00)	<0,001
Damarsal Değişiklik	0,00 (0,00-0,00)	1,50 (1,00-2,00)	0,00 (0,00-0,00)	0,50 (0,00-1,00)	<0,001
İntramukozal Hemoraji	0,00 (0,00-0,00)	2,00 (1,00-2,00)	0,00 (0,00-0,00)	0,50 (0,00-1,00)	<0,001
Bez Hücre Nekrozu	0,00 (0,00-0,00)	1,50 (1,00-2,00)	0,00 (0,00-0,00)	0,00 (0,00-1,00)	<0,001

Histolojik mukozal hasar açısından yapılan ikili grup karşılaştırmalarında, ASA grubunun hasar skoru; kontrol grubundan ($p<0,001$), kefir grubundan ($p<0,001$) ve kefir+ASA grubundan ($p=0,002$) anlamlı olarak yüksek idi. Kontrol grubu, kefir grubu ve kefir+ASA grubunun hasar skorları arasında ise anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 5).

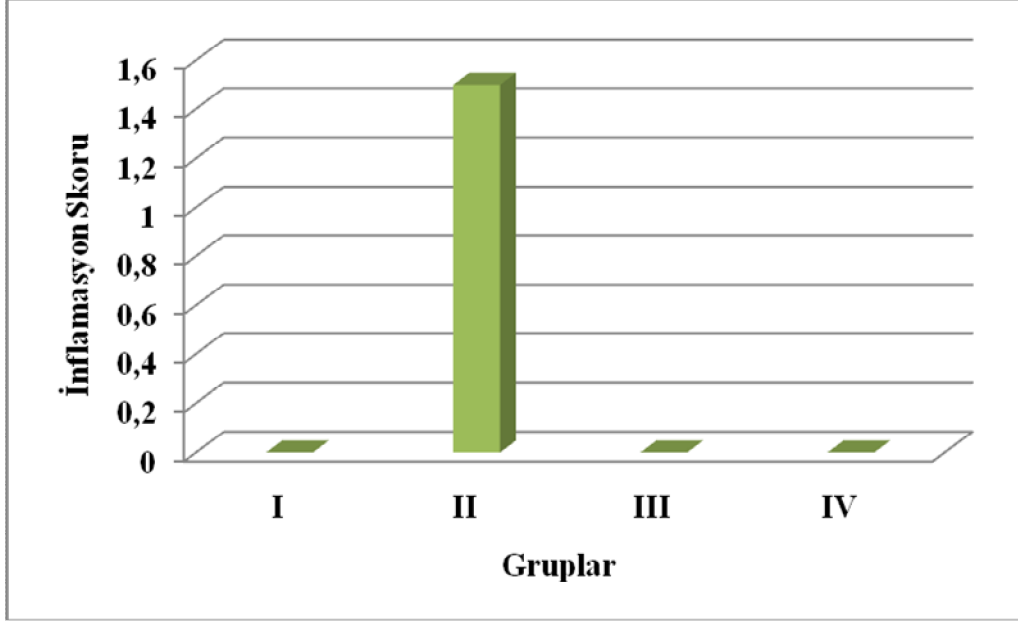


Şekil 5. Histolojik mukozal hasar skorunun gruplara göre dağılımı

$P<0,001$: II-I ve II-III

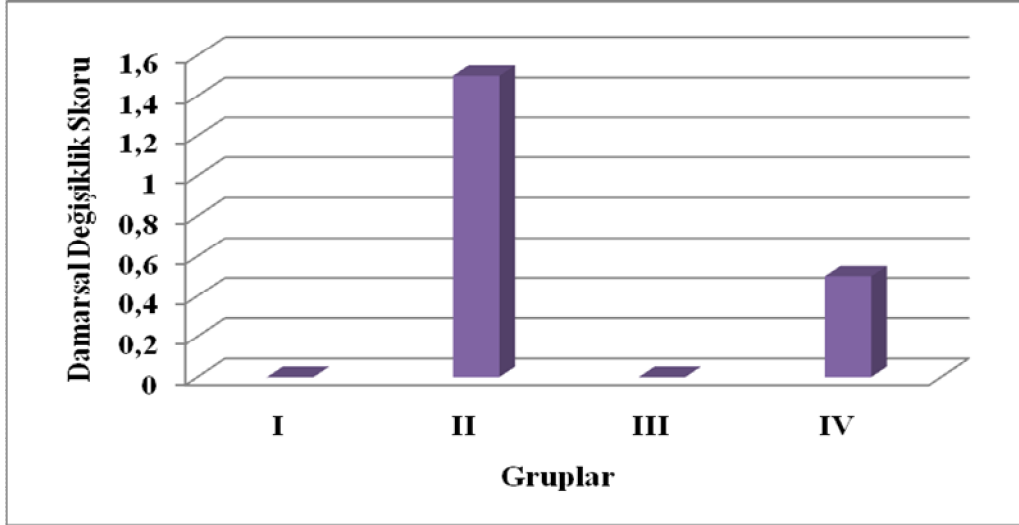
$P=0,002$: II-IV

İnflamasyon skorları açısından yapılan ikili grup karşılaştırmalarında, ASA grubunun inflamasyon skoru; kontrol grubundan ($p<0,001$), kefir grubundan ($p=0,001$) ve kefir+ASA grubundan ($p=0,005$) anlamlı olarak yüksek idi. Kontrol grubu, kefir grubu ve kefir+ASA grubunun inflamasyon skorları arasında ise anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 6).



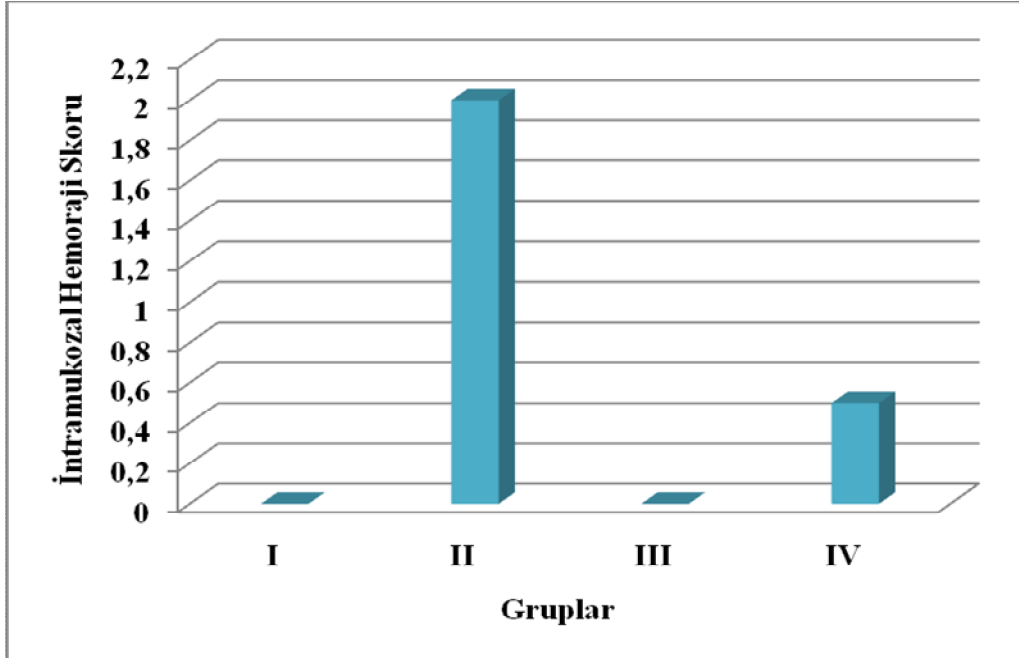
Şekil 6. İnflamasyon skorunun gruplara göre dağılımı
 $P<0,001$: II-I, $P=0,001$: II-III, $P=0,005$: II-IV

Damarsal değişiklik skoru açısından yapılan ikili grup karşılaştırmalarında, ASA grubunun skoru; kontrol grubundan ($p=0,001$), kefir grubundan ($p=0,001$) ve kefir+ASA grubundan ($p=0,010$) anlamlı olarak yüksek idi. Kontrol grubu, kefir grubu ve kefir+ASA grubunun skorları arasında ise anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 7).



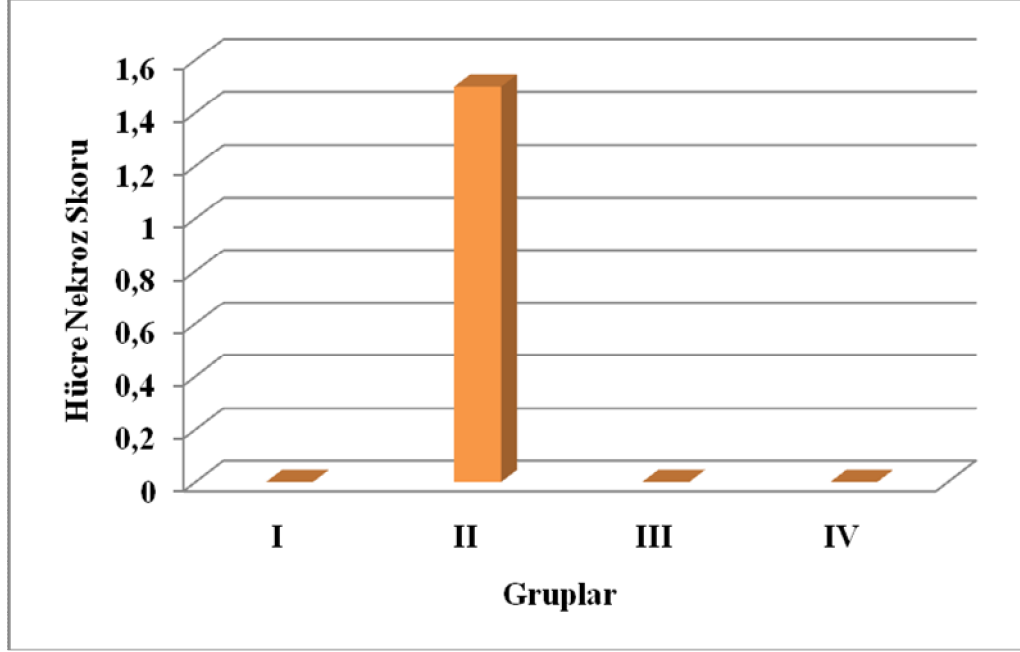
Şekil 7. Damarsal değişiklik skorunun gruplara göre dağılımı
 $P < 0,001$: II-I, $P = 0,001$: II-III, $P = 0,005$: II-IV

İntramukozal hemoraji skoru açısından yapılan ikili grup karşılaştırmalarında, ASA grubunun skoru; kontrol grubundan ($p < 0,001$), kefir grubundan ($p < 0,001$) ve kefir+ASA grubundan ($p = 0,005$) anlamlı olarak yüksek idi. Kontrol grubu, kefir grubu ve kefir+ASA grubunun skorları arasında ise anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 8).



Şekil 8. İntramukozal hemoraji skorunun gruplara göre dağılımı
 $P < 0,001$: II-I ve II-III
 $P = 0,005$: II-IV

Hücre nekroz ve dökülme şiddet skoru açısından yapılan ikili grup karşılaştırmalarında ise, ASA grubunun skoru; kontrol grubundan ($p<0,001$), kefir grubundan ($p<0,001$) ve kefir+ASA grubundan ($p=0,005$) anlamlı olarak yüksek idi. Kontrol grubu, kefir grubu ve kefir+ASA grubunun skorları arasında ise anlamlı bir fark saptanmadı (Şekil 9).



Şekil 9. Hücre nekrozu ve dökülme skorunun gruplara göre dağılımı
 $P<0,001$: II-I ve II-III
 $P=0,005$: II-IV

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda, kefir kullanımının sıçanlarda ASA'ya bağlı gastrik mukozal hasar oluşumunu engellediği, midenin makroskopik lezyonlarının değerlendirilmesi ve histolojik hasar skorlaması ile gösterildi.

Kefir ve diğer probiyotiklerin, gastrointestinal sistem üzerindeki en önemli etkisi, patojen bakterilerin baskılanarak floranın düzenlenmesi şeklindedir (20). Laktoz intoleransı, antibiyotiğe bağlı ishal, *C. difficile*'ye bağlı ishal, rotavirüs enteriti, fonksiyonel kabızlık, poşit tedavisi ve ülseratif kolitin remiyonunun sürdürülmesindeki olumlu etkileri nedeniyle ilgi çekmekte ve değişik gastrointestinal sistem hastalıklarındaki etkileri araştırılmaktadır (21,22,72-74).

Probiyotiklerin gastrik mukoza üzerine olan etkilerinin araştırılması daha çok, Hp eradikasyonu ve Hp ile ilişkili gastrit üzerine yoğunlaşmıştır. Oysa gastrik mukozal hasarın oluşmasında, iki temel nedenden birisi Hp infeksiyonu iken, diğeri NSAİİ'lerin tüketimidir (26). Probiyotiklerin Hp ve Hp gastriti üzerine olan etkilerine bakıldığında; in vitro olarak, *L. acidophilus*, *L. casei* subsp. *rhamnosus*'un laktik ve asetik asid ürünleri aracılığıyla Hp'yi inhibe ettiği (75), *L. acidophilus*'un laktik asid seviyesinden bağımsız olarak üreaz aktivitesini azaltarak Hp'yi baskıladığı (76), *L. johnsonii*'nin gastrik lamina propriyadaki lenfositik ve nötrofilik infiltrasyonu ve proinflamatuvar sitokin olan IL-8'de azalma sağladığı bildirilmiştir (77). İn vitro veya hayvan deneylerinde bildirilen, probiyotiklerin Hp üzerindeki olumlu etkilerinin klinik yansımasına bakıldığında; *L. johnsonii* kültürlerinin asemptomatik taşıyıcılarda Hp'nin üreaz aktivitesini baskıladığı (78), Hp pozitif kişilerde klaritromisin monoterapisine eklenen *L. johnsonii* içerikli fermente sütün Hp ile ilişkili gastrit aktivitesini azalttığı (79), uzun süreli kullanımda gastrik mukus kalınlığını arttırdığı, gastrik inflamasyon şiddetini ve Hp yoğunluğunu azalttığı (63) bildirilmiştir. Yukarıda örnekleri verilen değişik çalışmalarda görüldüğü gibi, probiyotiklerin Hp üzerine muhtemel etkileri farklı mekanizmalara bağlanmakta olup başlıca mekanizmalar arasında; laktik asid bakterilerince üretilen laktik asid, asetik asid, hidrojen peroksid ve bakteriyosinlerin Hp'yi baskılamaları, epitelyum hücrelerine Hp'nin adezyonuna karşı kompetisyon ve mukus sekresyonunda artış yer almaktadır (63,80). Bakteriyosinler ile ilgili bir çalışmada, laktik asid bakterilerince

üretilen 7 ayrı bakteriyosin çeşidinin (nisin A, laktisin A164, BH5, JW3 ve NK24, pediosin ve lökosin) in vitro olarak Hp üzerine antimikrobiyal etkisine bakılmış ve *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* suşu tarafından üretilen laktisin A164 ve BH5'in Hp'ye karşı güçlü bir şekilde antibakteriyel etkisinin olduğu bildirilmiştir (81). *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* suşu, çalışmamızda kullanılan ve mukozal hasarın önlenmesinde etkinliği gösterilen kefir kültürünün de bir ögesi olup, klinik çalışmalarda Hp üzerine etkisi araştırılabilir.

Asetilsalisilik asidin neden olduğu gastrik mukozal hasar, temelde COX-1 inhibisyonuna bağlı olarak gastroprotektif PG'lerde azalma sonucudur (26). Bunun yanında, iyonize olmayan zayıf asid özellikleri nedeniyle gastrik bariyeri serbestçe penetre olurlar ve mukozal hücrelerin bazolaterallerindeki sıkı bağlantıları hasara uğrattırır (50). Bu şekilde, NSAİİ'lerin hasara neden olması 2 fazlı süreç olup, ilk fazda sıkı bağlantıların etkilenmesi ile gastrointestinal geçirgenlikte artış ve ikinci fazda ise geçirgenlikteki artışa bağlı lüminal zararlı faktörlerin tetiklediği immün yanıtla bağlı inflamasyonun ve dokuda ülserasyonun gelişmesidir (82). Aspirine bağlı gelişen gastrik hasarın; İL-2, TNF- α , İNF γ gibi proinflamatuvar sitokinlerde artış, nötrofillerin marginasyonun artışı, mikrovasküler hasar ve lipid peroksidasyonu sonucu açığa çıkan serbest oksijen radikalleri üzerinden olduğu belirtilmiştir (83-85).

Probiyotik kullanımının NSAİİ'ye bağlı gastrik mukozal hasarı azalttığını bildirilen çalışmalara bakıldığında, probiyotiklerin gastroprotektif etkileri; mukozal geçirgenlikte azalma sağlamaları, sistemik veya lokal immün yanıtı düzenlemeleri, ürettikleri ekzopolisakkaritin lokal ve sistemik etkileri, mukozal PGE2'yi, mukus ve HCO₃ sentezini arttırmaları şeklinde değişik mekanizmalar üzerinden açıklanmaktadır (82,86-90). Örneğin, indometazin kullanımı öncesi 5 gün *Lactobasillus* GG içeren probiyotik alımının, indometazine karşı gastrik mukozal geçirgenliği azaltıp bariyeri güçlendirdiği bildirilmiştir (82). *Lactobacillus rhamnosus*, *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium lactis* ile beslenen farelerde, periferik lökositlerde ve peritoneal makrofajlarda fagositik aktivitenin ve verilen antijenlere karşı antikor yanıtının arttığı gösterilmiştir (86). Lokal olarak ise, konjenital olarak HIV'e maruz kalmış çocuklarda oral olarak verilen *Lactobacillus plantarum*'lu probiyotiğin sekretuar IgA yanıtını uyararak gastrik immünolojik bariyeri ve immün yanıtı arttırdığı bildirilmiştir (87). Yine başka bir deneysel çalışmada, laktik

asid bakterilerinden *L. paracasei* in vitro olarak antiinflamatuvar sitokinlerden İL-10 ve TGF- β 'da artışa, immün yanıtta önemli rolü olan CD4(+) T lenfositlerin proliferatif aktivitesinde baskılanmaya ve proinflamatuvar sitokinlerden olan İL-4 ve İL-5'te azalmaya neden olduğu, bu yolla immün yanıtı düzenlediği bildirilmiştir (88). Aspirin öncesi, ekzopolisakkarit üreten *Streptococcus thermophilus* suşu ile fermente sütün kullanılmasının gastrik mukozal hasarı azalttığı bildirilen çalışmada ise, muhtemel gastroprotektif mekanizmalar olarak, probiyotiğin immümodülatuvar etkisinin yanı sıra, bakterice üretilen ekzopolisakkaritin mukozaya lokal koruma sağlaması şeklinde belirtilmektedir (89). Burada belirtilen ekzopolisakkaritin kefirdeki karşılığı kefiran olup, laktobasillus türlerinin oluşturduğu kapsüler polisakkaritlerdir ve kefir taneleri bu glukogalaktan yapı içine gömülü olarak bulunur (52).

Probiyotiklerdeki ekzopolisakkaritin potansiyel gastroprotektif etkisini destekleyen başka bir çalışmada, *Lactobacillus gasseri* OLL2716, *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* içeren yoğurdun, ratlarda HCl ile indüklenen akut gastrik lezyonu önlediği, muhtemel etki mekanizmalarının da verilen yoğurdun, gastrik mukozada PG E₂'de artışa neden olması, özellikle ramnoz içerikli ekzopolisakkaritlerin gastroprotektif etkisi ve *L. gasseri* OLL2716'nın inflamatuvar sitokin olan İL-8'i inhibe etmesi şeklinde açıklanmaktadır (90). Bu çalışmadaki probiyotik yoğurt, gastrit modeli oluşturulmadan 30 dakika önce verilmiştir. Dolayısıyla, ekzopolisakkarite bağlı gastroproteksiyon mekanizması akla daha yakın görülmektedir.

Burada üzerinde durulması gereken diğer bir konu da, probiyotiklerin üretiminde kullanılan fermente olamayan sütün gastroprotektif özelliğinin olup olmamasıdır. İçerdiği fosfolipidler gibi yüzey aktif lipidler ile sütün, gastrik mukozal hasarlanmayı engellediği (91), içerdiği prostaglandinler nedeniyle peptik ülserden koruduğu (92), içerdiği kalsiyum aracılığı ile membran stabilitesini sağlayıp mukozal iyileşmede yararlı olduğu (93) bildirilmiştir. Buna karşılık, sıkça süt tüketen peptik ülserlilerde, sütün içerisindeki kalsiyum ve proteinlerin gastrik asid sekresyonunu arttırdığı da bildirilmiştir (94). Sütün anti-ülser özelliklerinin bildirilmesine rağmen, yukarıda bahsedilen ve probiyotik yoğurdun HCl ile indüklenen hasarı önlediği bildirilen çalışmanın bir kolunda da, fermente olmayan süt kullanılmış ve

gastroprotektif özelliği saptanmamıştır (90). Dolayısıyla kefir ve benzeri fermente sütler ile saptanan gastroprotektif özellik, elde edildikleri süte bağlanmamalıdır.

Bu bilgiler ışığında çalışmamıza bakıldığında, gastrit modeli oluşturulmadan yedi gün önce kefir verilmeye başlandı ve sakrifiye edilmeden bir gün önce de kefir kesildi. Çalışmamız, kefirin antioksidan özelliği (60) dikkate alınarak dizayn edilmiş ve ASA'ya bağlı mukozal hasarın etyopatogenezinde rol oynayan lipid peroksidasyonunun bir belirteci olarak MDA düzeyleri ile yine lipid peroksidasyonu sonucu oluşan serbest oksijen radikallerini ortadan kaldıran GPx, katalaz ve SOD gibi antioksidanların doku düzeylerine bakılmış idi. Ancak, MDA, GPx, SOD ve katalaz düzeyleri açısından gruplar arasında, beklediğimiz değişiklikler saptanmadı. Bu durumda, kefirin gastroprotektif özelliği makroskopik ve histolojik incelemeler ile gösterilmekle birlikte, bu etkisini antioksidan özelliği ile açıklayamadık.

Kullandığımız kefir kültüründe, *Lactobasillus* ssp., *Leuconostoc* ssp, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Streptococcus thermophilus* ve kefir mayası mevcut idi. *Streptococcus thermophilus* tarafından sentezlenen ekzopolisakkaritlerin gastroprotektif özellikleri daha önce iki çalışmada bildirilmiştir (89,90). Bu çalışmalardan bizim çalışmamıza benzer olanında, ASA öncesi uzun süreli *Streptococcus thermophilus* içeren fermente süt verilmiş ve saptanan gastroprotektif özellik, fermente sütün IFN γ 'yı azaltması, İL-10'u arttırmasıyla, yani immünmodülatuar etkisiyle açıklanmıştır (89). Çalışmamızın metodu, kefirin potansiyel immünmodülatuar etkisini araştırma üzerine kurulmasa da, kefirin uzun süreli kullanımı ile saptadığımız gastroprotektif özellik, önceki çalışmalar ışığında, immün yanıtı düzenleme özelliklerine (86-88), gastrik mukus kalınlığını arttırmasına (63) veya gastrointestinal geçirgenliği azaltmasına (82) bağlı olabilir. Yine de kefirin içerdiği kefiranın, proinflamatuvar veya antiinflamatuvar sitokinleri etkileyip etkilemediği uygun metodlarla yapılacak çalışmalar ile araştırılabilir.

Sonuç olarak, bu deneysel çalışma ile günlük hayatta sıkça tüketilen kefirin, ASA'ya bağlı gastrik mukozal hasarı azalttığı gösterilmiştir. Literatür taramalarında az sayıda çalışma ile probiyotiklerin NSAİİ'lere karşı gastroprotektif etkileri bildirilmekle birlikte, en eski geleneksel probiyotiklerden olan kefirin gastroprotektif etkisi ilk kez bu çalışma ile araştırılmıştır. *H. pylori* gastriti ve NSAİİ'lere bağlı mukozal hasara etkili suşları içeren probiyotikler üretilmeye çalışılırken, kefir üretim

şartlarına bağlı olarak pek çok suşu içermekte ve endüstriyel olarak günlük hayatta kolayca ulaşılabilmektedir. Dolayısıyla, alışmamızda deneysel olarak gösterilen kefirin gastroprotektif etkisi, pratik hayata yansımaları açısından klinik çalışmalar ile de araştırılmalıdır.

ÖZET

Sıçanlarda Aspirin ile Oluşturulan Gastrik Mukozal Hasarın Önlenmesinde Kefirin Etkinliğinin Araştırılması

Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların bir üyesi ve prototipi olan aspirin, antiagregan etkisi nedeniyle kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılan temel ilaçlardandır. Düşük dozlarda bile gastroprotektif prostaglandinlerde azalmaya neden olur ve gastrik mukozal hasar potansiyeli mevcuttur. Aspirine bağlı gastrik mukozal hasarın önlenmesinde araştırılan ürünlerden olan probiyotikler, sağlığa yararlı mikroorganizmalar içeren gıda ürünler olup, kefir bilinen en eski probiyotiklerdendir. Kefirin *H. pylori*'ye bağlı gastrit üzerine olumlu etkileri bildirilmekle birlikte, aspirine bağlı gastrik hasara etkileri bilinmemektedir. Bu çalışmada, sıçanlarda aspirin ile oluşturulacak gastrik hasarın önlenmesinde kefirin etkinliği araştırıldı.

Çalışmada 150-250 g ağırlığında 32 adet erkek Wistar-Albino sıçan kullanıldı. Sekizerli 4 gruba ayrılarak, 1. ve 2. gruba 7 gün boyunca sıçan yemi ve suyun yanı sıra 2 ml serum fizyolojik, 3. ve 4. gruba ise 2 ml kefir solüsyonu oral gavaj ile verildi. Sekizinci gün aç bırakılıp, sıçanlar sakrifiye edilerek mide dokusu çıkartıldı. İkinci ve 4. gruplara, sakrifiye edilmeden 3 saat önce 200 mg/kg dozunda aspirin gavajla verildi. Mide mukozası makroskopik ve histolojik olarak incelenip, mukozal hasar skorlarına bakıldı. Mide dokusundan lipid peroksidasyon belirteci olarak malondialdehit (MDA), antioksidan düzeyler için de glutatyon peroksit (GPx) ve katalaz çalışıldı.

Aspirin verilen 2. gruptaki makroskopik ve histolojik mukozal hasar skoru, diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek idi ($p<0,001$). Aspirin öncesi kefir kullanan 4. gruptaki histolojik mukozal hasar skorları ise, kontrol ve kefir grupları ile benzer olup, kefirsiz aspirin verilen 2. gruba göre anlamlı olarak daha düşük idi. Makroskopik hasar skoru ise, aspirin öncesi kefir kullanan 4. grupta, kontrol ve kefir gruplarından anlamlı olarak daha yüksek olmakla birlikte, kefirsiz aspirin verilen 2. gruba göre daha düşük idi. Kontrol grubunun MDA düzeyleri, 2. ve 3. gruptan anlamlı olarak yüksek idi. Kefir+ASA grubunun GPx değerleri ise, 2. ve 3. gruptan anlamlı olarak düşük saptandı.

Sonuç olarak, sağlığa faydalı değişik etkileri bilinen kefirin, aspirine bağlı gastrik hasarı önlediği saptanmıştır. Deneysel modellerde saptanan bu bulgunun pratiğe yansımaları açısından, klinik çalışmalar ile de desteklenmelidir.

Anahtar Kelimeler: Aspirin, gastrit, kefir, mukozal hasar, probiyotik

SUMMARY

The effect of kefir on prevention of aspirin-induced gastric mucosal damage in rats

Aspirin, a prototype member of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, is one of the main medications used as an antiaggregant agent in the treatment of cardiovascular diseases. It causes a decrease in gastro-protective prostaglandins even in low doses and has a potential to damage gastric mucosa. Probiotics, food products containing live microorganisms thought to be beneficial to health, have been previously investigated for prevention of aspirin-induced gastric mucosal damage. Kefir is the oldest known probiotics. Although known positive effect on *Helicobacter pylori* gastritis, kefir has not been studied in ASA-induced gastric damage. In this study, we investigated the effects of kefir on prevention of gastric mucosal damage induced by aspirin.

Thirty-two adult male Wistar-Albino rats weighing 150-250 g were included in this study. The rats were randomly divided into four groups of 8 each. Group 1 and 2 were orally administered rat feed and tap water as well as 2 mL of normal saline for 7 days. In group 3 and 4, 2 ml of kefir was administered by oral gavage. Rats were deprived and sacrificed on the 8th day, and stomach was removed. Three hours before being sacrificed, 200 mg/kg ASA was administered by gavage to rats in group 2 and 4. Gastric mucosa was examined macroscopically and histologically and mucosal damage was scored. Malondialdehyde (MDA), as a lipid peroxidation marker, as well as glutathione peroxide (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD) and catalase, for antioxidant levels, were studied in gastric tissue.

In group 2, macroscopic and histological score of mucosal damage was significantly higher than that of other groups ($p < 0,001$). In group 4, i.e. rats administered kefir before ASA; histological score of mucosal damage was similar with that of control and kefir groups. However, it was significantly lower than that of group 2, which was administered ASA without kefir. In group 4, macroscopic score of mucosal damage was significantly higher than that of control and kefir group and lower than that of group 2. In group 1, MDA level was significantly higher than group 2 and 3. In group 4, GPx level was significantly lower than group 2 and 3.

In conclusion, it was identified that kefir, known to possess different beneficial effects on health, may prevent ASA-induced gastric damage. These findings, detected in an experimental model, should be supported by clinical studies in terms of consideration in the clinical practice.

Key Words: Aspirin, gastritis, mucosal damage, probiotic

KAYNAKLAR

1. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanisms of action for the aspirin-like drugs. *Nat New Biol* 1971 Jun 23; 231(25):232-235.
2. Visvanathan K, Manjarez RC, Zabriskie JB. Rheumatic Fever. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 1999 Oct; 1(3):253-258.
3. Fries JF, Ramey DR, Singh G, Morfeld D, Bloch DA, Raynauld JP. A reevaluation of aspirin therapy in rheumatoid arthritis. *Arch Intern Med* 1993; 153(21):2465-2471.
4. Hennekens CH, Dyken ML, Fuster V. Aspirin as a therapeutic agent in cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation* 1997; 96(8):2751-2753.
5. Steinhubl SR, Bhatt DL, Brennan DM, Montalescot G, Hankey GJ, Eikelboom JW, Berger PB, Topol EJ; CHARISMA Investigators. Aspirin to prevent cardiovascular disease: the association of aspirin dose and clopidogrel with thrombosis and bleeding. *Ann Intern Med* 2009; 150(6):379-386.
6. Peters RJ, Mehta SR, Fox KA, Zhao F, Lewis BS, Kopecky SL, Diaz R, Commerford PJ, Valentin V, Yusuf S; Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events (CURE) Trial Investigators. Effects of aspirin dose when used alone or in combination with clopidogrel in patients with acute coronary syndromes: observations from the Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events (CURE) study. *Circulation* 2003; 108(14):1682-1687.
7. McQuaid KR, Laine L. Systematic review and meta-analysis of adverse events of low-dose aspirin and clopidogrel in randomized controlled trials. *Am J Med* 2006; 119(8):624-638.
8. Pirmohamed M, James S, Meakin S, Green C, Scott AK, Walley TJ, Farrar K, Park BK, Breckenridge AM. Adverse drug reactions as cause of admission to hospital: prospective analysis of 18 820 patients. *BMJ* 2004; 329(7456):15-19.
9. Kimmey MB, Lanas A. Review article: appropriate use of proton pump inhibitors with traditional nonsteroidal anti-inflammatory drugs and COX-2 selective inhibitors. *Aliment Pharmacol Ther* 2004 Feb; 19 Suppl 1:60-65.
10. Cryer B, Feldman M. Effect of very low dose daily, long-term aspirin therapy on gastric, duodenal, and rectal prostaglandin levels and on mucosal injury in healthy humans. *Gastroenterology* 1999; 117(1):17-25.
11. Ono S, Kato M, Imai A, Yoshida T, Hirota J, Hata T, Takagi K, Kamada G, Ono Y, Nakagawa M, Nakagawa S, Shimizu Y, Takeda H, Asaka M. Preliminary trial of rebamipide for prevention of low-dose aspirin-induced gastric injury in healthy subjects: a randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over study. *J Clin Biochem Nutr* 2009 Sep; 45(2):248-253.
12. Toyoda T, Tsukamoto T, Takasu S, Shi L, Hirano N, Ban H, Kumagai T, Tatematsu M. Anti-inflammatory effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE), a nuclear factor-kappaB inhibitor, on *Helicobacter pylori*-induced gastritis in Mongolian gerbils. *Int J Cancer* 2009 Oct 15; 125(8):1786-1795.
13. Hwang HS, Han KJ, Ryu YH, Yang EJ, Kim YS, Jeong SY, Lee YS, Lee MS, Koo ST, Choi SM. Protective effects of electroacupuncture on acetylsalicylic acid-induced acute gastritis in rats. *World J Gastroenterol* 2009 Feb 28; 15(8):973-977.
14. Hsu DZ, Chu PY, Liu MY. Effect of sesame oil on acidified ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2009 Jul-Aug; 33(4):423-427.
15. Lee JS, Oh TY, Kim YK, Baik JH, So S, Hahm KB, Surh YJ. Protective effects of green tea polyphenol extracts against ethanol-induced gastric mucosal damages in rats: stress-responsive transcription factors and MAP kinases as potential targets. *Mutat Res* 2005 Nov 11; 579(1-2):214-224.

16. Sun YQ, Girgensone I, Leanderson P, Petersson F, Borch K. Effects of antioxidant vitamin supplements on *Helicobacter pylori*-induced gastritis in Mongolian gerbils. *Helicobacter* 2005 Feb; 10(1):33-42.
17. Fuller R. Probiotics in human medicine. *Gut* 1991; 32(4):439-442.
18. Salminen S, Bouley C, Boutron-Ruault MC, Cummings JH, Franck A, Gibson GR, Isolauri E, Moreau MC, Roberfroid M, Rowland I. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br J Nutr* 1998; 80 Suppl 1:147-171.
19. Simova E, Beshkova D, Angelov A, Hristozova Ts, Frengova G, Spasov Z. Lactic acid bacteria and yeast in kefir grains and kefir made from them. *J Ind Microbiol Biotechnol* 2002; 28(1):1-6.
20. Miki K, Urita Y, Ishikawa F, Iino T, Shibahara-Sone H, Akahoshi R, Mizusawa S, Nose A, Nozaki D, Hirano K, Nonaka C, Yokokura T. Effect of *Bifidobacterium bifidum* fermented milk on *Helicobacter pylori* and serum pepsinogen levels in humans. *J Dairy Sci* 2007 Jun; 90(6):2630-2640.
21. Marteau PR, de Vrese M, Cellier CJ, Schrezenmeier J. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(2):430-436.
22. Yang YX, He M, Hu G, Wei J, Pages P, Yang XH, Bourdu-Naturel S. Effect of a fermented milk containing *Bifidobacterium lactis* DN-173010 on Chinese constipated women. *World J Gastroenterol* 2008 Oct 28; 14(40):6237-6243.
23. Sakamoto I, Igarashi M, Kimura K, Takagi A, Miwa T, Koga Y. Suppressive effect of *Lactobacillus gasseri* OLL 2716 (LG21) on *Helicobacter pylori* infection in humans. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47(5):709-710.
24. Canducci F, Armuzzi A, Cremonini F, Cammarota G, Bartolozzi F, Pola P, Gasbarrini G, Gasbarrini A. A lyophilized and inactivated culture of *Lactobacillus acidophilus* increases *Helicobacter pylori* eradication rates. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14(12):1625-1629.
25. Sheu BS, Wu JJ, Lo CY, Wu HW, Chen JH, Lin YS, Lin MD. Impact of supplement with *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt on triple therapy for *Helicobacter pylori* eradication. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16(9):1669-1675.
26. Soll AH, Graham DY. Peptic ulcer disease. In: *Textbook of Gastroenterology*. Tadataka Yamada editor. Blackwell Publishing. 2009:936-981.
27. Montalto M, Maggiano N, Ricci R, Curigliano V, Santoro L, Di Nicuolo F, Vecchio FM, Gasbarrini A, Gasbarrini G. *Lactobacillus acidophilus* protects tight junctions from aspirin damage in HT-29 cells. *Digestion* 2004; 69(4):225-228.
28. Jean-Pierre Raufman, Eric Goldberg. Stomach and duodenum: anatomy and structural anomalies. In: *Textbook of Gastroenterology*. Tadataka Yamada editor. Blackwell Publishing. 2009:889-902.
29. Yıldırım M. İnsan Anatomisi. 5.Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd.Şti. İstanbul 2000:167-169,
30. Williams PL, Bannister LH, Berry MM. *Gray's Anatomy*. 30th edition. Churchill Livingstone. London 1995:183-186, 1753-1763.
31. Delmar's *Fundamentals of Anatomy and Physiology*. Rizzo DC editor. Thomson Learning. USA 2001:344-347.
32. Williams GT. The stomach: developmental and inflammatory conditions. In: *Oxford Textbook of Pathology*. McGee JO'D editor. Oxford University Press. New York 1992:1149-1165.
33. Owen DA. Stomach. In: *Histology for Pathologists*. Sternberg SS editor. 2th edition. Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia 1997:481-493.
34. Leeson CR, Leeson TS, Paparo AA. *Textbook of Histology*. 5th edition. W.B.Saunders Company. 1985:334-343.
35. Dudek RW. *High-Yield Histology*. 2nd edition. Lippincott Williams & Wilkins. 2000:102-105.

36. Pandol SJ, Raybould HE, Jr Yee HF. Integrative responses of the gastrointestinal tract and liver to meal. In: Textbook of Gastroenterology. Tadataka Yamada editor. Blackwell Publishing. 2009:3-14.
37. Kahrilas PJ, Pandolfino JE. Esophageal motor function. In: Textbook of Gastroenterology. Tadataka Yamada editor. Blackwell Publishing. 2009:187-206.
38. Hasler WL. The physiology of gastric motility and gastric empty. In: Textbook of Gastroenterology. Tadataka Yamada editor. Blackwell Publishing. 2009:207-230.
39. Valle JD, Todisco A. Gastric secretion. In: Textbook of Gastroenterology. Tadataka Yamada editor. Blackwell Publishing. 2009:284-329.
40. Lingappa VR. Gastrointestinal disease. In: McPhee SJ. Pathophysiology of disease. Appleton-Lange. 1st edition. California 1995:215-244.
41. Reynolds JEF. Martindale The Extra Pharmacopoeia. 31st edition. Royal Pharmaceutical Society. London 1996:17-22.
42. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 8.baskı. Hacettepe-TAŞ Kitapçılık Ltd. Şti. Ankara 1998:1002-1040.
43. Picot D, Loll PJ, Geravito RM. The x-ray crystal structure of the membrane protein prostaglandin H2 synthase-1. Nature 1994; 367(6460):243-249.
44. Hennekens CH, Dyken ML, Fuster V. Aspirin as a therapeutic agent in cardiovascular disease. A statement for healthcare professionals from the American Heart Association. Circulation 1997; 96(8):2751-2753.
45. Silvano GR, Ivey KJ, Butt JH, Lockard OO, Holt SD, Sisk C, Baskin WN, Mackercher PA, Hewett J. Incidence of gastric lesions in patients with rheumatic disease on chronic aspirin therapy. Ann Intern Med 1979; 91(4):517-520.
46. Larkai EN, Smith JL, Lidsky MD, Graham DY. Gastroduodenal mucosa and dyspeptic symptoms in arthritic patients during chronic nonsteroidal anti-inflammatory drug use. Am J Gastroenterol 1987; 82(11):1153-1158.
47. Sakamoto C. Roles of COX-1 and COX-2 in gastrointestinal pathophysiology. J Gastroenterol 1998; 33(5):618-624.
48. Tarnawski AS, Schmassmann A, Peskar BM. Cyclooxygenase 2-implications on maintenance of gastric mucosal integrity and ulcer healing: controversial issues and perspectives. Gut 2001; 49(3):443-453.
49. Tellez MR, Argüelles F, Herrerias JM, Ledro D, Esteban J. Antiinflammatory agents less dangerous for gastrointestinal tract. Current Pharmaceutical Design 2001; 7:951-976.
50. Konturek PC. Physiological, immunohistochemical and molecular aspects of gastric adaptation to stress, aspirin and to H. Pylori – derived gastrotoxins. Journal of Physiology and Pharmacology 1997; 48(1):3-42.
51. Lopitz-Otsoa F, Rementeria A, Elguezabal N, Garaizar J. Kefir: A symbiotic yeast-bacteria community with alleged healthy capabilities. Rev Iberoam Micol 2006; 23(2):67-74.
52. Turan İ, İltter T. Kafkas Dağlarından Günümüze: Kefir. Güncel Gastroenteroloji 2007; 11(2):65-75.
53. Vinderola CG, Duarte J, Thangavel D, Pertigon G, Farnworth E, Matar C. Remote-site stimulation and duration of the immune response by kefir. European Journal of Inflammation 2005; 3:63-74.
54. Vinderola G, Perdigon G, Duarte J, Thangavel D, Farnworth E, Matar C. Effects of kefir fractions on innate immunity. Immunobiology 2006; 211(3):149-156.
55. Shiomi M, Sasaki K, Murofushi M, Aibara K. Antitumor activity in mice of orally administered polysaccharide from Kefir grain. Jpn J Med Sci Biol. 1982; 35:75-80.
56. de Moreno de Leblanc A, Matar C, Farnworth E, Perdigon G. Study of immune cells involved in the antitumor effect of kefir in a murine breast cancer model. J Dairy Sci 2007; 90(4):1920-1928.

57. Matsuo M, Shichijo K, Okaichi K, Wen CY, Fukuda E, Nakashima M, Nakayama T, Shirahata S, Tokumaru S, Sekine I. The protective effect of fermented milk kefir on radiation-induced apoptosis in colonic crypt cells of rats. *J Radiat Res (Tokyo)*. 2003; 44(2):111-115.
58. Umeda C, Sonoyama K, Yamaguchi N, Saito R, Akashi K, Motoshima H, Kawabata J. Oral administration of freeze-dried kefir reduces intestinal permeation of and oral sensitization to ovalbumin in mice. *Biosci Biotechnol Biochem* 2005; 69(1):249-251.
59. Lin MY, Change FJ. Antioxidative effect of intestinal bacteria *Bifidobacterium longum* ATCC 15708 and *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356. *Dig Dis Sci* 2000; 45(8):1617-1622.
60. Guven A, Guven A, Gulmez M. The effect of kefir on the activities of GSH-Px, GST, CAT, GSH and LPO levels in carbon tetrachloride-induced mice tissues. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2003; 50(8):412-416.
61. Cats A, Kuipers EJ, Bosschaert MA, Pot RG, Vandenbroucke-Grauls CM, Kusters JG. Effect of frequent consumption of *Lactobacillus casei*-containing milk drink in *Helicobacter pylori*-colonized subjects. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17(3): 429-435.
62. Park MJ, Kim SJ, Yim JY, Jung HC, Song IS, Yu ES. The suppressive effect of a fermented milk containing *Lactobacilli* on *Helicobacter pylori* in human gastric mucosa. *Gastroenterology* 2001; 38:233-240.
63. Pantoflickova D, Corthésy-Theulaz I, Dorta G, Stolte M, Isler P, Rochat F, Enslin M, Blum AL. Favourable effect of regular intake of fermented milk containing *Lactobacillus johnsonii* on *Helicobacter pylori* associated gastritis. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18(8):805-813.
64. Coleman JC, Lacz JP, Browne RK, Drees DT. Effects of sucralfate or mild irritants on experimental gastritis and prostaglandin production. *Am J Med* 1987 Sep 28; 83(3B):24-30.
65. Woolliams JA, Wiener G, Anderson PH, McMurray CH. Variation in the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase and in the concentration of copper in the blood various breed crosses of sheep. *Res Vet Sci*. 1983;34(3):253-256.
66. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984;105:121-126.
67. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70(1):158-169.
68. Mateos R, Lecumberri E, Ramos S, Goya L, Bravo L. Determination of malondialdehyde (MDA) by high-performance liquid chromatography in serum and liver as a biomarker for oxidative stress. Application to a rat model for hypercholesterolemia and evaluation of the effect of diets rich in phenolic antioxidants from fruits. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2005 Nov 15;827(1):76-82.
69. Murakami M, Saita H, Teramura S. Gastric ammonia has a potent ulcerogenic action on the rat stomach. *Gastroenterology* 1993; 105(6):1710-1715.
70. Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Ernst H, Sliwowski K, Hahn EG. Mucosal irritation, adaptive cytoprotection and adaptation to topical ammonia in the rat stomach. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31(9):837-846.
71. Sahin O, Sulak O, Yavuz Y, Uz E, Eren I, Ramazan Yilmaz H, Malas MA, Altuntas I, Songur A. Lithium-induced lung toxicity in rats: the effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE). *Pathology* 2006 Feb; 38(1):58-62.
72. Bakken JS. Resolution of recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea using staggered antibiotic withdrawal and kefir. *Minn Med*. 2009 Jul; 92(7):38-40.
73. Tabbers MM, Chmielewska A, Roseboom MG, Boudet C, Perrin C, Szajewska H, Benninga MA. Effect of the consumption of a fermented dairy product containing

- Bifidobacterium lactis* DN-173 010 on constipation in childhood: a multicentre randomised controlled trial (NTRTC: 1571). *BMC Pediatr* 2009 Mar 18; 9:22-29.
74. Morris JD, Diamond KA, Balart LA. Do probiotics have a role in the management of inflammatory bowel disease? *J La State Med Soc.* 2009 May-Jun; 161(3):155-159.
 75. Midolo PD, Lambert JR, Hull R, Luo F, Grayson ML. In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* NCTC 11637 by organic acids and lactic acid bacteria. *J Appl Bacteriol* 1995 Oct; 79(4):475-479.
 76. Coconnier MH, Lievin V, Hemery E, Servin AL. Antagonistic activity against *Helicobacter* infection in vitro and in vivo by the human *Lactobacillus acidophilus* strain LB. *Appl Environ Microbiol* 1998 Nov; 64(11):4573-4580.
 77. Sgouras DN, Panayotopoulou EG, Martinez-Gonzalez B, Petraki K, Michopoulos S, Mentis A. *Lactobacillus johnsonii* La1 attenuates *Helicobacter pylori*-associated gastritis and reduces levels of proinflammatory chemokines in C57BL/6 mice. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005 Dec; 12(12):1378-1386.
 78. Blaser MJ, Kirschner D. Dynamics of *Helicobacter pylori* colonization in relation to the host response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96(15):8359-8364.79
 79. Michetti P, Dorta G, Wiesel PH, Brassart D, Verdu E, Herranz M, Felley C, Porta N, Rouvet M, Blum AL, Corthésy-Theulaz I. Effect of whey-based culture supernatant of *Lactobacillus acidophilus* (*johnsonii*) La1 on *Helicobacter pylori* infection in humans. *Digestion* 1999; 60(3):203-209.
 80. Lesbros-Pantoflickova D, Corthésy-Theulaz I, Blum AL. *Helicobacter pylori* and probiotics. *J Nutr* 2007 Mar; 137(3 Suppl 2):812-818.
 81. Kim TS, Hur JW, Yu MA, Cheigh CI, Kim KN, Hwang JK, Pyun YR. Antagonism of *Helicobacter pylori* by bacteriocins of lactic acid bacteria. *J Food Prot* 2003 Jan; 66(1):3-12.
 82. Gotteland M, Cruchet S, Verbeke S. Effect of *Lactobacillus* ingestion on the gastrointestinal mucosal barrier alterations induced by indometacin in humans. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15(1): 11-17.
 83. Yoshida N, Yoshikawa T, Nakamura Y, Arai M, Matsuyama K, Inuma S, Yagi N, Naito Y, Miyasaka M, Kondo M. Role of neutrophil-mediated inflammation in aspirin-induced gastric mucosal injury. *Dig Dis Sci* 1995 Nov; 40(11):2300-2304.
 84. Yoshikawa T, Takano H, Naito Y, Oyamada H, Ueda S, Kondo M. Augmentative effects of tumor necrosis factor-alpha (human, natural type) on polymorphonuclear leukocyte-derived superoxide generation induced by various stimulants. *Int J Immunopharmacol* 1992 Nov; 14(8):1391-1398.
 85. Santucci L, Fiorucci S, Di Matteo FM, Morelli A. Role of tumor necrosis factor alpha release and leukocyte margination in indomethacin-induced gastric injury in rats. *Gastroenterology* 1995 Feb; 108(2):393-401.
 86. Gill HS, Rutherford KJ, Prasad J, Gopal PK. Enhancement of natural and acquired immunity by *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), *Lactobacillus acidophilus* (HN017) and *Bifidobacterium lactis* (HN019). *Br J Nutr* 2000 Feb; 83(2):167-176.
 87. Cunningham-Rundles S, Ahrné S, Bengmark S, Johann-Liang R, Marshall F, Metakis L, Califano C, Dunn AM, Grasse C, Hinds G, Cervia J. Probiotics and immune response. *Am J Gastroenterol* 2000 Jan; 95(1 Suppl):22-25.
 88. von Der Weid, Bulliard C, Schiffrin EJ. Induction by a lactic acid bacterium of a population of CD4 (+) T cells with low proliferative capacity that produce transforming growth factor beta and interleukin-10. *Clin Diagn Laboratory Immunol* 2001; 8(4):695-701.
 89. Rodríguez C, Medici M, Rodríguez AV, Mozzi F, Font de Valdez G. Prevention of chronic gastritis by fermented milks made with exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* strains. *J Dairy Sci* 2009; 92(6):2423-2434.

90. Uchida M, Kurakazu K. Yogurt containing *Lactobacillus gasseri* OLL2716 exerts gastroprotective action against [correction of agaisnt] acute gastric lesion and antral ulcer in rats. *J Pharmacol Sci* 2004 Sep; 96(1):84-90.
91. Dial EJ, Lichtenberger LM. A role for milk phospholipids in protection against gastric acid. Studies in adult and suckling rats. *Gastroenterology* 1984 Aug; 87(2):379-385.
92. Materia A, Jaffe BM, Money SR, Rossi P, De Marco M, Basso N. Prostaglandins in commercial milk preparations. Their effect in the prevention of stress-induced gastric ulcer. *Arch Surg* 1984 Mar; 119(3):290-292.
93. Koo MWL. The effects of milk and calcium on ethanol-induced gastric mucosal damage. *Pharmacol Res* 1994; 29:217-224.
94. Ippoliti AF, Maxwell V, Isenberg JI. The effect of various forms of milk on gastric-acid secretion. Studies in patients with duodenal ulcer and normal subjects. *Ann Intern Med* 1976 Mar; 84(3):286-289.