

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MORFOLOJİ ANABİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
BİLİM DALI DOKTORA PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Mehmet KANTER

**GAMMA RADYASYONUN İLEUM KADEHSİ
HÜCRELERİNDE OLUŞTURDUĞU HASARLARA
KARŞI CURCUMİN VE C VİTAMİNİNİN KORUYUCU
ETKİLERİNİN IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK
DÜZEYLERDE İNCELENMESİ**

(Doktora Tezi)

Meryem AKPOLAT

EDİRNE – 2007

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MORFOLOJİ ANABİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
BİLİM DALI DOKTORA PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Mehmet KANTER

**GAMMA RADYASYONUN İLEUM KADEHSİ
HÜCRELERİNDE OLUŞTURDUĞU HASARLARA
KARŞI CURCUMİN VE C VİTAMİNİNİN KORUYUCU
ETKİLERİNİN IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK
DÜZEYLERDE İNCELENMESİ**

(Doktora Tezi)

Meryem AKPOLAT

Destekleyen Kurum :TÜBAP-633

Tez No :

EDİRNE – 2007

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı doktora programı çerçevesinde ve Prof. Dr. Mehmet KANTER danışmanlığında doktora öğrencisi Meryem AKPOLAT tarafından tez başlığı “Gamma Radyasyonun İleum Kadehsi Hücrelerinde Oluşturduğu Hasarlara Karşı Curcumin ve C Vitamininin Koruyucu Etkilerinin Işık ve Elektron Mikroskopik Düzeylerde İncelenmesi” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 29/06/2007 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “**Doktora Tezi**” olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet KANTER
JÜRİ BAŞKANI

Prof. Dr. Süleyman KAPLAN
ÜYE

Doç. Dr. Bülent Sabri CİĞALI
ÜYE

Doç. Dr. Zafer KOÇAK
ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Gülnur KIZILAY
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. İsmet DÖKMECİ
Enstitü Müdürü

TEŐEKKÖR

Eğitimim süresince, yetiŐmemde büyük emeği olan rahmetli hocam sayın Prof. Dr. Müberra UYGUN'u saygıyla anıyorum. Çalışmam sırasında bilimsel katkıları ile desteğini esirgemeyen, tez danışman hocam sayın Prof. Dr. Mehmet KANTER'e, araŐtırmam süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım sayın hocalarım Prof. Dr. Recep MESUT, Doç. Dr. Mustafa Cem UZAL, Yrd. Doç. Dr. Gülnur KIZILAY ve Yrd. Doç. Dr. YeŐim Hülya UZ'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Çalışmam esnasında yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım AraŐ. Gör. Yeter T. TARLADAÇALIŐIR, AraŐ. Gör. Melike SAPMAZ, uzman biyolog Cevat AKTAŐ, biyolog Tolga MERCANTEPE, AraŐ. Gör. Dr. Bilkay SEREZ ve uzman fizikçi Fadime ALKAYA'ya, maddi olanak sağlayan, Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri'ne, teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

GİRİŞ VE AMAÇ	1-3
GENEL BİLGİLER	4-14
RADYASYONDA TEMEL KAVRAMLAR	4-7
GASTROİNTESTİNAL MÜSİNLERİN ÜRETİMİ YAPISI VE FONKSİYONU	8-12
CURCUMİN	12-13
C VİTAMİNİ	14
GEREÇ VE YÖNTEMLER	15-17
BULGULAR	18-62
KONTROL GRUBUNA AİT MORFOLOJİK BULGULAR	18-19
TEK DOZ RADYASYON GRUBUNA AİT MORFOLOJİK BULGULAR	19-20
İKİ DOZ RADYASYON GRUBUNA AİT MORFOLOJİK BULGULAR	21
TEK DOZ RADYASYON VE CURCUMİN GRUBUNA AİT MORFOLOJİK BULGULAR	22
İKİ DOZ RADYASYON VE CURCUMİN GRUBUNA AİT MORFOLOJİK BULGULAR	23
TEK DOZ RADYASYON VE C VİTAMİNİ GRUBUNA AİT MORFOLOJİK BULGULAR	24
İKİ DOZ RADYASYON VE C VİTAMİNİ GRUBUNA AİT MORFOLOJİK BULGULAR	25
KONTROL GRUBUNA AİT IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLER	26-29
TEK DOZ RADYASYON GRUBUNA AİT IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLER	30-34
İKİ DOZ RADYASYON GRUBUNA AİT IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLER	35-41
TEK DOZ RADYASYON VE CURCUMİN GRUBUNA AİT IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLER	42-46
İKİ DOZ RADYASYON VE CURCUMİN GRUBUNA AİT IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLER	47-49
TEK DOZ RADYASYON VE C VİTAMİNİ GRUBUNA AİT IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLER	50-53
İKİ DOZ RADYASYON VE C VİTAMİNİ GRUBUNA AİT IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLER	54-58
MORFOMETRİK BULGULAR	59
HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	60-61
AĞIRLIK TAKİBİ SONUÇLARI	62
TARTIŞMA	63-72
SONUÇ	73

ÖZET	74-75
SUMMARY	76-77
KAYNAKLAR	78-87
RESİMLEMELER LİSTESİ	88-90
ÖZGEÇMİŞ	91
EK 1 ETİK KURUL KARARI	92

SEMBOL VE KISALTMALAR LİSTESİ

α : Alfa

ATP: Adenozin trifosfat

β : Beta

Ca⁺²: Kalsiyum

cAMP: Siklik adenozin monofosfat

cGy: Santigray

cm: Santimetre

⁶⁰Co: Kobalt 60

DNA: Deoksiribonükleik asit

dk: Dakika

DMSO: Dimetilsülfoksit

Fe⁺³: Feri-demir

Fe⁺²: Ferro-demir

γ : Gamma

Gy: Gray

GIS: Gastrointestinal sendrom.

H[•]: Hidrojen radikali

H+E: Hematoksilen+Eosin

H₂O₂: Hidrojen peroksit

ICAM-1: Hücrelerarası adezyon molekülü-1

IgA: İmmunoglobulin A

i.g: İntragastrik

i.p: İntraperitoneal

KDa: Kilodalton

kg: Kilogram

LDL: Düşük dansiteli lipoprotein

LS180: Kolonik adenokarsinoma hücre serisi

LS174T: Kolon kanseri hücre serisi

mg: Miligram

mm³: Milimetreküp

ms: Milisaniye

mRNA: Haberci ribonükleik asit

nm: Nanometre

µm: Mikrometre

µm²: Mikrometrekare

OH[•]: Hidroksil radikali

OsO₄: Osmium tetraoksit

PAS+HL: Periyodik Asit Schiff + Hemalen

PGE₂: Prostaglandin E₂

PGD₂: Prostaglandin D₂

PtO₂: Platinum oksit

rRNA: Ribozomal ribonükleik asit

THC: Tetrahidocurcumin

UV: Ultraviyole

GİRİŞ VE AMAÇ

Yeryüzündeki canlılar, sürekli olarak, doğal ya da yapay radyasyon kaynaklarından yaşadıkları çevreye yayılan iyonlaştırıcı radyasyonların etkisi altındadırlar. Bu sebeple, söz konusu radyasyonlarla canlı sistemler arasındaki etkileşimlerin araştırılması ve anlaşılması büyük önem taşır. Bu konu, halen çoğu araştırmacının ilgi odağını oluşturmaktadır (1, 2).

Günümüzde radyoaktif izotopların ve radyasyonların; temel bilim, tıp, tarım ve endüstri gibi çeşitli uygulama alanlarında kullanılışı çok geniş boyutlara ulaşmıştır. Tıpta radyoaktif izotoplar ve radyasyon, çeşitli hastalıkların tanı ve tedavisinde, yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla, çeşitli lezyon ve oluşumların vücuttaki yerlerini saptamak için radyasyondan yararlanan radyoloji, daha çok radyoaktif izotopların kullanılması ile ilgilenen nükleer tıp ve özellikle tümörlerin radyasyonla tedavisine yönelik radyoterapi, bu yaygın uygulamaları kapsayan uzmanlık alanlarıdır (1, 3).

Radyoterapide, derindeki dokulara girebilen ve hasta hücrelerin ölümüne yol açan yüksek enerjili X ışını kaynakları, partikül akseleratörleri ve kobalt 60 (^{60}Co) kaynaklarından elde edilen iyonlaştırıcı radyasyonlar kullanılır. Radyoterapi; özellikle nefroblastoma, nöroblastoma, Hodgkin hastalığı, sarkom, testis, prostat, ince bağırsak, anal kanal, kolon ve rektum kanserlerinde, uzun dönemde hastalığın kontrolünü sağlayarak, olumlu sonuçlar vermektedir. Ancak bu olumlu sonuçların yanı sıra, tedavi esnasında ortaya çıkabilecek riskleri de göz ardı etmemek gerekir. Radyasyonun çeşitli doku ve organlar üzerindeki etkileri; dokuların radyasyona duyarlılığına, yaşa, cinsiyete, tedavi sayısı ve süresine, toplam doza bağlıdır (4, 5).

X ışınları 1895 yılında Wilhelm Konrad Roentgen tarafından bulunmuştur. Ancak Walsh, bu ışınların yararlı etkisi beklenirken, normal dokularda hasar verici etkiye de sahip

olabileceğini, bizzat kendi üzerinde saptamıştır. Yirminci yüzyılın başlarında radyoterapistler, radyasyonun bağırsaklar üzerine olan etkilerini görmüş, batın radyasyonu sonucu ortaya çıkan akut etkileri; bulantı, kusma, karın ağrısı ve diare, geç etkileri de; fistül ve obstrüksiyon olarak tanımlamışlardır (6-8).

Radyasyon hasarına en fazla hücre yenilenmesi hızlı olan dokularda rastlanır. İnce bağırsakta, ışınlamayı takiben ortaya çıkan değişiklikler, öncelikle, “villus” adı verilen yapıların örtü epitelinde görülür. Son derece proliferatif olan Lieberkühn bezi hücreleri, sürekli farklılaşan, terminal villusa doğru ilerleyen ve belli bir gelişim sonrası intestinal lümeneye dökülen hücrelerdir. Radyasyon, henüz farklılaşmamış bu hücrelerin mitotik safhada ölümüne neden olur. Bunun sonucu; villus duvarında; düzleşme ve ülserasyonun yanı sıra septik infiltrasyon görülür. İnsan villusunda hücrelerin yenilenme süreci yaklaşık 3-4 gündür (9, 10).

İntestinal epitelde; gerek enterositler gerekse kadehsi hücreler üzerindeki iyonize radyasyonun sitotoksik etkisinin, oksidatif stres ile de ilgili olduğu ileri sürülmektedir (11). Bazı hasarlar, hücre içi mekanizmalar tarafından tamir edildiği halde, yine de öldürücü hasarlara rastlanmaktadır. Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, 8 Gray (Gy) in altındaki dozlarda, gastrointestinal sendrom (GIS) bulgularının görüldüğü, üstündeki dozlarda ise deneklerin öldüğü bildirilmiştir (1).

İntestinal epitelin yüzeyi sürekli olarak çok sayıda makromoleküle, mikroorganizmalara, kimyasal iritanlara, sindirilen besinlere, toksinlere, yerleşmiş bakterilere, bağırsak patojenleri ve onların ürünlerine maruz kalır. Kadehsi hücreler tarafından üretilen mukus, zararlı makromoleküllerin difüzyonunu engeller. Mukus jel yüksek konsantrasyonda immunoglobulin A (IgA) içermesi ile de, yalnızca kimyasal ajanlara karşı değil aynı zamanda, patojenlere karşıda koruyucu etki gösterir (9, 11).

Radyasyon maruziyeti sonrası intestinal epitelin bütünlüğünde meydana gelen bozukluklar, mukus jelin bariyer fonksiyonunu daha da ön plana çıkarır. Bu noktada mukus jelin üretiminden sorumlu kadehsi hücrelerin radyasyona bağlı olarak şekil ve sayı bakımından ne gibi değişikliklere uğradığı önem kazanır. Şu ana kadar, radyasyonun intestinal kanalda meydana getirdiği hasarlar üzerine yapılan çalışmalar göz önüne alındığında kadehsi hücrelerin pek ön plana çıkarılmadığı, daha çok enterositler üzerinde durulduğu fark edilmiştir. Bu açıdan bakıldığında bu konuda var olan çalışma eksikliği göze çarpmaktadır.

Günümüzde radyasyona bağlı gastrointestinal sistemdeki olumsuz etkilerin azaltılması, hatta ortadan kaldırılması için çeşitli tedavi yöntemleri, deneysel hayvan modelleri üzerinde yapılan çalışmalarla daha da önem kazanmaktadır.

Antioksidan maddelerin, radyasyon hasarına karşı yararlı etkiye sahip olduğu ileri sürülmektedir (11-13). İnsanlarda antiinflamatuvar, antioksidan ve antitümöral etkiye sahip fenolik yapılı curcuminin ve yıllardır antioksidan etkisi hala araştırılan C vitamininin radyasyon hasarını engelleyici etkileri olabileceğini düşünerek planladığımız bu çalışmada; sıçanlara uygulanan gamma (γ) radyasyonun, ileum kadehsi hücrelerinde meydana getirdiğı hasarlarda curcumin ve C vitamininin koruyucu etkisinin olup, olmadığını saptamayı amaçladık.

GENEL BİLGİLER

RADYASYONDA TEMEL KAVRAMLAR

Radyasyon, yüksek hızda partiküllerin ve elektromanyetik dalgaların enerjisi olarak tanımlanır, “iyonize ve iyonize olmayan” olmak üzere iki gruba ayrılır.

Atom veya molekülden bir elektron kopma olayı iyonlaşmadır. İyonize radyasyon, bu olayı oluşturan radyasyon tipidir. X ve γ ışınları ile alfa (α) ve beta (β) partikülleri, elektronlar, protonlar ve nötronlar iyonize radyasyon tiplerini oluştururlar. İyonize olmayan radyasyonda ise; enerji seviyesi yeterli olmadığından, atom yörüngesinde meydana gelen değişim, organizmada büyük bir farklılaşma oluşturmaz. Bu radyasyona örnek: görünen ışığı, radyo-televizyon, ultraviyole (UV) ve mikrodalgaları gösterebiliriz.

İyonize radyasyonlar; kütleli yapıya sahip partiküler radyasyon ve foton enerjili dalga karakterinde elektromanyetik radyasyon olmak üzere iki alt gruba ayrılır. Bunlardan X ve γ ışınları, canlı organizmada iyonizasyona sebep olan, elektromanyetik radyasyonlardır. Her iki ışın, özellikleri açısından birbirlerine benzerse de, meydana geliş şekilleri farklıdır. X ışınları çekirdek dışında oluşan elektron kaynaklı ışınlardır. γ ışınları ise, radyoaktif bir çekirdeğin kararlı hale geçerken parçalanıp, fazla enerjisinin çekirdekte dışarı atılması sırasında ortaya çıkar.

Her iki ışın da, uzayda dalga hareketi ile yayılıp, foton adı verilen enerji paketlerinden oluşur. Bir elektromanyetik radyasyonun dalga boyu uzun ise; frekans ve foton enerjisi küçük, dalga boyu kısa ise; frekans ve foton enerjisi büyüktür.

Bu nedenle X ve γ ışınları, kendileri ile aynı spektrumda yer alan görünür ışık, enfraruj ışık, radyo ve televizyon dalgalarıyla aynı özelliklere sahip oldukları halde, daha yüksek enerjiye sahip olmaları ile onlardan ayrılır (1, 14).

Radyasyonun Canlıdaki Etkime Basamakları

Radyasyonun canlıda oluşturduğu etkiler incelendiğinde, radyasyon enerjisinin absorplanması ile biyolojik etkinin ortaya çıkışı arasındaki dönemde, birbirini izleyen etkiye olaylarını üç basamakta göstermek mümkündür (1, 3)

Radyasyon etkimesinin ilk basamağı olan “fiziksel basamak”, iyonlaştırıcı radyasyonlar ile canlı dokuların atom ve molekülleri arasındaki ilk etkileşimleri kapsar; radyasyon enerjisi maddeye transfer edilir ve bu olay radyasyonu absorplayan maddenin moleküllerinde iyonlaşma, ya da uyarılmaya yol açar. Bu basamakta bir elektron 10^{-18} saniyede DNA molekülünden, 10^{-14} saniyede bir hücreden geçerken, DNA molekülü veya hücredeki diğer moleküllerde iyonlaşma ve uyarılma olayları meydana gelir. İyonlaşma sonucu ortaya çıkan serbest elektronlar, diğer komşu atomlarda da iyonlaşmalara yol açarak, “zincirleme iyonlaşma” oluşturur. Örneğin, 1 Gy radyasyon absorplayan 10 mikrometre (μm) çapındaki hücrede, bu yolla 10^5 iyonlaşma olayı ortaya çıkar. Başlangıçta ortaya çıkan yeni ürünler, son derece kararsızdır, kısa sürede sekonder radyasyonların oluşmasına yol açarlar.

Radyasyon etkimesinin ikinci basamağı, “kimyasal basamak” olup, birinci basamakta organizmanın hasar görmüş atom ve molekülleri, bu basamakta diğer hücrenel yapılar ile reaksiyona girer. Bunlar, basit veya karmaşık zincirleme reaksiyonlar şeklinde olup, serbest radikalleri oluştururlar. Çok reaktif olan bu yapılar, kendileri veya ortamdaki diğer moleküllerle reaksiyona girerler. Radyasyon absorpsiyonundan 1 milisaniye (ms) sonra reaksiyonlar tamamlanırlar.

Organizmada radyasyon etkisi ile oluşan moleküler değişiklikler, olayın “biyolojik basamak” olarak adlandırılan üçüncü basamağını başlatır. Bu basamakta, canlıda meydana gelen olaylar, radyasyonun son biyolojik etkisini ortaya çıkarır. Biyolojik basamak, çeşitli hasarlara yol açan enzim reaksiyonları ile başlar, DNA molekülünde hasarlar oluşur. Bunların bir kısmı onarılabılır. Ancak onarılamayanları hücrenin ölümüne yol açabilir (1, 3, 15).

Biyolojik sistemde, radyasyon etkisi ile oluşan olaylar zinciri, eğer radyasyon enerjisinin; DNA, ya da bir enzim molekülü gibi özel bir biyolojik yapı tarafından absorplanması ile başlamışsa, buna “radyasyonun direkt etkisi” adı verilir. Işınlanmış hücrelerde esas hedefin DNA olduğu görülmüştür (10). Hücre, özellikle bölünmesi sırasında,

radasyona en duyarlı evrededir. Mitoz bölünme sırasında, DNA'nın iki katına çıkararak, radyasyon için daha çok ışınlanacak bölge oluşturmasının katkısı büyüktür. Radyasyon etkisi ile DNA'nın tek veya çift kolunda kırık ve baz hasarları oluşabilir (16). DNA'nın radyokimyasal hasarları reversible olabilir. Ancak ortamdaki oksijen konsantrasyonu, serbest radikalleri oluşturabileceğinden, oksijen tarafından geri dönüşüm inhibe olur (17).

Ayrıca, radyasyon enerjisi hücrenin biyolojik molekülleri (DNA ve enzim gibi) dışında, diğer yapılar tarafından absorplanmış olabilir. Radyasyon enerjisinin absorplanması ile değişikliğe uğrayan bu yapılar, biyolojik moleküllerle reaksiyona girerek, onları değiştirilebilirler. Başlangıçta radyasyon enerjisi biyolojik molekül tarafından absorplanmamıştır. Fakat onun da içinde bulunduğu diğer yapılar tarafından absorplandığından biyolojik molekül de bu olaydan indirekt olarak etkilenmiştir. Bu etkiye radyasyonun “indirekt etkisi” adı verilir (1). Canlı maddelerin %70-90'ını su oluşturduğundan, en çok su moleküllerinin etkilenmesi, vücut için oldukça zehirli hidroksil (OH^{\bullet}) ve hidrojen radikallerinin (H^{\bullet}) ortaya çıktığı görülür. Bunların birbiriyle ve biyolojik moleküllerle etkileşmeleri, yine çok toksik hidrojen peroksit (H_2O_2) moleküllerini oluşturabilir (15, 17-19). Artan hücre içi H_2O_2 konsantrasyonu, enzim sistemleri tarafından yok edilemeyince, düşürülemeyip hücre içinde birikir ve oksidan etkisiyle hücre hasarına sebep olur (12, 13, 20)

X ve γ radyasyonları gibi, seyrek iyonlaşma olaylarına yol açan radyasyonların etkisi, daha çok indirekt yolla meydana gelir. Canlı madde, yüksek oranda su içerdiğinden, indirekt etkiler, direkt radyasyon etkilerinden önemli olup, bunlar daha büyük radyasyon hasarlarına yol açarlar (1).

Radyasyona Hücre Duyarlılığı

Bergonie ve Tribondeau, radyasyonun biyolojik etkilerine dayanan bir hipotezle “Radyobiyojinin Temel Kanunu” nu ileri sürmüşlerdir. Buna göre, “ışınlanan canlılarda gözlenen biyolojik etkiler, bu hücrelerin bölünme kapasiteleri ile doğru, farklılaşma dereceleri ile ters orantılıdır”.

Radyasyon duyarlılığı, çoktan aza doğru sıraladığımızda; hızlı bölünen, ancak henüz farklılaşmamış hücreler olarak: eritroblast, bağırsak Lieberkühn bezi hücreleri, spermatogonium ve epidermis bazal hücrelerini görürüz. Hücreler farklılaştıkça, radyasyon duyarlılıkları azalır (1).

“Radyasyona duyarlılık yasası”na göre; karaciğer, böbrek, kas, beyin, kemik, kıkırdak ve bağ dokuları, ergin canlıda farklılaşmış olduğundan dirençli doku ve organları oluşturmakta, buna karşın, kemik iliği, oogonium, spermatogonium seri hücreleri, mide-bağırsak ve epidermin canlı hücreleri ise radyasyona duyarlılık göstermektedirler (3).

Radyasyonun Gastrointestinal Sistem Üzerine Etkileri

Gastrointestinal sistemde radyasyona duyarlılık duodenumdan rektuma doğru giderek azalır (21). Bağırsaklarda radyasyona en duyarlı hücreler, Lieberkühn bezlerinin dip kısımlarında hızlı çoğalan, ancak farklılaşmasını villus tepesinde tamamlayan hücrelerdir. Bu hücreler radyasyon sonucu zedelenebilir ve ölür. Radyasyonun etkisi doza ve zamana bağlıdır. Yüksek dozda veya tekrarlanarak artan dozda; mukozada atrofi, submukozada ödem, hiperemi, lamina propria plazmosit ve polimorf nükleuslu lökosit infiltrasyonu, inflamasyon, farklılaşmamış hücrelerde de mitoz inhibisyonu görülür (22-25).

Akut radyasyon enteriti, radyoterapinin akut fazında, en sık görülen komplikasyonlardan biridir. Günde 150 rad'ın üstünde batın radyasyonu alan kişilerin % 90'ında, enterite rastlanır. Ayrıca gastrointestinal sistemde fonksiyonel bozukluklar da görülebilir (8, 26).

Bu bozuklukları önlemek veya azaltmak için halen, çalışmalar sürdürülmektedir. Bazı çalışmalarda, meydana gelen bozuklukların, radyasyon tarafından ortaya çıkan serbest radikallerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Radyasyona bağlı olarak ortaya çıkan serbest radikallerin stabilitesini ve miktarını endojen ve ekzojen faktörler etkileyebilir. Bu sebeple pek çok çalışmada, canlı materyalin radyasyona duyarlılığını etkileyebilecek, moleküler oksijen, tiyoller, vitamin E ve diğer antioksidanlar kullanılmıştır. Kimyasal ajanlar tarafından organizmanın radyasyondan korunması fikrinin temel dayanağı, radikal süpürücü reaksiyonlar olduğu düşünülmektedir (27-31).

GASTROİNTESTİNAL MÜSİNLERİN ÜRETİMİ YAPISI VE FONKSİYONU

Müsinlerin Genel Özellikleri

Gastrointestinal epitel; su, tuzlar, immunoglobulinler, sekrete proteinler ve müsinlerden oluşan kalın bir visköz mukus tabakası ile kaplıdır. Müsinler, büyük moleküler ağırlığa sahip glikoproteinlerdir. Mukus tabakası, epiteli koruyan bariyer fonksiyonundan dolayı, tüm mukozal yüzeyin ve gastrointestinal kanalın en önemli koruyucu bileşenidir. Müsinler; membrana bağlı ve sekrete müsinler olmak üzere, iki büyük sınıf içinde gruplanır. Sekrete müsinler, mukus jelin yapısına katılırlar ve gastrointestinal kanalın tamamında, özelleşmiş epitelyal hücreler tarafından üretilirler. Öte yandan membrana bağlı müsinlerin rolü hala tamamen anlaşılmış değildir. Müsinler, molekül ağırlıkları 0,5-25.10⁶ KDa arasında değişen, fazlasıyla büyük glikoproteinlerdir. Tipik bir müsin molekülünün protein çekirdeği, birbiri arkasına dizili tekrarlayan tironin, prolin ve serin aminoasitlerinden meydana gelir. Müsinlerden oluşan mukus jel tabakası, gastrointestinal mukozayı yalnızca kimyasal ajanlara karşı değil, içerdiği yüksek konsantrasyonda IgA ile patojenlere karşı da korur (32).

Kadehsi Hücrenin Morfolojik Özellikleri

Özelleşmiş hücreler tarafından müsinin ve diğer bileşenlerin düzenli olarak fazla miktarda üretimi ile mukus tabakası sürekli olarak yenilenir. Tek tek yerleşen bu epitelyal hücreler, mide ve safra kesesinde mukus hücreleri, kalın ve ince bağırsakta ise kadehsi hücreler olarak adlandırılır. Kadehsi hücrelerin fonksiyonu; salgı üretimi için özelleşmiş ekzokrin hücrelerde olduğu gibi, sentezlenen müsinin intestinal kanal lümenine tek yönde taşınması ile gerçekleşir. Yüksek derecede polarize olan bu prizmatik hücreler, ince ve kalın bağırsakta temel olarak mukus üreten hücrelerdir. Kadehsi hücrelerin sayısı, duodenumdan, ileuma ve kolona doğru giderek artar. Bu hücreler teka olarak adlandırılan, intraselüler kompartmanlarında membrana bağlı müsin granüllerini biriktirebilme özelliğine sahiptirler. Kadehsi hücrenin apikal sitoplazmasında bulunan, oldukça sıkı paketlenmiş çok sayıdaki müsin granülleri, hücrenin ana kısmını oluşturur. Sıkıca paketlenmiş olan olgun müsin granülleri, hücre iskeletini oluşturan bileşenlerin karmaşık bir kompozisyonunu içeren, sitoplazmanın ince bir tabakası tarafından, organeller ve plazma membranından ayrılır. Diğer bağırsak epitel hücrelerinde olduğu gibi, kadehsi hücreler de apikal yüzlerinde mikrovillüslara

sahiptirler, ancak absorptif hücrelerle karşılaştırıldığında sayıları daha azdır. Kadehsi hücrenin bazal kısmı, olgun kadehsi hücrenin karakteristik gövde şeklini gösterir ve müsin üreten organelleri içerir. Nükleus; granüllü endoplazmik retikulum (GER) ve Golgi aygıtı tarafından apikalde çevrelenir. Nükleusu çevreleyen sitoplazma, mevcut serbest ribozomlar yüzünden, yüksek derecede bazofiliktir. Yeni şekillenen müsin granülleri, Golgi aygıtının trans yüzünden tomurcuklanarak uzaklaşır ve kondanse vakuoller olarak adlandırılır. Matür granüller, teka bölgesinde lokalize olur (33).

Kadehsi Hücrenin Olgunlaşması ve Hücre İskeletindeki Değişiklikler

Kadehsi hücreler 3-5 günlük kısa ömürleri süresince, dramatik morfolojik değişiklikler geçirir. Kadehsi hücreler ya Lieberkühn bezinin tabanındaki pluripotent kök hücrelerden yada hem absorptif hem de kadehsi hücrelerin karakteristiğine sahip, bezin üçte birlik kısmını kaplayan, az farklılaşmış oligomukus hücrelerden, mitoz bölünme ile meydana gelir. Kaynak hücrelerden, kadehsi hücreye farklılaşma meydana geldiğinde, hücre müsin granüllerini sentez ve sekrete etmeye başlar. Bezin tabanındaki olgunlaşmamış hücreler, olgun hücreler ile kıyaslandığında, daha geniş, piramit şeklinde oldukları ve organellerinin iyi organize olmadığı gözlenir. Endoplazmik retikulum (ER) hücrenin bazalinden apikaline doğru yerleşmiştir. Golgi aygıtının elemanları, öncelikle supranükleer bölgede lokalize olmuştur ve müsin granülleri hücrenin supranükleer ve apikal kısmına doğru dağılmıştır. Hayatlarının bu erken evresi esnasında, kadehsi hücreler bazal lamina ile yaygın temasa sahiptir ve lümen ile az ilişki kurar. Bu dönemde kadehsi hücrenin ortalama hacmi 1229 mm^3 tür. Hücreler Lieberkühn bezinden yukarıya doğru göç ederken hacimleri çarpıcı şekilde azalır. Çünkü, müsin granülleri sekrete edilirken, sıkı paketlenmiş müsin granülleri ile birlikte, hücre organelleri ve sitoplazmanın bir kısmı kaybedilir. Hücre olgunlaşırken bazal lamina ile olan teması giderek kaybolur ve lümeneye geçişi daha da artar. Hücresel organeller çok açık bir biçimde dağılır, buna rağmen hücreler, olgun kadehsi hücreler ile kıyaslandığında hala piramidal şekillerini korur. Kadehsi hücreler, villusun üçte birlik üst kısmına ulaştığında, hücrelerin apikal kısmında müsin granülleri paketlenir, ER daha fazla hücrenin bazal ve lateral kısımlarında sınırlanır. Golgi aygıtı supranükleer bölgede çok kolaylıkla ayırt edilir. Organellerin hacminde meydana gelen azalma ile, Lieberkühn bezinin ağzında ya da epitel yüzeyinde, ortalama hücre hacmi, orjinal hacmin %50'si kadar azalır (542 mm^3). Apikal bölgede paketlenmiş olan olgun müsin granülleri ve uzamış dar sapsı bazal kısım, polarize

olmuş kadehisi hücreye karakteristik “kadeh” şeklini verir. Olgun kadehisi hücre, villusun ucuna ulaştığında, hücrenin bazal lamina ile olan tüm teması kaybolur ve hücrenin tüm içeriği salınarak, intestinal lümen içine dökülür. Kadehisi hücreler, lümen içine doğru dökülene kadarki süreçleri esnasında, sürekli olarak müsin üretirler (33).

Hücrenin Yapısal Organizasyonu

Kadehisi hücrelerin, villusun ucuna doğru olan göçleri esnasında, hücresel mimarilerinin yeniden organizasyonu yüzünden, dramatik morfolojik değişiklikler meydana gelir. Müsin sekresyonunun başladığı kısımda, kadehisi hücrenin sitoplazması ve hücresel organellerinde kayıp meydana gelir. Olgun kadehisi hücre, villusun tepesine ulaştığında, tipik olarak kadehisi bir morfoloji sergiler. Yüksek polarizasyona sahip bu hücrelerde, hücresel mekanizma açık bir şekilde organize olmuştur. Sıkıca paketlenmiş olan müsin granülleri, apikal bölgeye dağılmıştır. Teka tabakası; apikal plazma membranının altında, sepete benzer bir yapıda, mikrotübüllerin ağ örgüsünden ve intermedier filamentlerin oluşturduğu bantlardan meydana gelir. Keratin filamentlerin bu ağı örgüsü, hücrenin bazalinden apikaline kadar uzanır ve hücreye kadehisi şeklini verir. Ne sekretuar granüllerin kaybı, ne de diğer hücresel bileşenlerin eliminasyonu, olgun kadehisi hücrenin şeklini değiştirebilir (34). F-aktin filamentlerinin ağı yapısı, granül kitlesi ve apikal plazma membranı arasında fiziksel bir bariyer oluşturur. Bu bariyer; müsin granüllerinin membran ile kontakını önleyerek, salınımlarını engeller.

Kadehisi hücrenin villusun tepesine doğru göçü esnasında, müsinin kimyasal kompozisyonunda bir takım değişiklikler meydana gelir. Müsinin sialik asit içeriği artar. İntestinal kanal boyunca, kadehisi hücrelerin müsin içeriğinde farklılıklar gözlenir.

Normal fizyolojik durumda, kadehisi hücreler müsinleri sentez ve sekrete ederler. Bu müsinler, epiteli kaplayan mukus tabakasını sürekli kılabilmek için, apikal granül kitlesinde depolanmaksızın salınırlar. Bu sekresyon, mukus jel tabakasının kalınlığını korumak için gereklidir (35). Yeni şekillenen müsin granüllerinin düzensiz salınımı, reseptör bağımlı değildir. Her ne kadar, Golgi aygıtının veziküllerinden müsin granüllerinin hücre yüzeyine düzenli taşınımı ve granüllerin hareketi mikrotübüllere bağımlı bir olay olsada, düzensiz sekresyonun mekanizması hala tam olarak açıklanamamış değildir (36).

Mikrotübüller; Golgi aygıtından hücrenin apeksine, doğru müsin granüllerinin düzenli hareketinin sürdürülmesini sağlayarak, temel sekresyonda büyük bir rol oynar. Kolonik adenokarsinoma hücre serisi olan LS180'de monensin'in Golgi aygıtının fonksiyonunu bozarak, temel sekresyonu neredeyse tamamen inhibe ettiği gösterilmiştir (37). Nocodazol'un de mikrotübül oluşumunu inhibe ederek temel müsin sekresyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği bulunmuştur. Bu çalışmalar; temel sekresyonda, yeni sentezlenen müsinin Golgi aygıtından hücre yüzeyine, mikrotübüllerin yardımı ile taşınmaya başladığını gösterir.

Temel ekzositozda, aktin filamentlerinin önemli bir role sahip olduğu bilinmektedir. Hücrenin aktin iskeleti, müsin granüllerinin, apikal plazma membranı ile ilişki kurmasını engeller. Sitokalsin D uygulanan kadehsi hücreler ile yapılan bir çalışmada; apikal granül kitlesindeki F-aktin filamentlerinin tabakalaşmasında bozulma olması nedeniyle, yeni oluşan müsin granüllerinin temel sekresyonunda artış meydana geldiği, ancak depolanan müsinin salınımında, bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir. Kadehsi hücrelerden müsin granüllerinin temel sekresyonu, granüllerin plazma membranına doğru girişine bağlıdır. Aktin filamentleri bu girişi kontrol altında tutarak temel sekresyonun miktarını belirlemede rol oynar (33).

Sekresyonun Düzenlenmesi

Kadehsi hücreler potansiyel bir mukus salgılatıcıya maruz kaldığında, müsin ya depolanan müsin granüllerinin serbest kalmasının ardından birleşen granüllerin ekzositozuyla, ya da tek bir müsin granülünün bir anda serbest kalmasıyla salınır (34, 38, 39).

Mukus salgılatıcılar, kadehsi hücrelerden salınan müsin granüllerinin sayısında hızlı bir artışa neden olur. Müsin granüllerinin çok yavaş salınımını takiben, ekzositozun maksimum oranı, uyarılmanın ardından 1-3 dakika (dk) sonra gerçekleşir (40). Depolanan müsinin tüketimi, 5-15 dk alır. Lieberkühn bezindeki kadehsi hücreler, asetilkolin ya da kolinomimetik ajanlara karşı, villus üstündeki hücrelerden çok daha güçlü yanıt oluştururlar (34, 41). Gastrointestinal müsin sekresyonuna neden olan bileşiklerden; nörotransmitterler, lipid ve inflamatuvar mediatörler ve kimyasal ajanlar depolanan havuzdan müsinin tamamen salınmasına sebep olurlar. Kolinerjik ajanlardan karbakol, asetilkolin ve pilokarpin in vivo gastrointestinal müsin sekresyonunda ve mukozal eksplantlarda artış görülmesine neden olmuştur. Purinerjik agonist ATP müsin ekzositozunun oranını artırır (42). Kolonik hücre serileri kullanılarak yapılan bir kaç mukus-sekresyon çalışmasında; vazoaaktif peptit, nitrik

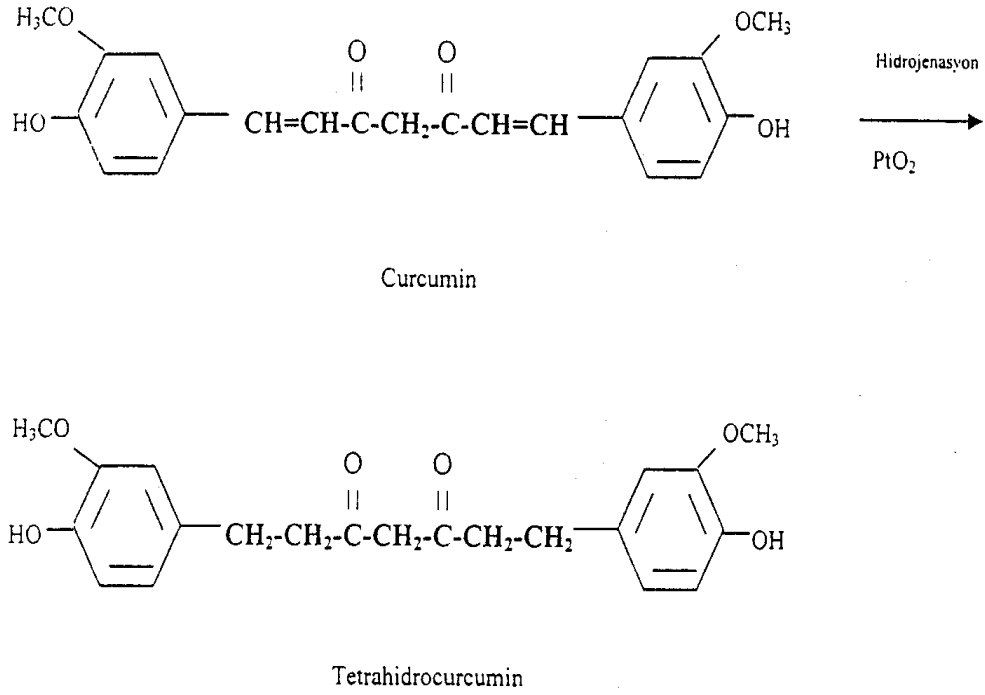
oksite, interlekin-1, prostaglandin E₂ (PGE₂) ve makrofaj, monosit, nötrofil kaynaklı mukus salgılatıcıların, müsin ekzositozunu uyardığı rapor edilmiştir (43).

Müsin sekresyon hızının regülasyonu, reseptör aracılı bir olaya bağlıdır. İnsan kolon kanseri hücre serisi olan LS174T hücrelerinde, araşidonik asit metaboliti PGE₂'nin EP₄ reseptörüne bağlanarak, siklik adenzin monofosfat (cAMP) bağımlı müsin ekzositozunu uyardığı gösterilmiştir (44). Benzer şekilde, Prostagalandin D₂ (PGD₂) de LS174T hücrelerinde DP reseptör yoluyla müsin sekresyonuna neden olur. İkincil habercilerden, hücre içi kalsiyum (Ca⁺²), cAMP ve diaçil gliserolün müsin sekresyonunu uyaran, müsin salgılatıcılardan olduğu bildirilmiştir (45). Proteaz, elastin ve kimotripsin gibi pekçok diğer biyolojik makromolekülün de müsin sekresyonu ile ilişkisi vardır. Bazı besinleri meydana getiren moleküllerin fermentasyon ürünlerinin sıçan kolonunda müsin sekresyonunda artışa neden olduğu gösterilmiştir. Bunlara glukronik asit, galaktronik asit, kısa zincirli yağ asitlerin asetatlarını ve bütüratları ilave edebiliriz (33, 46).

CURCUMİN

Zerdeçal (*Curcuma longa*, zerdeçöp, safran kökü), Çin ve Hindistan'da yaygın olarak yetiştirilen Zingiberaceae familyasına ait sarıçiçekli, büyük yapraklı ve rizumlu çok yıllık otsu bir bitkidir. Rizomların üst yüzü sarımsı, iç yüzü ise sarı renklidir. Piyasada parmak şeklinde (rizom) ve toz şeklinde bulunur. Acımsı bir tadı vardır. İçinde onlarca madde bulunur, fakat aktif maddesi curcumin'dir. Bitkinin rizomlarından elde edilen tozunun yaklaşık 1:30- 1:100 kadarını curcumin oluşturur. Bir silme tatlı kaşığı zerdeçal 3 gramdır ve ortalama 30-90 mg curcumin içerir. Gıda ve kozmetikte renk verici olarak kullanıldığı gibi, halk arasında yaygın olarak tedavi edici amaçlarla da kullanılır. 200 mg/gün'lük dozlarda (yaklaşık 2-4 silme tatlı kaşığı toz) zerdeçalın antienflamatuvar, antikanserojen, antiaterojenik ve antioksidan olduğu pek çok çalışma ile gösterilmiştir. Bilinen bir yan etkisi yoktur (47-52).

Curcumin, β pozisyonunda bağlanmış 2 keton grubu içerir. Bu yapı özelliği antioksidan olmasında rol oynar. Oral yolla alındığında, bağırsaklarda hidrojenasyon ile tetrahidrocurcumin (THC)'e dönüşür. Renksiz olan bu maddenin polaritesi curcumine oranla daha düşüktür. Ancak ona benzer fizyolojik ve farmakolojik özelliklere sahiptir. Curcumin, bağırsaklardan emilerek, kana ve böylece dokulara dağılmakta, safra ile atılmaktadır (53).



Şekil 1. Platinum oksit (PtO₂) katalizörlüğünde curcuminin tetrahydrocurcumine dönüşümü (53).

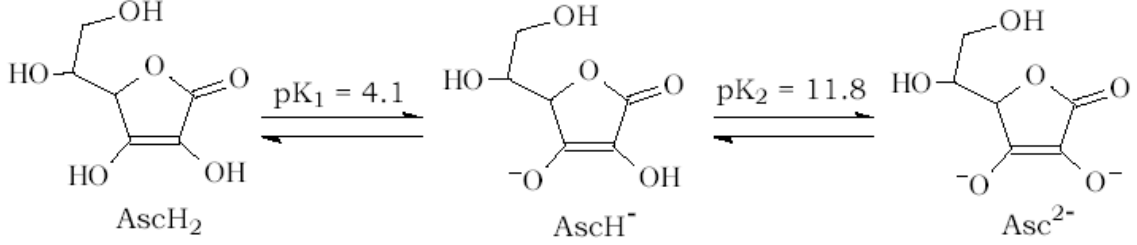
Curcuminin antioksidan özelliği, in vivoda görüldüğü gibi, in vitro PtO₂ katalizörlüğünde THC'e dönüştürülerek de gösterilmiştir (48, 54, 55). Her iki maddenin de lipid peroksidasyonu üzerinde inhibe edici etkileri araştırılmış, THC'nin antioksidan mekanizmasının, β-diketon türevinden kaynaklandığı görülmüştür. Curcumin, kuvvetli hidroksil radikal temizleyicisi olduğu gibi, süperoksit radikallerini de yakalar. Serbest radikalleri tutma özelliğinden dolayı DNA'yı oksidatif hasarlardan korur (51, 56, 57). Radyasyona karşı koruyucu etkisi, antioksidan özelliğinden kaynaklanır (58).

Curcuminin antitümöral ve antiinflamatuvar farmakolojik etkileri de vardır (59, 60). Çeşitli deneysel yollarla oluşturulmuş tümörlerde, curcuminin inhibisyon aktivitesi, antitümöral etkisinden kaynaklanmaktadır (61).

Antiinflamatuvar etkisini, araşidonik asit metabolizmasında, siklooksijenaz-2'yi inhibe edip, doğal inflamasyon mediatörlerinin oluşumunu engelleyerek gösterir. Curcumin, inflamatuvar hastalıkları belli oranda kontrol edebildiğinden tedavide yaygın olarak kullanılmaktadır (51, 61-63).

C VİTAMİNİ

Suda kolaylıkla çözünebilen C vitamini; ketolakton formuna sahiptir.



Şekil 2. Askorbik asitin kimyasal yapısı.

Bu madde; L-askorbikasid ve bunun okside formu L-dehidroaskorbik asid şeklinde bulunur. Her iki formu da yeşil renkli sebze ve turunçgillerde bulunur. İnsanda, L-gulonik asid askorbik aside dönüşemediğinden sentezi yapılmaz, ancak diyetle alınır. Ağız yolu ile alınan askorbik asid ince bağırsaklardan emilerek, doku ve plazmada askorbata dönüşür. Fazlası ise idrarla atılır (64).

Bu maddenin organizma için önemi; indirgeyici gücünün yüksek olmasındandır; dokularda, dehidroaskorbik aside dönüşerek, molekül başına iki hidrojen atomunu serbest bırakır. Bu ise organizmanın hidroksilasyon reaksiyonlarında, indirgeyici rol oynar. Örneğin kollajen sentezinde, prolinden hidroksi prolin sentezini sağlar. Kuvvetli antioksidan olduğundan (65), süperoksit, hidroksil radikalleri ve singlet oksijenle reaksiyona girerek, onları etkisiz kılar (66, 67). Sulu fazda olmasına rağmen, lipid peroksidasyon başlatıcı radikalleri yok ederek membranları oksidan hasarına karşı korur. Bazı çalışmalar, radyasyon hasarında ortaya çıkan serbest radikalleri bağlayarak, koruyucu etki yaptığını göstermiştir (68).

Ayrıca, tokoferoksilin α -tokoferole dönüşümünü sağlayarak, endojen E vitamini rejenerasyonunda da rol oynar. Böylece E vitamini ile birlikte, düşük dansiteli lipoprotein (LDL)'i oksidasyon hasarına karşı korur (20, 69).

Askorbik asit, ferri-demiri (Fe⁺³) ferro-demire (Fe⁺²) indirgeyen, oksijen dışında, hücre içi tek molekül olup, Fenton Reaksiyonu'nda Fe⁺³'i Fe⁺²'e dönüştürerek H₂O₂ üzerinden OH^{*}'nin üretimine neden olur. Yüksek dozlarda prooksidan etkisinden dolayı hala antioksidan etkinliği ile ilgili çalışmalar güncelliğini korumaktadır (70).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nde üretilen, 3 aylık, ağırlıkları 200-300 gr arasında değişen 42 adet Wistar Albino erkek sıçan kullanıldı. Aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip, deneklerimizden, vücut ağırlıkları birbirine yakın olanlar, aynı grupta olacak şekilde; her biri 6 sıçan içeren, biri kontrol 6'sı deney grubu olmak üzere toplam 7 grup oluşturuldu. Deney süresi boyunca, tüm deneklerimiz, optimum laboratuvar koşulları (22 ± 1 °C, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) altında, günlük içme suyu ve %21 ham protein içeren pelet yemlerle (Purina) beslendi.

Radyasyon hasarı oluşturmak amacıyla, kontrol grubu dışındaki denekler, intraperitoneal (i.p.) yoldan 90 mg/kg ketamin (Ketalar-Eczacıbaşı), 10 mg/kg xylazine (Rompun-Bayer-İstanbul/Türkiye) verilerek uyutulduktan sonra, ⁶⁰Co radyoterapi cihazı (Cirus, Cis-Bio Int-France) altına yerleştirilip, toraks ve ekstremiteleri korunarak, batin bölgelerine; kaynaktan 100 cm uzaklıkta 62,41 cGy/dk hız ile 5 Gy'lik ışın verildi, 4. günde de; III., V. ve VII. grup deneklere ikinci kez aynı dozda ışın uygulandı.

Radyasyon hasarını önleyebilmek amacı ile, IV. grup deneklere; ışınlamadan 10 gün önce başlayıp, ışınlamanın ardından kesime kadar olan 4 gün boyunca 100 mg/kg curcumin (Sigma) Dimetilsülfoksit (DMSO) içinde çözülerek, intragastrik (i.g.) yoldan, VI. grup deneklere de, aynı sürelerde 100 mg/kg C vitamini (Redoxon-Roche) i.p. yoldan verildi. V. grup deneklere ise; yine ışınlamadan 10 gün önce başlayıp, ikinci ışınlamanın ardından da 4 gün boyunca 100 mg/kg Curcumin i.g. yoldan, VII. grup deneklere de aynı sürelerde 100 mg/kg C vitamini i.p. yoldan verildi. (Tablo 1)

Tablo 1. Tüm deney grupları.

I. Grup	Kontrol grubu.
II. Grup	Tek doz radyasyon grubu.
III. Grup	İki doz radyasyon grubu.
IV. Grup	Tek doz radyasyon + Curcumin grubu.
V. Grup	İki doz radyasyon + Curcumin grubu.
VI. Grup	Tek doz radyasyon + C vitamini grubu.
VII. Grup	İki doz radyasyon + C vitamini grubu.

Deneyin başlangıcından itibaren sakrifikasyon gününe kadar tüm deneklerin günlük ağırlık ve dışkı takipleri yapıldı.

I., II., IV. ve VI. grup deneklerden, ışınlamadan sonraki 4. gün, III., V. ve VII. grup deneklerden de ikinci ışınlamadan sonraki 4. günde, ketamin-xylazine anestezisi altında, ileumun tamamı biyopsi materyali olarak alındı ve bu materyaller ışık ve elektron mikroskopik gözlemler için işlemlendirildi.

Işık mikroskopik incelemeler için; ileum biyopsi materyalleri, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Işık Mikroskopi Laboratuvar'ında, Bouin fiksatoründe fikse edilip, parafin inklüzyonu yapılarak, bloklandı. Bu bloklardan alınan 5µm kalınlığındaki kesitlere, ince bağırsağın histolojik yapı özelliklerini ortaya koyacak H+E, Masson, Azan, Mallory triple ve histokimyasal PAS+HL boyaları uygulandı. Işık mikroskopunda (Olympus CX31-Japan) bulguların fotoğrafları çekildi (71, 72).

Elektron mikroskopik incelemeler için ise; parçalara pH'sı 7,3 olan, %2,5 glutaraldehit içeren fosfat tamponunda 1,5 saatlik prefiksasyon, daha sonra da aynı tamponun %1'lik OsO₄'li solüsyonunda 1 saatlik postfiksasyon uygulandı. Parçalar tamponda çalkalanıp, yükselen alkol derecelerinden geçirilerek dehidrate edildi, propilen oksitte saydamlaştırılıp, araldit inklüzyonu uygulanarak, bloklar hazırlandı. Blokların kesim bölgelerini belirlemek amacıyla, yarı ince kesitler alınarak (RMC-MTX Ultramikrotom-Amerikan), azur mavisikle boyandı. Belirlenen bölgelerden 40-60 nm kalınlığında ince kesitler alınıp, kesitler uranil asetat ve kontrastı artırmak amacı ile Reynold'un kurşun sitrat boyaları ile boyandı. Bu kesitler Jeol 1010 elektron mikroskopunda incelenerek, bulgular fotoğraflandırıldı (73).

Kadehsi hücrelerin sayımı için; Olympus marka BX 51 model mikroskoba uyumlu 100 kare oküler mikrometre kullanıldı. PAS+HL boyası uygulanan seri kesitlerden elde edilen preparatlarda, villus intestinalisleri içeren, rastgele belirlenen 10 alanda 40'luk objektif büyütmesinde, 100 kare içerisine düşen birim alandaki hücreler sayıldı. Her grup için seri kesitlerin sayılması ile elde edilen rakamların aritmetik ortalaması alındı. Böylece 100 kare oküler mikrometrenin kapsadığı alandaki ortalama kadehsi hücre sayısı saptandı. Mikrometrik

lam yardımı ile 40'lık objektif büyütmesi için 100 kare oküler mikrometrenin alanı belirlendi. Bu hesaplama sonucunda grup başına 625 mikrometrekare (μm^2)'deki ortalama kadehsi hücre sayısı tespit edildi.

Histopatolojik inceleme için; tüm deneklere ait preparatlar Chiu ve ark. (1970) tarafından yapılan sınıflamaya uygun olarak BX 51 model ışık mikroskobunda incelendi (Tablo 2). Elde edilen veriler hazırlanan forma işlendi (74).

Tablo 2. Histopatolojik değerlendirme (74).

Evre	Bulgu
0	Normal villus.
1	Subepitelyal alanın gelişmesi. Genellikle villusların tepesinde kapiler konjesyon.
2	Subepitelyal alanın genişlemesi ile epitelyal tabakanın lamina propriadan orta derecede ayrılması.
3	Villusların alt kısımlarının lamina propriadan ileri derecede ayrılması.
4	Villusların soyulması, kapiler dilatasyon, lamina proprianın geçirgenliğinde artma.
5	Lamina propriada parçalanma, hemoraji ve ülserasyon.

İstatistiksel incelemeler Statistica 7,0 programı ile yapıldı. Kadehsi hücre sayımı, histopatolojik değerlendirme ve ağırlık takip sonuçları Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Fark, $P < 0,05$ olduğunda anlamlı kabul edildi. Anlamlı fark bulunan gruplar arasındaki karşılaştırmalar için ise Mann-Whitney U testi kullanıldı.

BULGULAR

Kontrol ve deney gruplarından alınan ileum mukozası, ışık ve elektron mikroskopik düzeylerde kıyaslanarak incelendi.

I. GRUP: KONTROL GRUBUNA AİT MORFOLOJİK BULGULAR

Işık Mikroskopik Bulgular

Kontrol grubu deneklerinin ileum tunika mukozası ışık mikroskopunda incelendiğinde; epitel hücreleri ve lamina propriadan oluşan normal yapıdaki villus intestinalisler izlendi. Epitel hücrelerinin sürekli bir bazal lamina üzerine oturduğu ve lamina propria ile devamlılık gösterdiği ayırt edildi (Resim 1). Villusların alt bölümlerinde mitoz bölünmenin çeşitli safhalarında birkaç hücre içeren, düzgün lümenli Lieberkühn bezleri izlendi (Resim 2). Villus yüzeyini örten epitelin tek katlı prizmatik çizgili kenarlı olduğu ve bu bölgelerin PAS (+) reaksiyon verdiği ayırt edildi (Resim 3).

Aynı reaksiyon epitel hücreleri arasında yer alan, mukus içeren kadehsi hücrelerde de görüldü. Çok sayıda kadehsi hücre lamina propriada bulunan Lieberkühn bezlerinde de izlendi. İleumun karakteristik yapılarından biri olan, tunika submukoza'dan tunika mukoza'ya taşan, Peyer plağı yapısını oluşturan lenfosit kümeleri görüldü.

Elektron Mikroskopik Bulgular

Elektron mikroskopik incelemede; villus epitelinde yer alan; enterositler ve kadehsi hücreler ince yapı özellikleri ile birbirlerinden ayırt edildi. Yüksek prizmatik şekilli enterositlerin komşu hücre membranları ile olan sıkı bağlantıları izlendi. Hücrelerin apikal yüzlerinde düzenli olarak yerleşmiş mikrovilluslar görüldü (Resim 4, 5). Nükleusta, kromatinin hafif olarak nükleer lamina altında yoğunlaştığı, diğer bölgelerde homojen dağılmış olduğu ayırt edildi. Yuvarlak ya da uzun biçimli mitokondriler daha çok hücrenin apikal sitoplazma bölgesinde görüldü. Hücrelerin fonksiyonlarına bağlı olarak, sitoplazmada ribozom ve polizom yapılarına rastlandı. Hücrenin apikal sitoplazma bölgesinde seyrek olarak görülmekle birlikte, GER ve düz endoplazmik retikulum (DER) sisternalarına sitoplazmada dağınık olarak rastlandı (Resim 6).

Şekil bakımından kadehe benzediği için, kadehsi hücreler olarak da adlandırılan bu hücrelere enterositler arasında sıklıkla rastlandı. Hücrenin apikal kısmında çok sayıda, bal peteği görünümünde sıkı paketlenmiş mukus salgı granüllerinin bulunduğu görüldü. Hücrelerin apikal yüzlerinde enterositlerdeki gibi ancak, daha az sayıda mikrovilluslara rastlandı. Endoplazmik retikulumun hücrenin bazal ve lateral kısımlarında yerleşmiş olduğu görüldü. Nükleusu çevreleyen çok miktarda serbest ribozom ayırt edildi (Resim 7).

Olgunlaşmamış ve salgısını boşaltmış olan hücrelerde çok az salgı granülü gözlemlendi (Resim 5). Salgı granüllerinin olgunlaşmaya başladığı dönemde, ER sisternaları ve Golgi aygıtında artış olduğu, ilerleyen evrelerde ise, mütin damlacıklarının teşekkülü ile birlikte, hücrenin apikal kısmında genişlemenin ortaya çıktığı görüldü. Salgılaşma aşamasına gelmiş olan bir hücrede ise, apikal kısımdaki mikrovillusların düzleştiği, hücrenin apeksinin çatladığı ve mukusun bağırsak lümenine salındığı görüldü.

II. GRUP: TEK DOZ RADYASYON GRUBUNA AİT MORFOLOJİK BULGULAR

Işık Mikroskopik Bulgular

5 Gy tek doz γ radyasyon alan bu grup deneklerimizin ileum mukozasında yer alan villus intestinalislerde parçalanma ve ayrılmaların yanı sıra, Lieberkühn bezlerinin de bütünlüğünde bozulmalar olduğu görüldü. Villus boylarının kısaldığı, uç kısımlarının

küntleştiği, aralarında birleşmeler olduğu gözlemlendi. Yüzey epitelinin yerini neredeyse tamamen kadehsi hücrelerin aldığı görüldü (Resim 8). Dejenerasyona uğrayan epitel hücrelerinin bazılarında kopan hücre kısımlarının lümene döküldüğü izlendi. Hücrelerin birçoğu şekil değişikliğine uğradığından, villus sınırlarının düzensizleştiği, bu görünüme özellikle raket şekline bürünmüş epitelyal kısımların sebep olduğu ayırt edildi. Bazal laminanın bütünlüğünün bozulması dolayısıyla yer yer lamina epitelyalis ve lamina propria arasında görülen ayrılmalar dikkat çekmekteydi (Resim 9). Lamina propriada kapiler konjesyon olduğu görüldü (Resim 10). Lieberkühn bezlerinde düzensizlik ve mitoz figürlerinin yanı sıra çok sayıda kadehsi ve farklılaşan yüzey epitel hücrelerinin, bezlerden villusun tepesine doğru olan göçleri izlendi. (Resim 11).

Gerek villus intestinalislerdeki gerekse Lieberkühn bezlerinden villuslara doğru göç eden, PAS(+) reaksiyon veren, çok sayıdaki kadehsi hücrenin ve salgılarının düzensiz dağılımı dikkat çekici idi. Lamina epitelyalisin çizgili kenar yapısının da bozulmuş olduğu ayırt edildi (Resim 12).

Elektron Mikroskopik Bulgular

Elektron mikroskopik incelemede; hücrelerin apikal yüzlerinde yerleşmiş mikrovillusların uzunluğunda, çapında ve sıklığında gözlenen değişiklikler dikkat çekici idi. Bazı hücrelerde kromatin materyalin nükleer lamina altında yoğunlaştığı fark edildi. Özellikle enterositlerin apikal sitoplazmasında yoğun olarak yerleşmiş, şekil bozukluğuna uğramış mitokondrilerin, kristalarında yer yer silinmeler olduğu ayırt edildi. ER sisternalarında fragmantasyon, vezikülarizasyon ve dilatasyon olduğu tespit edildi. Golgi kompleksinin küçük veziküller şeklinde parçalandığı ve sitoplazma içine dağılmış olduğu fark edildi (Resim 13, 14). Villus yüzeyine yakın aydınlık sitoplazmalı dev hücrelere rastlandı. Lieberkühn bezlerinin bazaline doğru yerleşmiş aydınlık hücreler de dikkati çekmekteydi.

Kadehsi hücrelerin GER sisternalarında, belirgin bir dilatasyon ve degranülasyon gözlemlendi. Serbest ribozomların çok sayıda polizom yapılarını oluşturduğu ayırt edildi. Bazı kadehsi hücrelerde salgı granüllerinin teka bölgesindeki dağınık yerleşimi dikkat çekici idi. (Resim 15-16).

III. GRUP: İKİ DOZ RADYASYON GRUBUNA AİT MORFOLOJİK BULGULAR

Işık Mikroskopik Bulgular

Dört gün ara ile 5 Gy iki doz γ radyasyon alan bu grup deneklerimizin ileum mukozası ışık mikroskopunda incelendiğinde; II. Grupta gözlenen villus intestinalisler ve Lieberkühn bezlerindeki dejenerasyonun bu grupta daha ağır seyrettiği fark edildi. Villusun tepesine doğru, yüzey epitelinin yerini kadehsi hücrelerin aldığı görüldü. Hücre kaybına bağlı olarak villus boylarındaki kısalma ile birlikte parçalanmış villusların şekil bozuklukları daha çarpıcı bir şekilde izlendi (Resim 17). Villusları sınırlayan lamina epitelyalinin düzensizleştiği, tepede şişkinleştiği gözlemlendi (Resim 18). Villus tepesinde yarıklanma ile birlikte lamina epitelyalinin bozulmuş hücrelerinin lümenine atıldığı izlendi. Lamina propriadaki kapiler konjesyon ve dilatasyon dikkat çekici idi (Resim 19, 20). Lümenleri genişlemiş Lieberkühn bezlerinde çok sayıda mitotik figürün yanı sıra, villusa doğru göç eden hücreler arasında piknotik nükleuslu şeffaf sitoplazmalı hücreler fark edildi (Resim 21). Dejenerasyona uğrayan villuslarda düzensiz yerleşimli, kuvvetli PAS (+) reaksiyon veren aşırı bir kadehsi hücre hakimiyeti görüldü (Resim 22). Epitelin çizgili kenar yapısındaki bozukluğun daha çarpıcı olduğu görüldü (Resim 23).

Elektron Mikroskopik Bulgular

Elektron mikroskopik incelemede; sıkı bağlantı komplekslerinin yapısının bozulmasından ötürü, hücreler arası sahanın önemli ölçüde genişlemiş olduğu izlendi (Resim 24, 25). Enterositlere ait düzensiz yerleşimli mikrovillusların boylarında kısalma olduğu görüldü (Resim 26). Mitokondrilerin şekillerindeki bozulmaların yanı sıra kristallerindeki silinmeler de dikkat çekici idi. Nükleer lamina altında marjinal kromatin yoğunlaşmaları gözlemlendi (Resim 27).

Kadehsi hücrelerde şekilleri bozulmuş, kristalleri silinmiş mitokondrilere rastlandı. GER sisternalarında fragmantasyon, vezikülarizasyon ve dilatasyon olduğu tespit edildi. GER membranlarının degranülasyonu nedeniyle sitoplazmada çok sayıda polizoma rastlandı (Resim 27, 28). Bazı kadehsi hücrelerde salgı granüllerinin dağınık yerleşimi dikkat çekici idi. (Resim 24).

IV. GRUP: TEK DOZ RADYASYON VE CURCUMİN GRUBUNA AİT MORFOLOJİK BULGULAR

Işık Mikroskopik Bulgular

5 Gy tek doz γ radyasyon öncesi ve sonrası curcumin alan bu grup deneklerimizin ileum mukozası incelendiğinde; villus intestinalisler ve Lieberkühn bezlerinde radyasyona bağlı olarak ortaya çıkan dejenerasyonun, curcumine bağlı olarak azalmış olduğu gözlemlendi. Bazı villusların uç kısımlarında hafif bir küntleşme ile birlikte yer yer villus yüzeyini döşeyen lamina epitelyalis ve villus eksenini dolduran lamina propria arasında hafif ayrılmalar dikkat çekici idi. (Resim 29). Lamina epitelyaliste korunmuş olan hücrelerin yanı sıra, yer yer bütünlükleri bozularak raket şeklini almış atılmakta olan epitelyal kısımlara da rastlandı (Resim 30, 31). Villus intestinalislerin epitelyal hücrelerinin apikal yüzündeki PAS(+) reaksiyon veren çizgili kenar yapısının genel anlamda korunduğu bazı bölgelerde ise hafif bir düzensizlik olduğu görüldü. Lieberkühn bezlerinden göç eden, PAS(+) reaksiyon veren çok sayıdaki kadehsi hücrenin düzgün yerleşimi dikkat çekici idi. (Resim 32, 33). Bezlerdeki mitoz figürlerin yanı sıra, villuslara doğru prolifer olmuş farklılaşmaya giden hücreler de ayırt edildi (Resim 34).

Elektron Mikroskopik Bulgular

Elektron mikroskopik incelemede; epitelyal hücrelerin hem birbirleri ile hem de bazal lamina ile olan bağlantı kompleksi yapılarının korunduğu görüldü. Enterositlerin apikal yüzlerinde yerleşmiş mikrovillusların düzenli yerleşimi dikkati çekmekteydi. Pleomorfizm gösteren mitokondrilerin kristalları normal olarak gözlemlendi. GER ve DER sisternalarının normal görünümde olduğu ve degranülasyona uğramadıkları fark edildi. Kromatin materyalin nükleer lamina altındaki normal yerleşimine karşın, nükleusta genel olarak kaba ve düzensiz bir kromatin dağılımı olduğu dikkat çekici idi (Resim 35, 36).

Kadehsi hücrelerin teka bölgesinin sıkı paketlenmiş bal peteği görünümündeki salgı granülleri ile dolu olduğu gözlemlendi. Hücrelerin komşu hücre membranları ile olan sıkı bağlantı bölgelerinin korunduğu fark edildi. Organellerin hücrenin fonksiyonuna bağlı olarak düzenli şekilleri ve yerleşimi izlendi (Resim 37, 38).

V. GRUP: İKİ DOZ RADYASYON VE CURCUMİN GRUBUNA AİT MORFOLOJİK BULGULAR

Işık Mikroskopik Bulgular

Dört gün ara ile 5 Gy iki doz γ radyasyon öncesi ve sonrası curcumin alan bu grup deneklerimizin ileum mukozası ışık mikroskopunda incelendiğinde; sadece iki doz γ radyasyon alan tedavisiz grupta görülen villus intestinalisler ve Lieberkühn bezlerindeki bozuklukların, curcumin tarafından kısmen önlenmiş olduğu gözlemlendi. Düzenli yerleşmiş yüzey epitel hücrelerinin arasında yer yer bozuk şekilli hücrelere de rastlandı (Resim 39). Lieberkühn bezleri ile villusların birleşim yerlerinde kopma ile birlikte bazı villusların epitelindeki düzensizlik ve hafif subepitelyal ayrılmalar dikkat çekici idi (Resim 40). Villusları sınırlayan lamina epitelyalisin ve çizgili kenar yapısının kısmen korunduğu, PAS(+) reaksiyon veren kadehsi hücrelerin bazı bölgelerde dağınık yerleşimi ayırt edildi (Resim 41). Sadece iki doz γ radyasyon alan tedavisiz grupta gözlenen lamina propriadaki kapiler konjesyon ve dilatasyona daha hafif seviyede bu grupta da yer yer rastlandı.

Elektron Mikroskopik Bulgular

Elektron mikroskopik incelemede; aynı dozda radyasyon alan tedavisiz gruba göre kıyasladığımızda bu grup deneklerin epitelyal hücrelerinin arasındaki bağlantı kompleksi yapılarının genel anlamda korunduğu, bazı bölgelerde ise hafif ayrılmaların olduğu gözlemlendi. Enterositlerin apikal yüzlerindeki mikrovillusların şeklinde ve sıklığında yer yer düzensizliklere rastlandı. Mitokondrilerde hafif bir şişme ile birlikte, kristalarında kısmen silinmeler olduğu fark edildi (Resim 42).

Gerek bezlerde gerekse villuslarda yerleşmiş salgılama siklusunun çeşitli aşamalarındaki kadehsi hücrelerin şekillerinin korunduğu, ancak teka bölgesini dolduran farklı yoğunluktaki salgı granüllerinin normalde fark edilen bal peteği görünümünde olmadığı gözlemlendi. Normal yapıdaki GER sisternaları dikkat çekici idi. Çentikli yapıdaki nükleusta kromatin materyalin nükleer lamina altında hafif derecede yoğunlaştığı görüldü. Hücreler arası sahada hafif derecede ayrılmalar olduğu fark edildi (Resim 43).

VI. GRUP: TEK DOZ RADYASYON VE C VİTAMİNİ GRUBUNA AİT MORFOLOJİK BULGULAR

Işık Mikroskopik Bulgular

5 Gy tek doz γ radyasyon öncesi ve sonrası C vitamini alan bu grup deneklerimizin ileum mukozası incelendiğinde; villus intestinalislerin ve Lieberkühn bezlerinin genel anlamda şekillerini korudukları fark edildi. Villuslarda, bazal lamina ile lamina propria arasında ayrılmalara nadir olarak rastlandı. Lamina epitelyalisin bazı bölgelerde kesintiye uğradığı ve aralarda bozuk şekilli hücreler olduğu fark edildi. Villus ekseninde içi lenfosit dolu lakteal yapıları dikkat çekici idi. Lamina propriada yer yer kapiler konjesyon ve lenfosit infiltrasyonu gözlemlendi (Resim 44-45). Lieberkühn bezlerinin lümenlerinin çok genişlemediği görüldü. Çok sayıda mitoz figürü olduğu saptandı. Lieberkühn bezlerinden villusun tepesine doğru hücre proliferasyonu olduğu görüldü ve yer yer bezlerde ve villusa doğru göç eden hücreler arasında açık sitoplazmalı koyu nükleuslu hücrelere de rastlandı (Resim 46).

Çok sayıda yer yer düzensiz dağılmış kadehsi hücrelerin salgılarının villusların yüzeyini tamamen kapladığı ve çizgili kenar yapısının kısmen düzensizleştiği görüldü (Resim 47).

Elektron Mikroskopik Bulgular

Elektron mikroskopik incelemede; epitelyal hücrelerin hem birbirleri ile hem de bazal lamina ile olan bağlantı kompleksi yapılarında yer yer hafif ayrılmalar görüldü. Enterositlerin mikrovillus yapılarında kısmen düzensizleşme ve şekil bozukluğu fark edildi (Resim 48). Villus yüzeyine yakın yerleşmiş aydınlık sitoplazmalı dev hücrelere rastlandı (Resim 49).

Kadehsi hücrelerin teka bölgesinde depolanan salgı granüllerinin bal peteğine benzer görünümü kontrole yakın olarak izlendi. Kadehsi hücrelerin komşu hücrelerle olan bağlantılarının kısmen korunduğu gözlenirken, bazı sahalarda bu bağlantı kompleksi yapılarının zayıflamış olduğu fark edildi. Degranüle ve dilate olmuş GER sisternalarının düzensiz yerleşimi dikkat çekici idi (Resim 50).

VII. GRUP: İKİ DOZ RADYASYON VE C VİTAMİNİ GRUBUNA AİT MORFOLOJİK BULGULAR

Işık Mikroskopik Bulgular

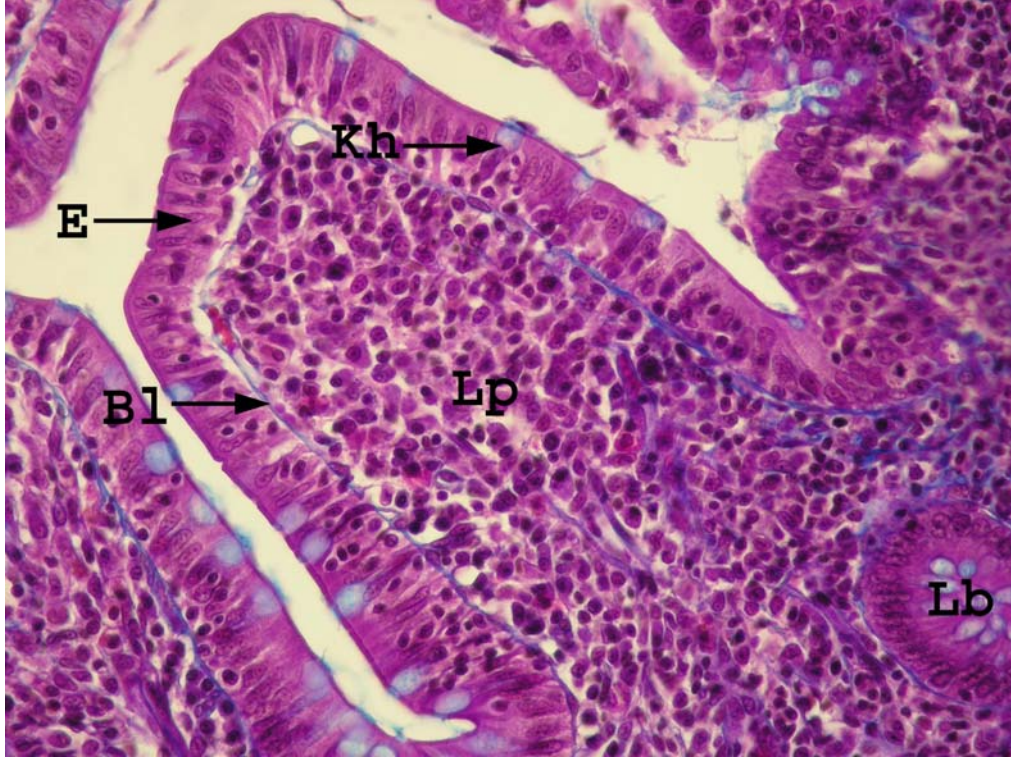
Dört gün ara ile 5 Gy iki doz γ radyasyon öncesi ve sonrası C vitamini alan bu grup deneklerimizin ileum mukozası ışık mikroskopunda incelendiğinde; yer yer korunmuş olan villus intestinalislerin yanı sıra, daha yaygın olarak, şekilleri bozulmuş, uç kısımları küntleşmiş ve hatta birleşmiş villus yapıları görüldü (Resim 51-54). Villusları sınırlayan lamina epitelyalin bütünlüğünde bozulma ile birlikte şekil bozukluğuna uğramış hücelere rastlandı (Resim 53). Çizgili kenar yapısının korunmuş olduğu sahaların yanı sıra epitelyal hücrelerdeki dejenerasyondan dolayı bu yapının bozulduğu alanlar da görüldü. Çok sayıda, kuvvetli PAS (+) boyanmış kadehsi hücreler hem villuslarda hem de bezlerde yaygın olarak izlendi (Resim 54). Villus eksenini dolduran lamina propria kapiler konjesyon odaklarına (Resim 51-53, 55), yer yer genişlemiş lakteallere ve lenfosit infiltrasyon alanlarına (Resim 54) rastlandı. Lieberkühn bezlerinin lümenlerinde genişleme olduğu izlendi ve bezlerde mitoz figürlerine sıklıkla rastlandı (Resim 56).

Elektron Mikroskopik Bulgular

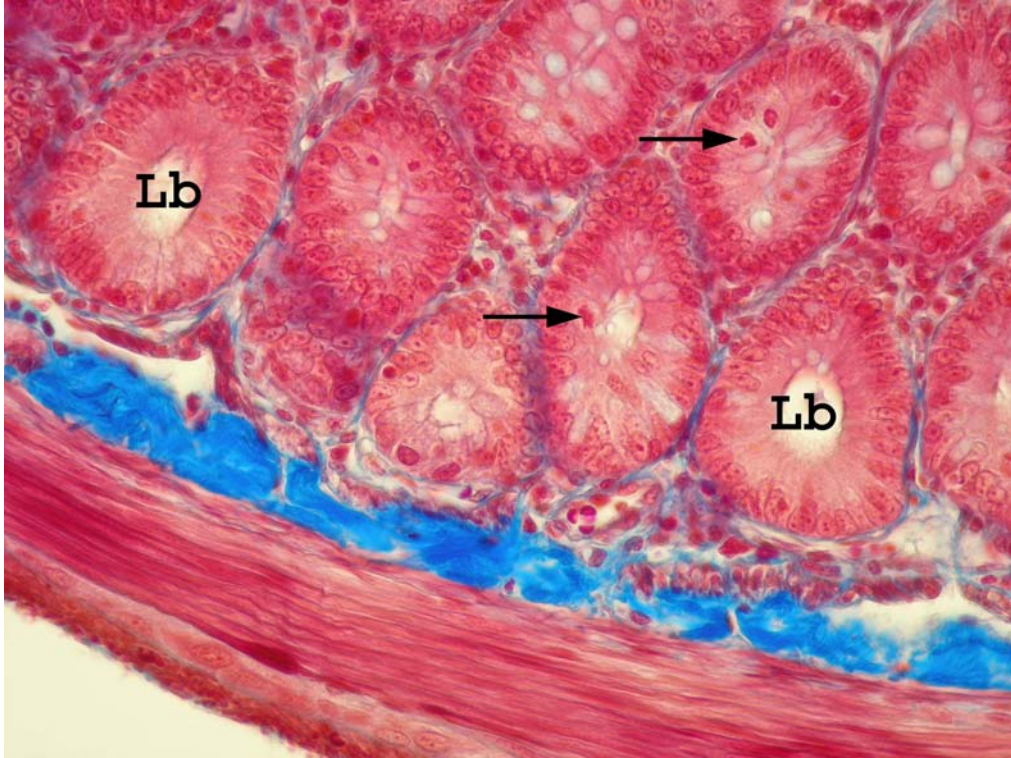
Elektron mikroskopik incelemede; iki doz radyasyon alan grupta çarpıcı bir şekilde gözlenen, bağlantı komplekslerindeki bozukluklar neticesinde ortaya çıkan hücreler arası sahadaki genişlemelere bu grupta da rastlandı. Enterositlerde sayıları azalan mikrovillusların boylarında kısalma olduğu ve düzensiz yerleşim gösterdikleri fark edildi. Nükleus şekillerinde düzensizlik, çentikli yapı ve kromatin materyalin nükleer lamina altında yoğunlaşması dikkat çekici idi (Resim 57, 58).

Villus yüzeyinde ve Lieberkühn bezlerinde çok sayıda kadehsi hücrenin birbirine yakın olarak yerleşmiş olduğu, hücreler arası sahalarda genişlemeler meydana geldiği görüldü. Hücrenin salgı granüllerinin kısmen sitoplazmaya dağılmış olduğu fark edildi (Resim 59). ER sisternalarında belirgin seviyedeki dilatasyon ve vezikülarizasyon dikkat çekici boyutta izlendi. Mitokondrilerin kristallarının da kısmen bozulmaya uğradığı görüldü (Resim 60).

KONTROL GRUBUNA AİT IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLER



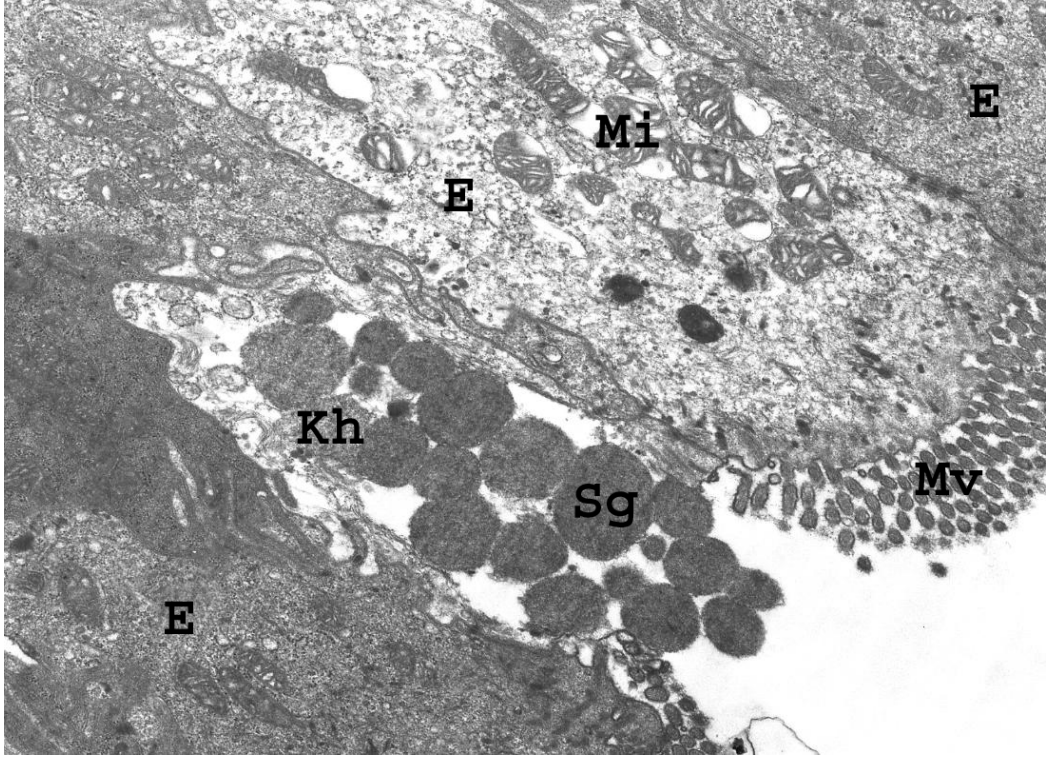
Resim 1. Kontrol grubuna ait bu resimde; sürekli bir bazal lamina (Bl) üzerine oturmuş enterosit (E) ve kadehsi hücrelerden (Kh) oluşmuş lamina epitelyalis ile birlikte lamina propriadan (Lp) oluşan düzgün bir villus intestinalis ve Lieberkühn bezi (Lb) görülmekte. Mallory Triple, X400.



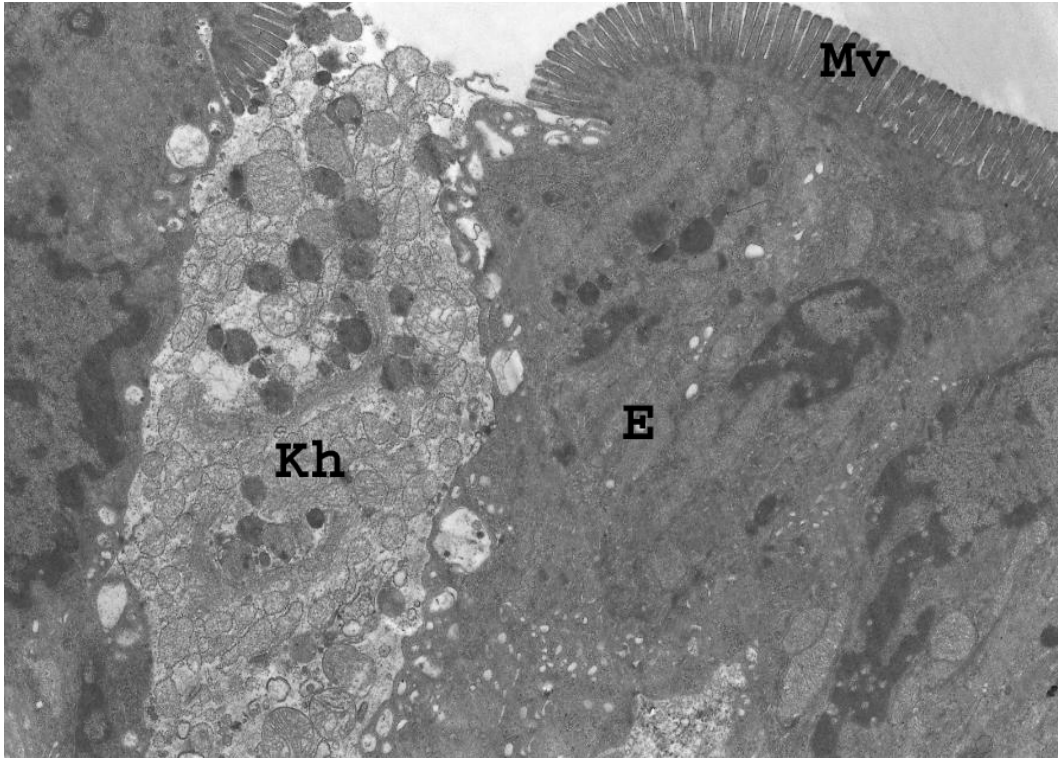
Resim 2. Mitoz figürlerinin (→) bulunduğu düzgün lümenli Lieberkühn bezleri (Lb) görülmekte. Azan, X400.



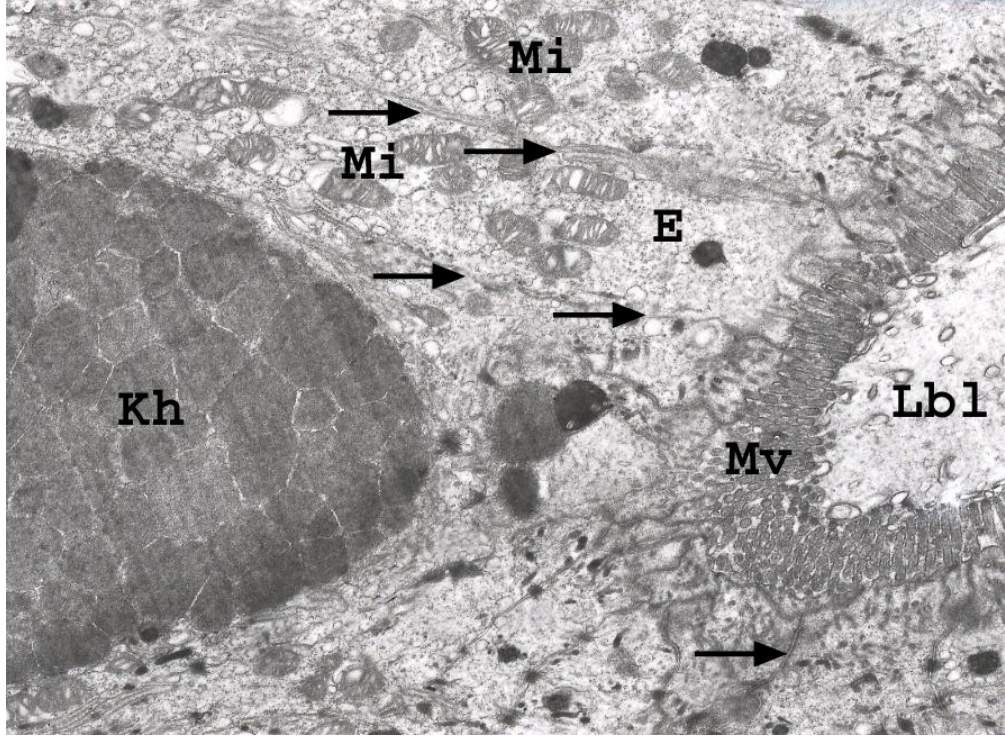
Resim 3. Tek katlı prizmatik epiteli oluşturan hücrelerin, apikal yüzlerinde PAS (+) reaksiyon vererek ayırt edilen çizgili kenar (→) yapısı ve enterositlerin arasında kadehsi hücreler (Kh) görülmekte. PAS+HL, X400.



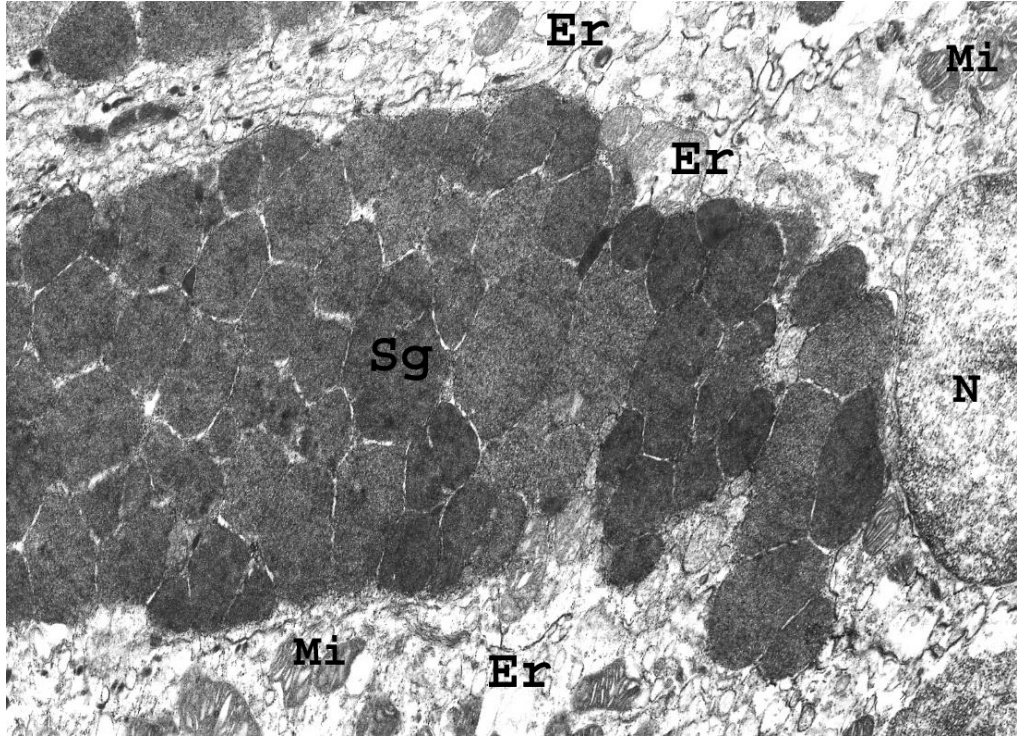
Resim 4. Komşu hücreler ile bağlantıları normal yapıda, salgı granüllerini (Sg) lümene vermekte olan bir kadehsi hücre (Kh) görülmekte. Düzgün şekilli ve kristalları belirgin mitokondrilere (Mi) sahip enterositlerin (E) apikal kısmındaki mikrovilluslar (Mv) dikkati çekmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 8000.



Resim 5. Villus yüzey kısmını döşeyen enterositler (E) ve bağırsak lümenine açılmış olan bir kadehsi hücre (Kh) görülmekte. Enterositlerin apikal kısmında düzgün şekilli ve eşit boyda mikrovilluslar (Mv) dikkat çekmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 5000.

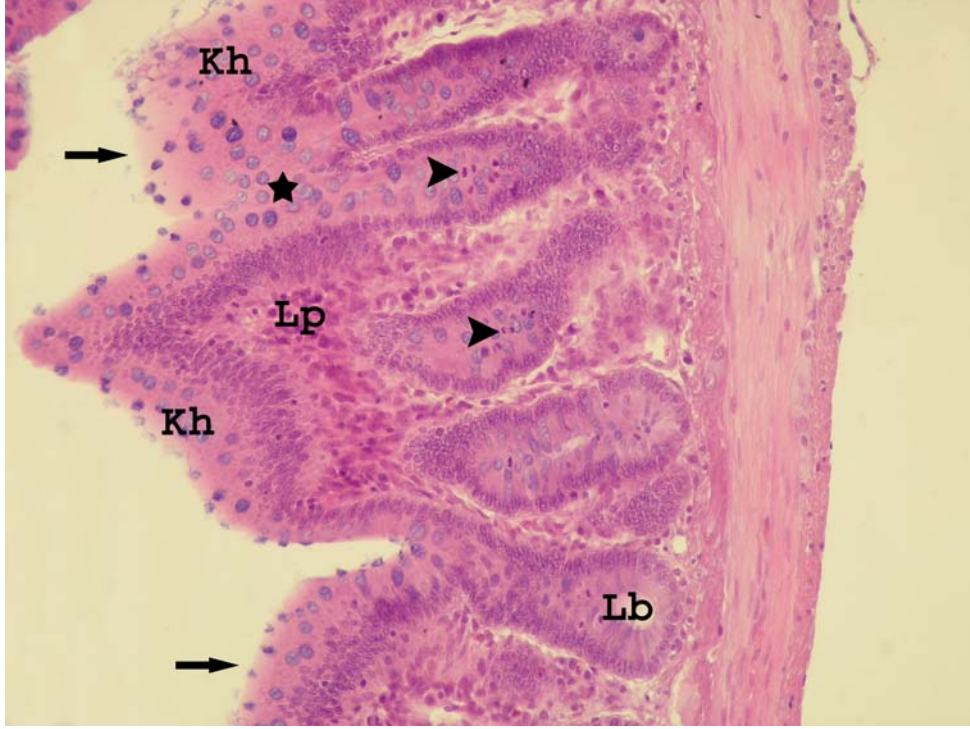


Resim 6. Salgı granülleri sıkı paketlenmiş bir kadesi hücre (Kh) ile düzgün şekilli ve kristalları belirgin mitokondrilere (Mi) sahip enterositler (E) dikkati çekmekte. Hücrelerin apikal yüzlerindeki mikrovilluslar (Mv) Lieberkühn bezinin lümenini (Lbl) çevrelemekte. Hücreler arası bağlantılar (→) normal yapıda görülmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 6000.



Resim 7. Komşu hücreler ile bağlantıları normal, salgı granülleri (Sg) sıkı paketlenmiş bir kadesi hücre görülmekte. Nükleusunda (N) kromatin materyali homojen dağılmış, kristalları belirgin mitokondrilere (Mi) ve düzgün yerleşimli endoplazmik retikulum (Er) sisternalarına sahip enterositler dikkati çekmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 8000.

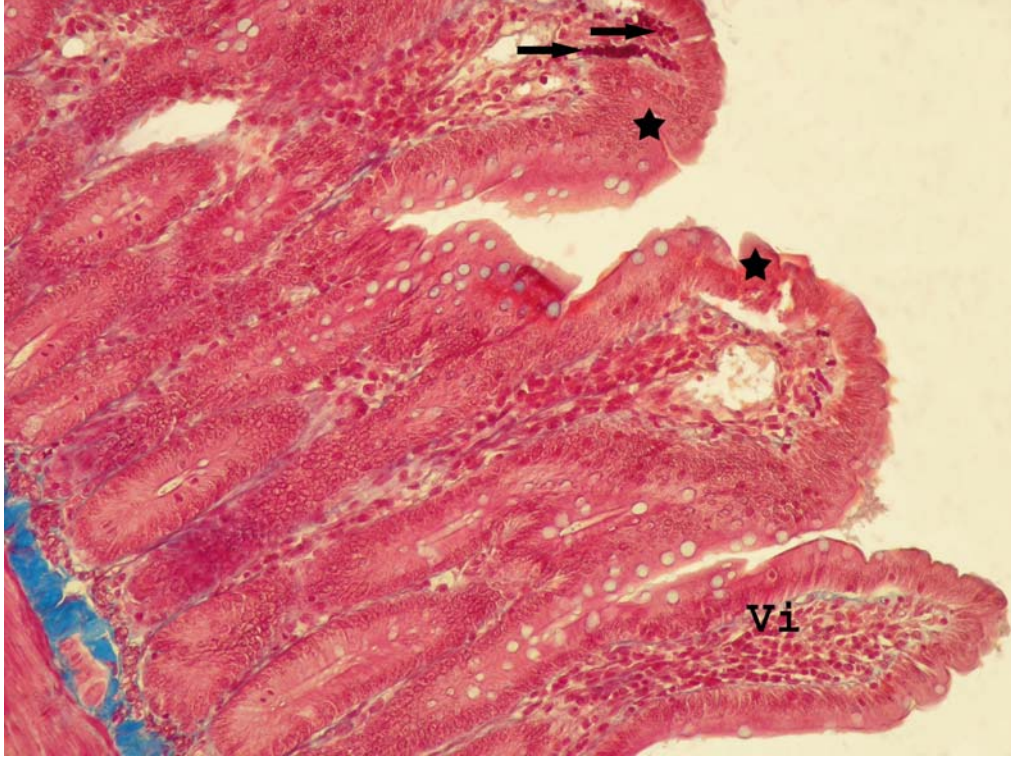
TEK DOZ RADYASYON GRUBUNA AİT IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLER



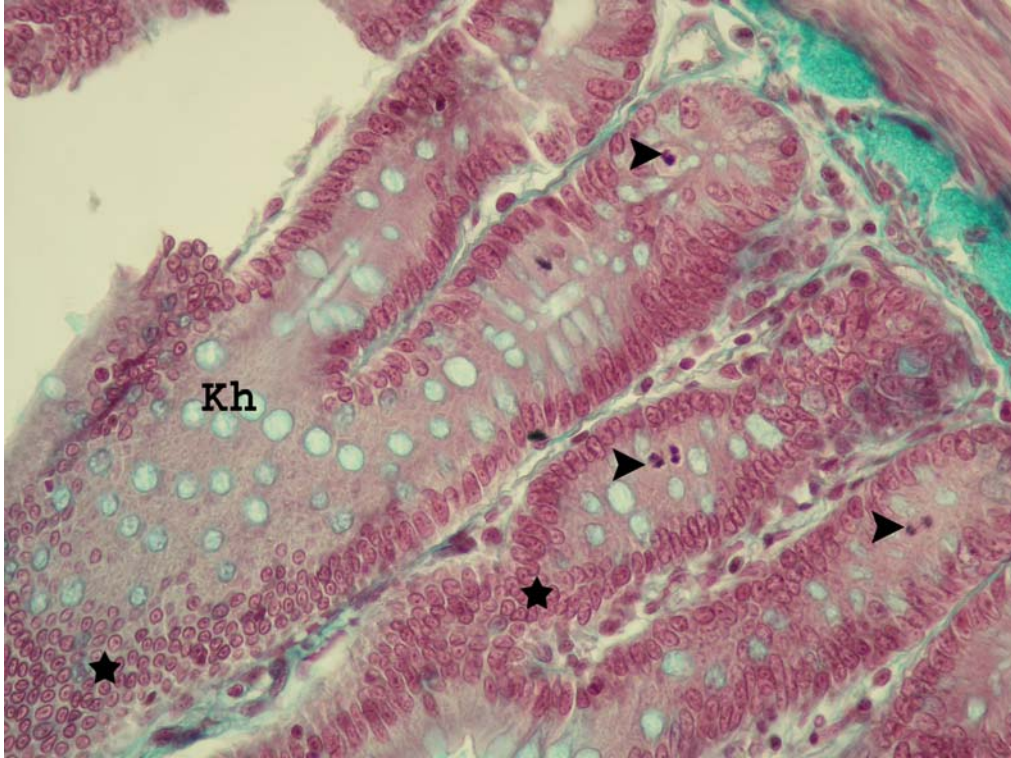
Resim 8. Villus boylarındaki kısalma ile birlikte küntleşme (→) ve villuslar arasında birleşme (*) dikkati çekmekte. Yüzey epitelinin yerini neredeyse tamamen kadehsi hücrelerin (Kh) aldığı görülmekte. Lieberkühn bezlerinde (Lb) mitoz figürleri (►) izlenmekte. H+E, X200.



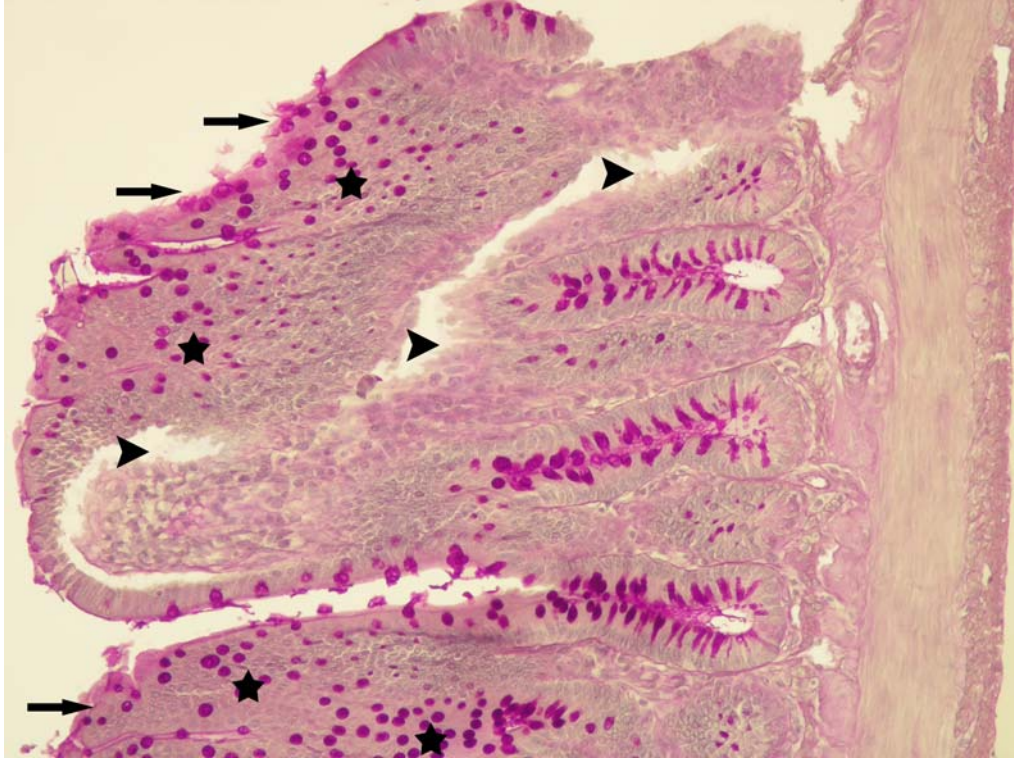
Resim 9. Lamina epitelyalis (Ep) ve lamina propria (Lp) arasındaki ayrılma (*) dikkati çekmekte. Villus bütünlüğünün bozulduğu, yer yer parçalandığı (→), hasarlanmış hücrelerin lümene döküldüğü (►) görülmekte. H+E, X400.



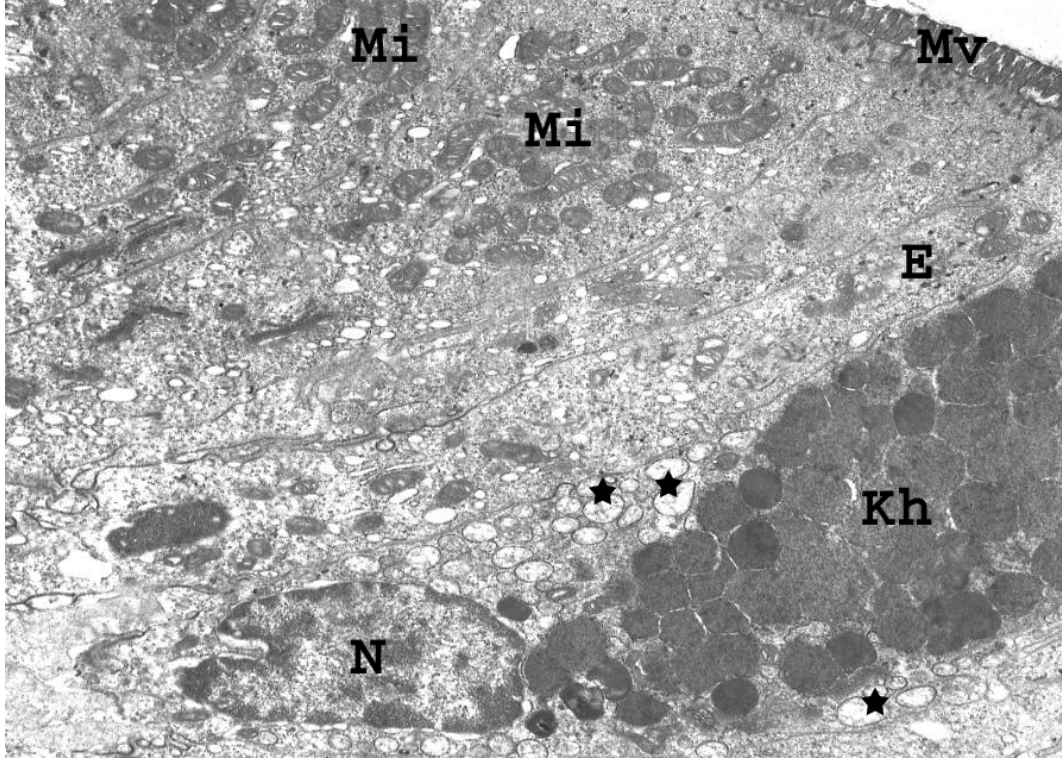
Resim 10. Normal bir villus intestinalis (Vi) ile birlikte, bütünlüğü bozulmuş yüzey epitel hücrelerine sahip villusların apikal kısımlarında düzensizlik (*) ve kapiler konjesyon (→) görülmekte. Azan, X200.



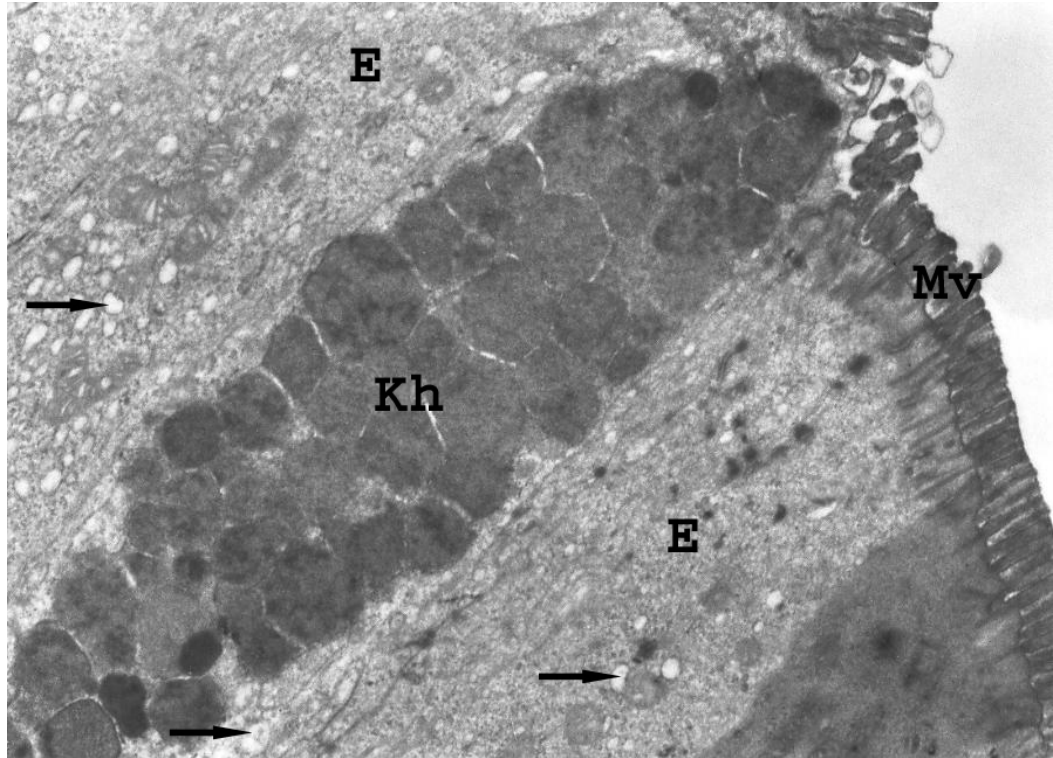
Resim 11. Lieberkühn bezlerindeki mitoz figürleri (▶) dikkati çekmekte. Çok sayıdaki kadehsi (Kh) ve farklılaşan yüzey epitel hücrelerinin (*), bezlerden villusun tepesine doğru olan göçleri izlenmekte. Masson, X400.



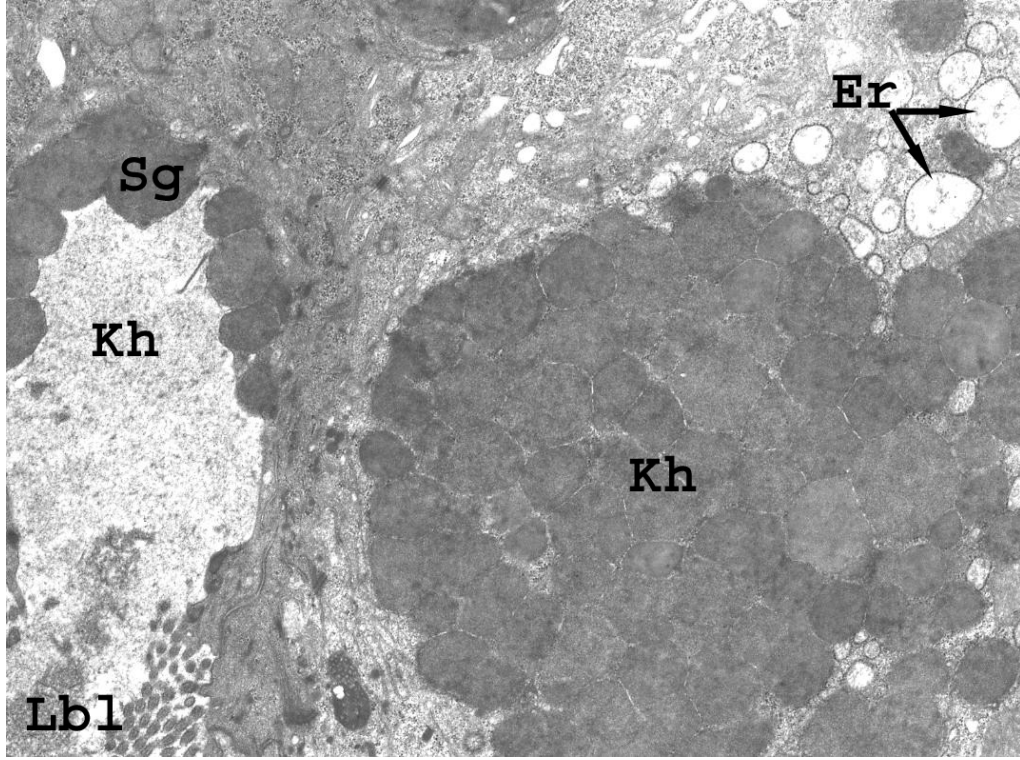
Resim 12. Ağır hasara uğramış, şekli tamamen bozulmuş bir villus intestinalis (►) görülmekte. Bazı bölgelerde lamina epitelyalisin (→) neredeyse ayırt edilemeyecek bir hal aldığı dikkati çekmekte. Yoğun PAS(+) reaksiyon veren kadehsi hücrelerin (*), villusun her yerine düzensiz dağıldığı izlenmekte. PAS+HL, X200.



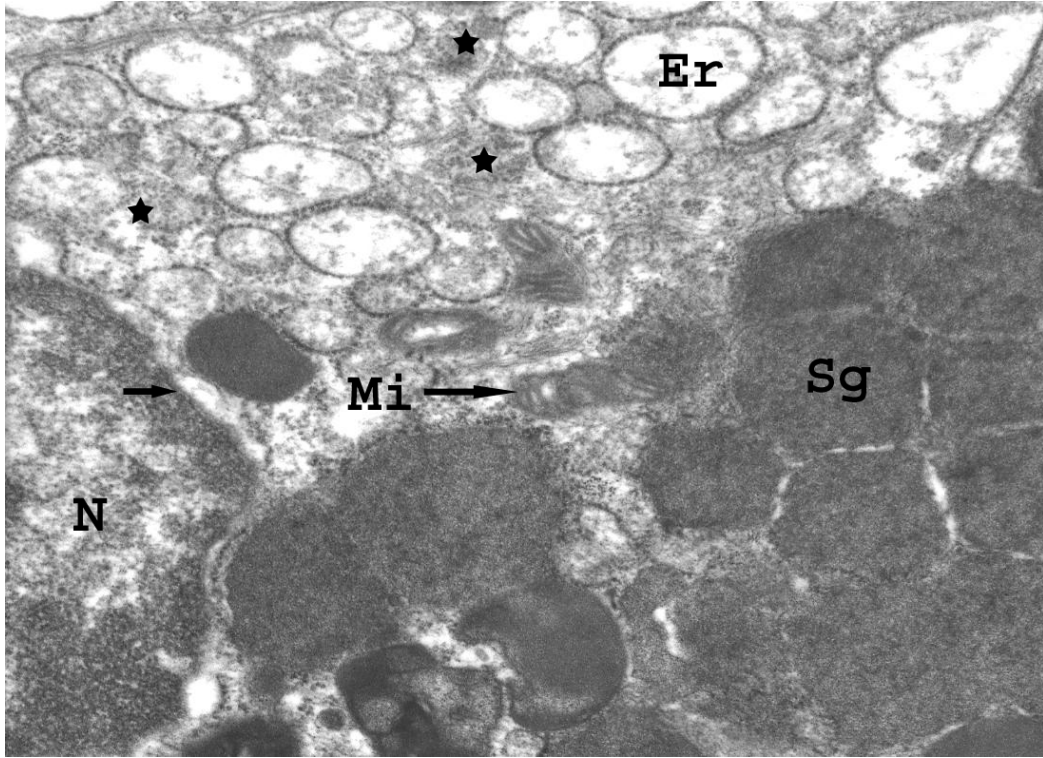
Resim 13. Bir kadehsi hücrenin (Kh) kromatini homojen dağılmamış çentikli nükleusu (N) ile birlikte, dilate olmuş ER sisternaları (*) dikkati çekmekte. Enterositlerin (E) sitoplazmalarında yoğun olarak yerleşmiş mitokondriler (Mi) gözlenmekte. Hücrelerin apikal yüzünde yerleşmiş mikrovillusların (Mv) boylarının kısaldığı ve düzensizleştiği fark edilmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X5000.



Resim 14. Lümeneye açılmakta olan bir kadehsi hücre (Kh) görülmekte. Enterositlere (E) ait mikrovillusların (Mv) tam olarak düzgün şekilde ve eşit boyda yerleşmemiş olduğu, ER sisternalarında ise dilatasyon (→) dikkati çekmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X8000.

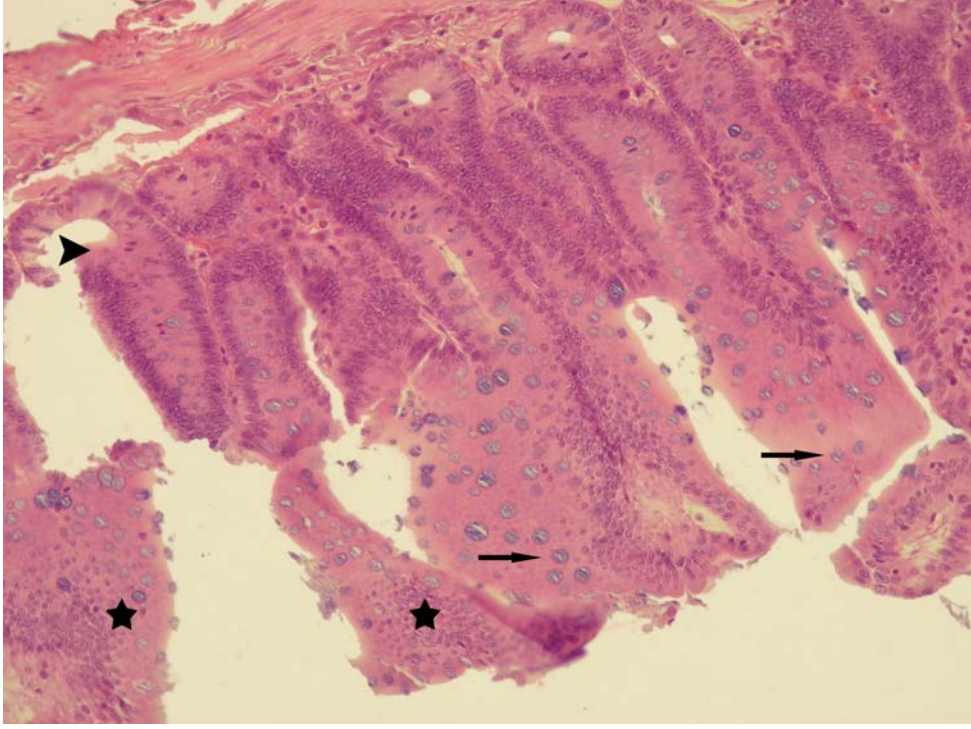


Resim 15. Lieberkühn bezi lümenine (Lbl) açılmış bir kadehsi hücrenin (Kh) yanı sıra henüz lümene açılmamış ve salgı granülleri (Sg) dağınık görünen başka bir kadehsi hücre dikkati çekmekte. Endoplazmik retikulum sisternalarında dilatasyon (Er) görülmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X8000.

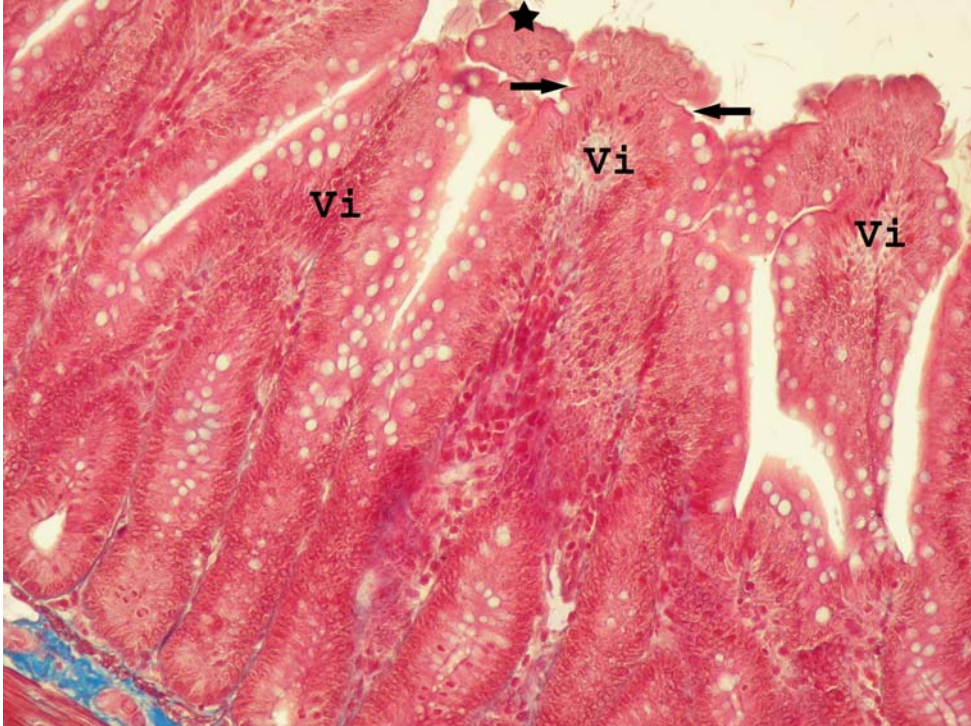


Resim 16. Salgı granülleri (Sg) hafif dağınık yerleşmiş bir kadehsi hücrenin, endoplazmik retikulum sisternalarının (Er) büyük ölçüde dilate ve degranüle (*) olduğu, mitokondrilerinin (Mi) ise şekillerinin kısmen bozulduğu görülmekte. Nükleusta (N) düzensiz kromatin yoğunlaşmaları (→) dikkati çekmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 20000.

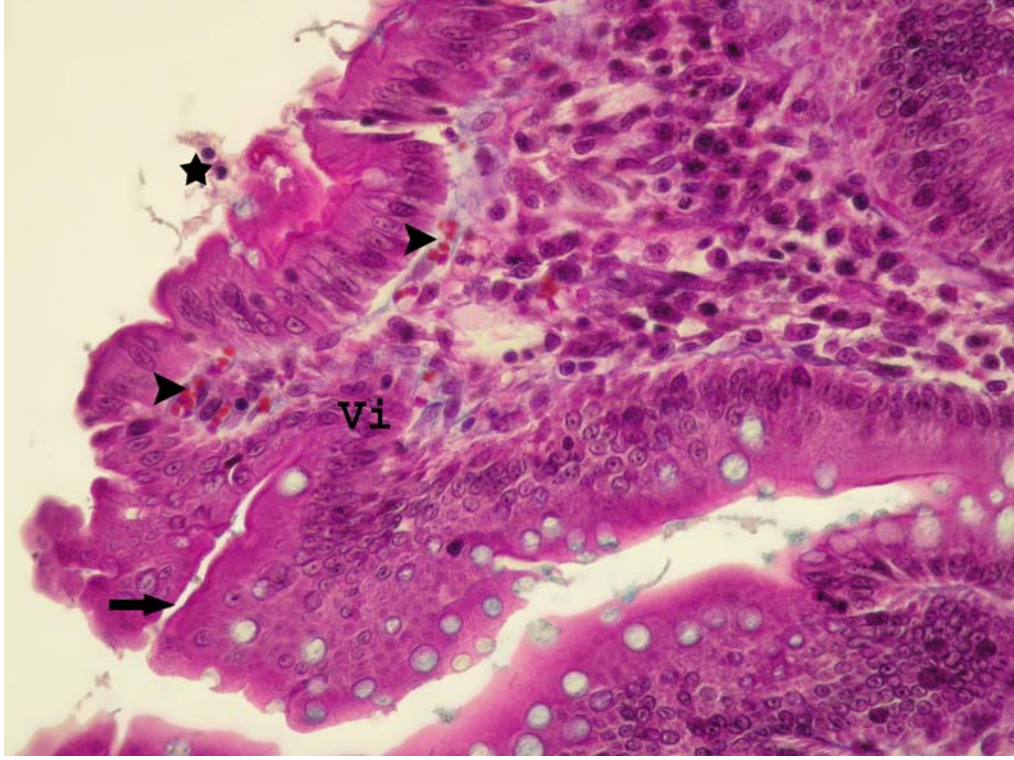
İKİ DOZ RADYASYON GRUBUNA AİT IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLER



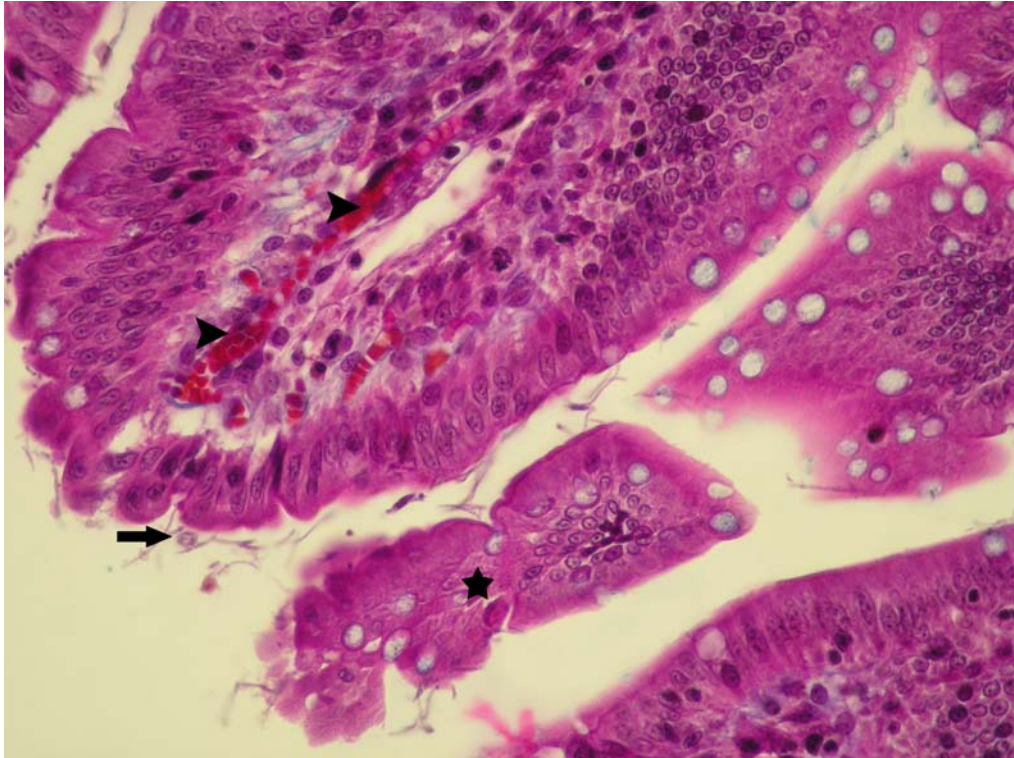
Resim 17. Tamamen parçalanmış villus intestinalisler (*) ve yer yer şekilleri bozulmuş Lieberkühn bezleri (►) izlenmekte. Parçalanmış villusların yüzeyinde ağırlıklı olarak kadehsi hücreler (→) dikkati çekmekte. H+E, X200.



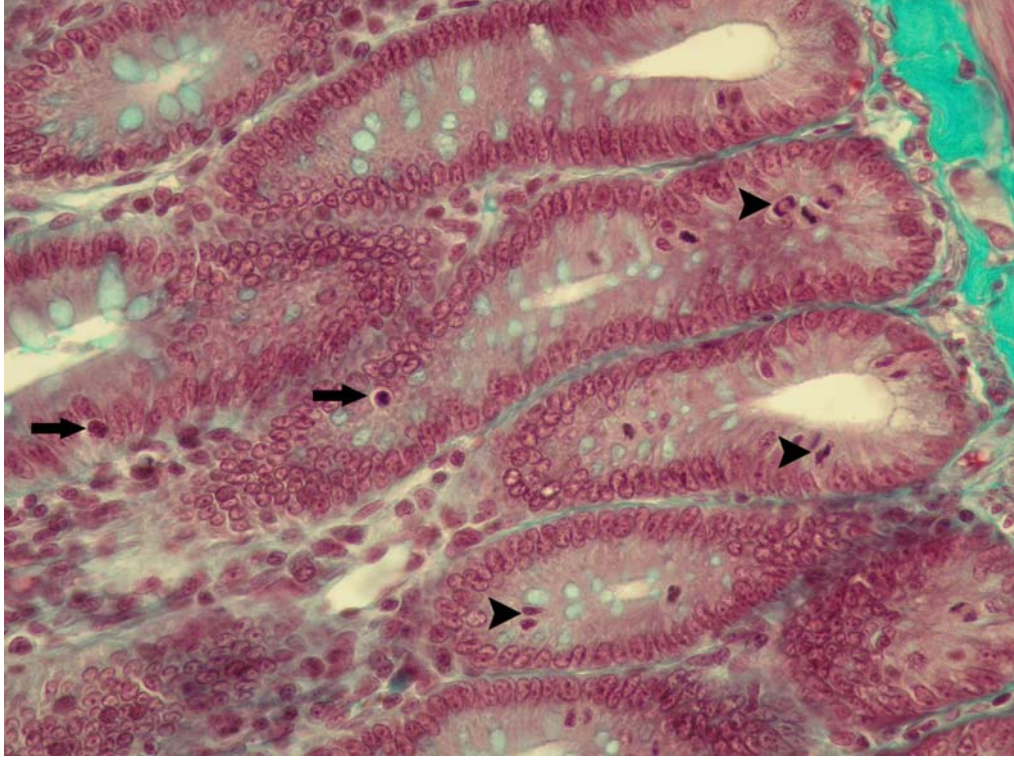
Resim 18. Villus intestinalislerdeki (Vi) şekil bozuklukları dikkati çekmekte. Yüzey epitelindeki ağır dejenerasyona bağlı olarak villus tepesinde boğumlanma (→) ve lümene atılmakta olan bozuk şekilli hücreler (*) görülmekte. Azan, X200.



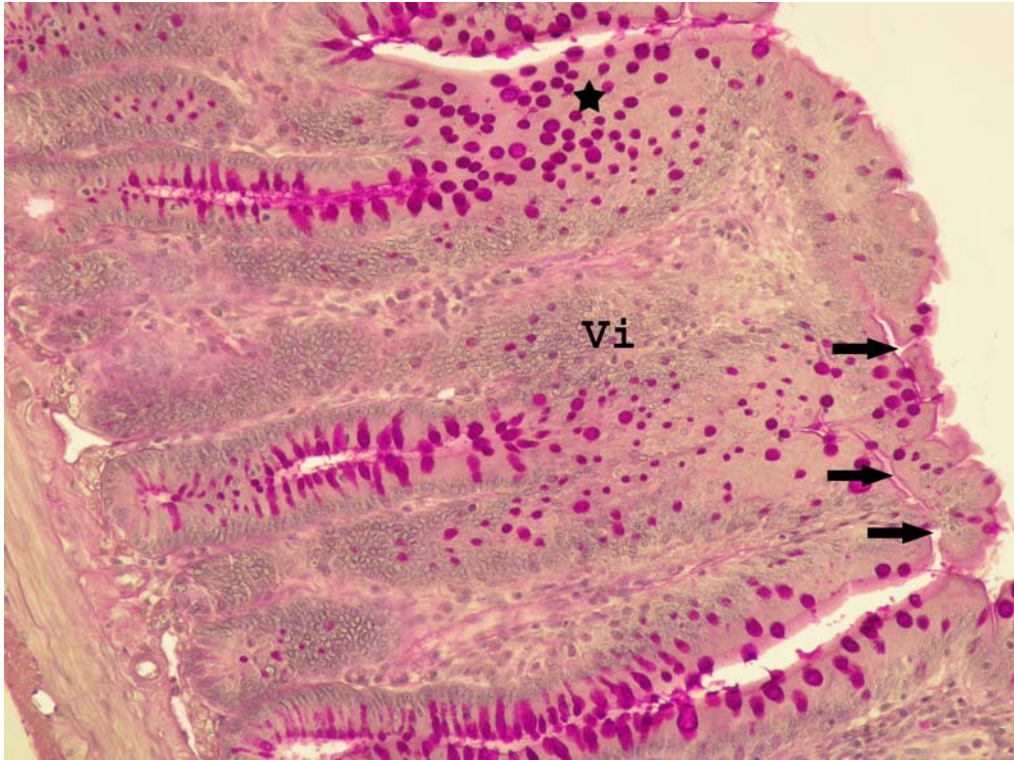
Resim 19. Villusun tepesinde (Vi) yarıklanma (→) olduğu görülmekte ve lamina epitelyalinin bozulmuş hücrelerinin lümene atıldığı (*) izlenmekte. Lamina propriada kapiler konjesyon alanları (►) dikkati çekmekte. Mallory Triple, X400.



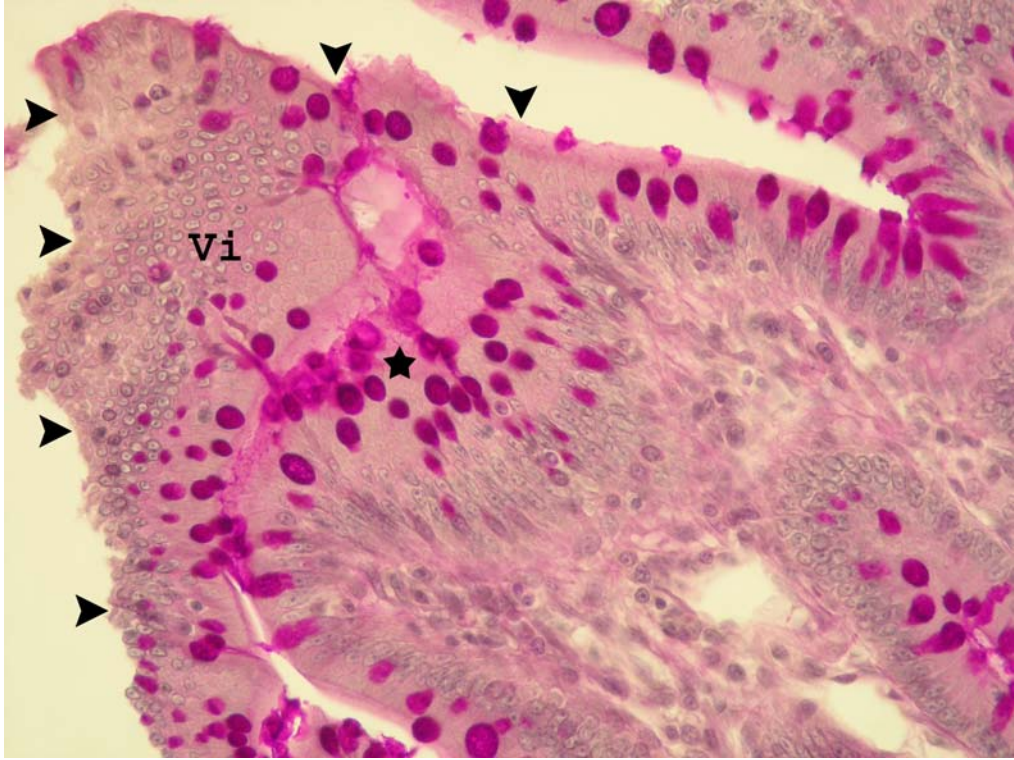
Resim 20. Villusların kopan kısımlarının lümene atıldığı (*), epitelyal bazal membran bütünlüğünün bozulması ile birlikte yüzeyi döşeyen epitel hücrelerinin boğumlanarak lümene doğru atıldığı (→) izlenmekte. Ayrıca lamina propriadaki kapiler konjesyon alanları (►) da dikkati çekmekte. Mallory Triple, X400.



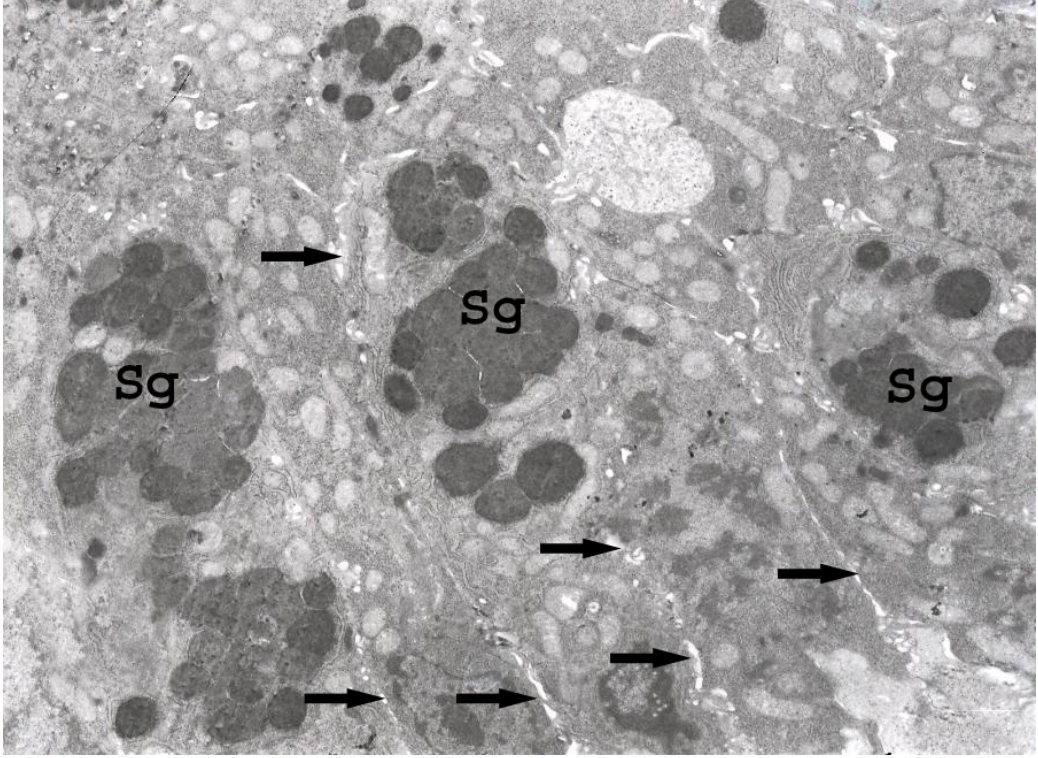
Resim 21. Lieberkühn bezlerinde çok sayıda mitotik figürün (▶) yanı sıra, villusa doğru göç eden hücreler arasında piknotik nükleuslu şeffaf sitoplazmalı hücreler (→) dikkati çekmekte. Masson, X400.



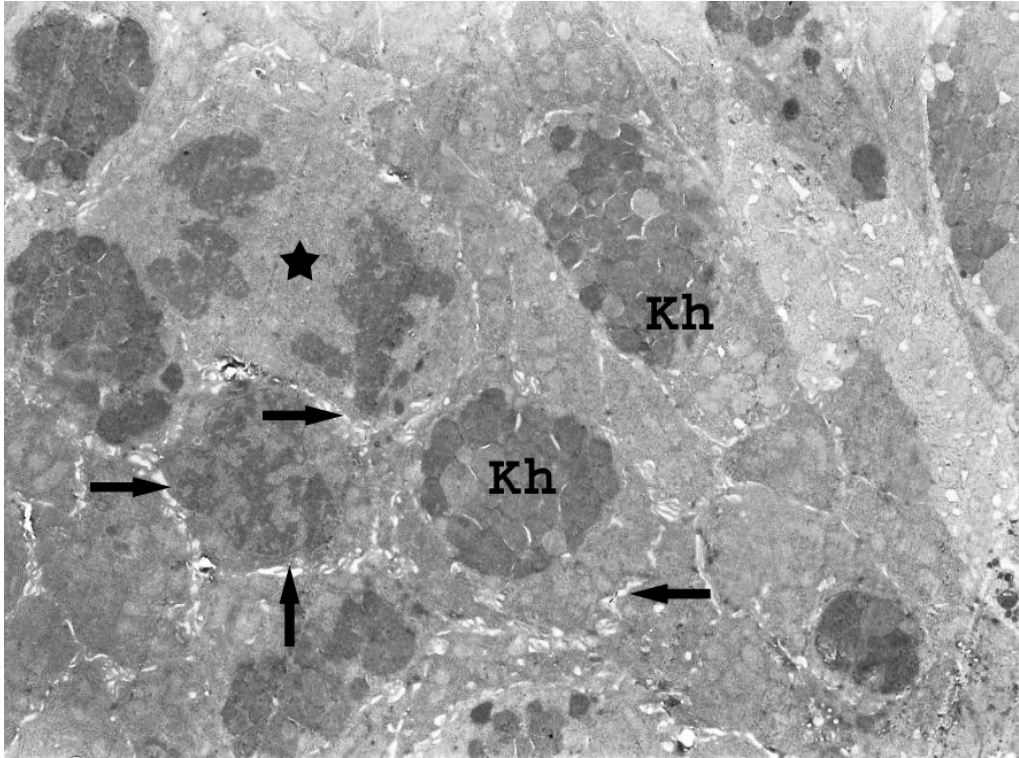
Resim 22. Birleşmiş ve uç kısımları küntleşmiş villus intestinalis yapısı (Vi) görülmekte. Villus yüzey epitel hücrelerindeki şekil bozukluklarına bağlı olarak lamina epitelyalisteki düzensizlik, villus tepesindeki boğumlanmalar (→) izlenmekte. Lieberkühn bezlerinden villusa doğru göç eden ve PAS(+) reaksiyon veren kadehsi hücrelerin düzensiz yerleşimi (*) dikkati çekmekte. PAS+HL, X200.



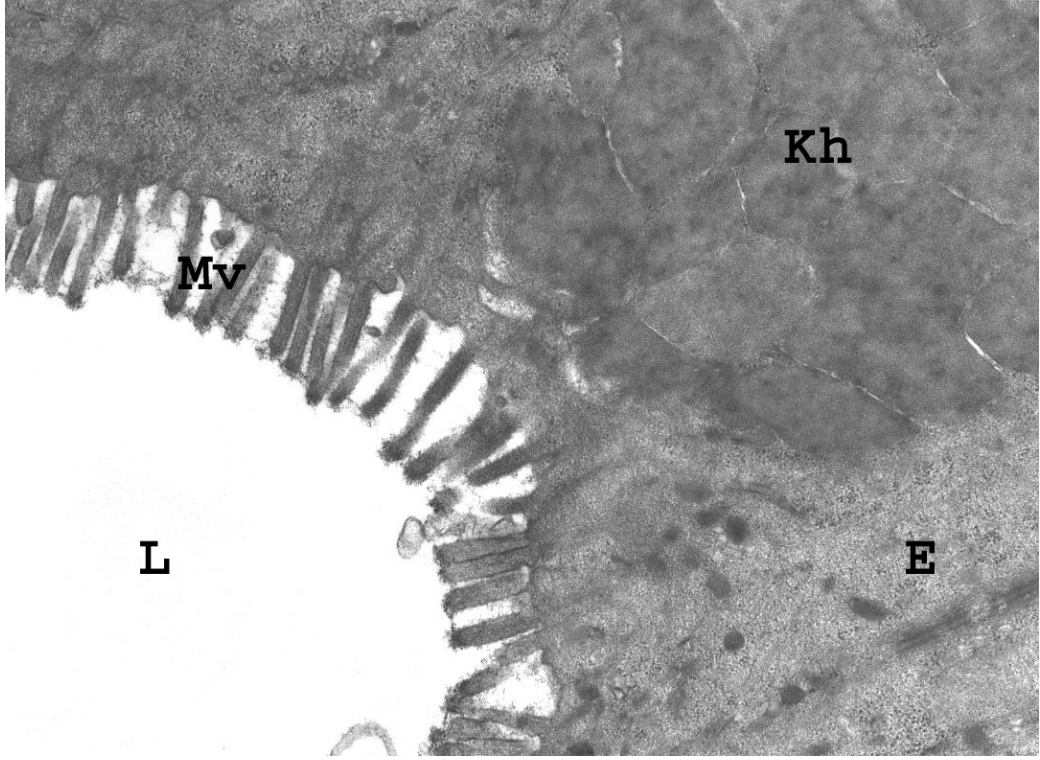
Resim 23. Yapısı tamamen bozulmuş villus intestinaliste (Vi), lamina epitelyalisin bütünlüğünün bozulduğu, hücrelerinin şekil değişikliğine uğradığı ve çizgili kenar yapısının bozulduğu (►) görülmekte. Kadehsi hücrelerin villus yüzeyine dağılmış olduğu (*) dikkati çekmekte. PAS+HL, X400.



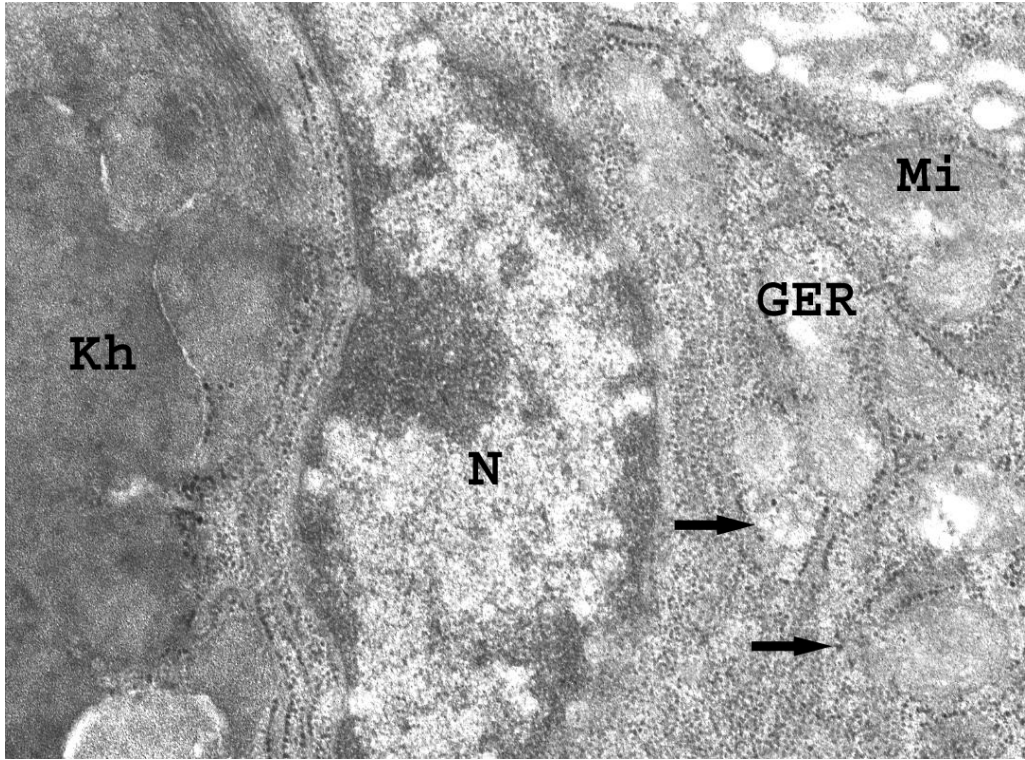
Resim 24. Hücreler arası bağlantılarda açılmalar (→) dikkati çekmekte. Kadehsi hücrelerin salgı granüllerinin (Sg) dağınık yerleşimi gözlenmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X4000.



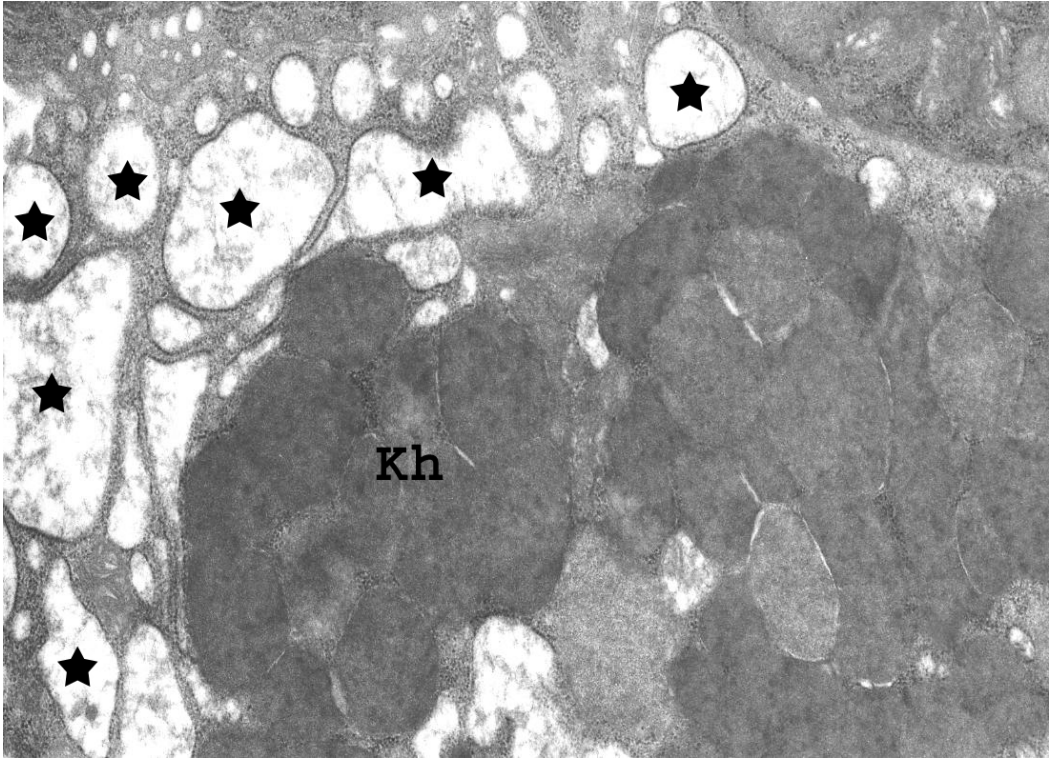
Resim 25. Telifaza giden bölünmek üzere olan bir hücre (*) ile birlikte, kadehsi hücreler (Kh) de dahil olmak üzere tüm hücrelerin, hücreler arası sahasındaki genişlemeler (→) dikkati çekmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X3000.



Resim 26. Lümeneye (L) yakın gözlenen bir kadehsi hücrenin (Kh) teka bölgesi ile birlikte, apikal yüzündeki mikrovillusların (Mv) şeklinde bozukluk ve düzensizlik bulunan enterositler (E) dikkati çekmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 12000.

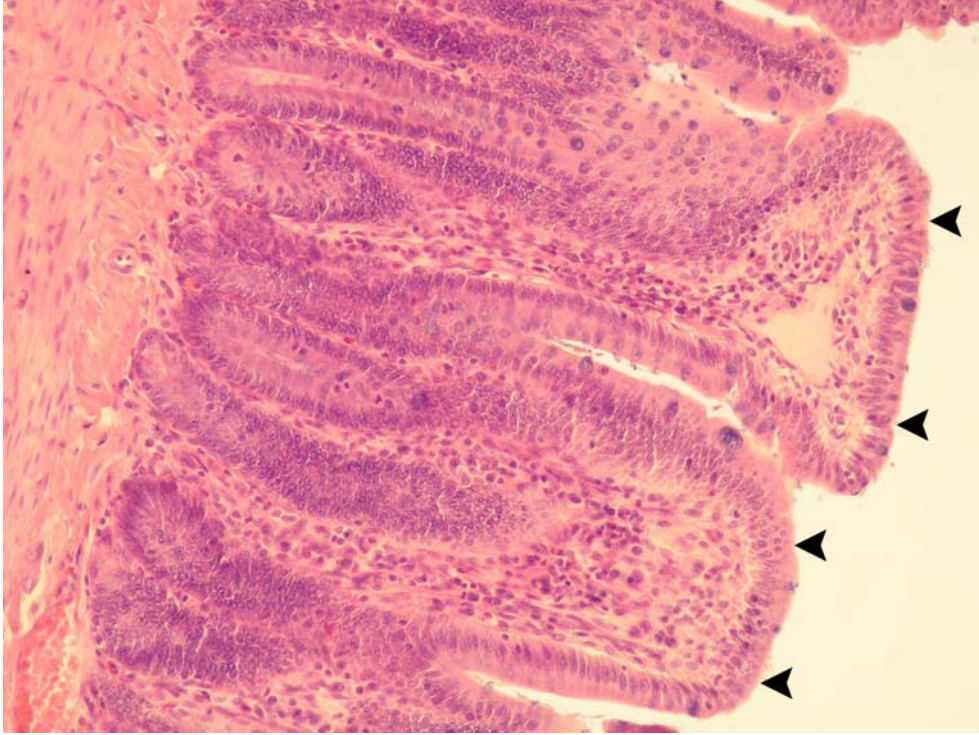


Resim 27. Kristalleri silinmiş mitokondriler (Mi) ile, yer yer degranüle olmuş GER sisternalarına ve sitoplazmaya dağılmış çok sayıda serbest ribozoma sahip (→) bir kadehsi hücre (Kh) görülmekte. Nükleusta (N) kromatin materyalin heterojen dağılımı dikkati çekmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 20000.



Resim 28. GER sisternaları dilate ve degranüle olmuş (*) bir kadehsi hücre (Kh) görülmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 12000.

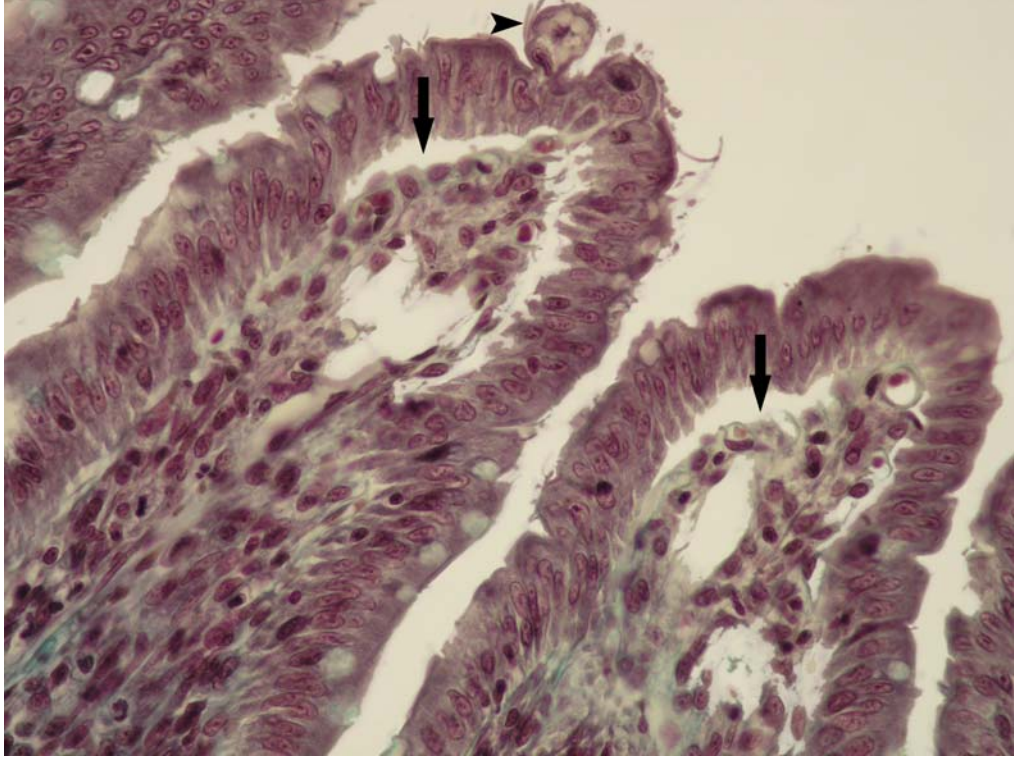
TEK DOZ RADYASYON VE CURCUMİN GRUBUNA AİT IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLER



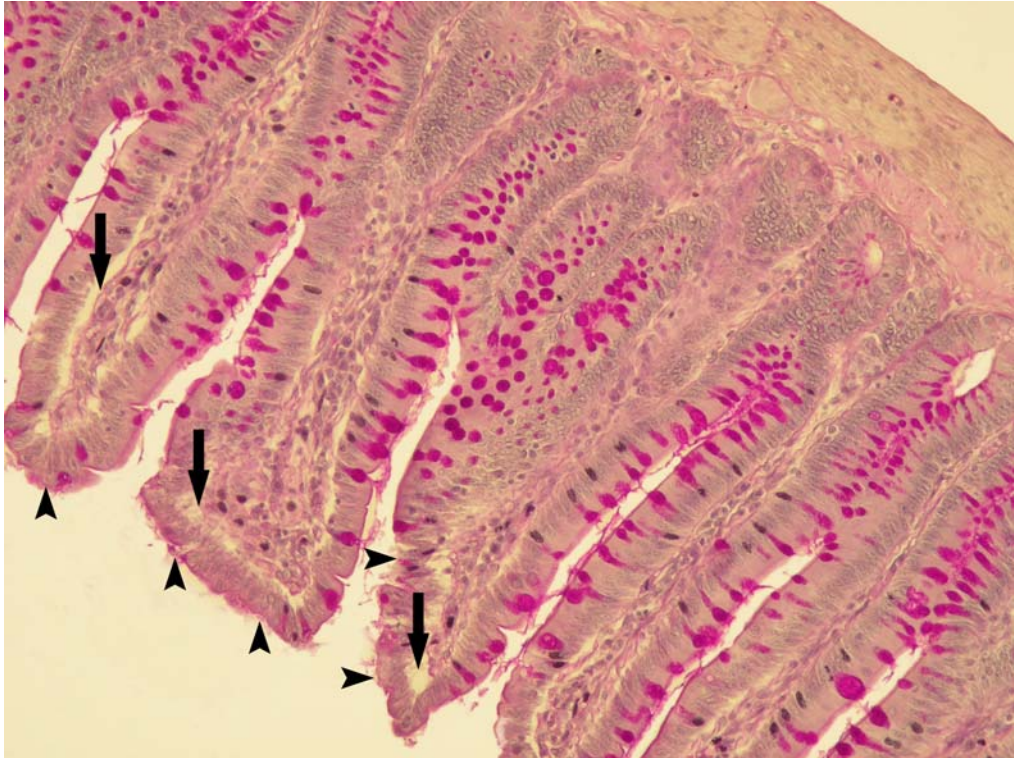
Resim 29. Tek doz 5 Gy radyasyon ve curcumin alan deneklere ait bu resimde; uç kısımları küntleşmiş (►) villus intestinalisler görülmekte. Villus yüzeyini döşeyen lamina epitelyalis ve villus eksenini dolduran lamina propria arasındaki bütünlük dikkati çekmekte. H+E, X200.



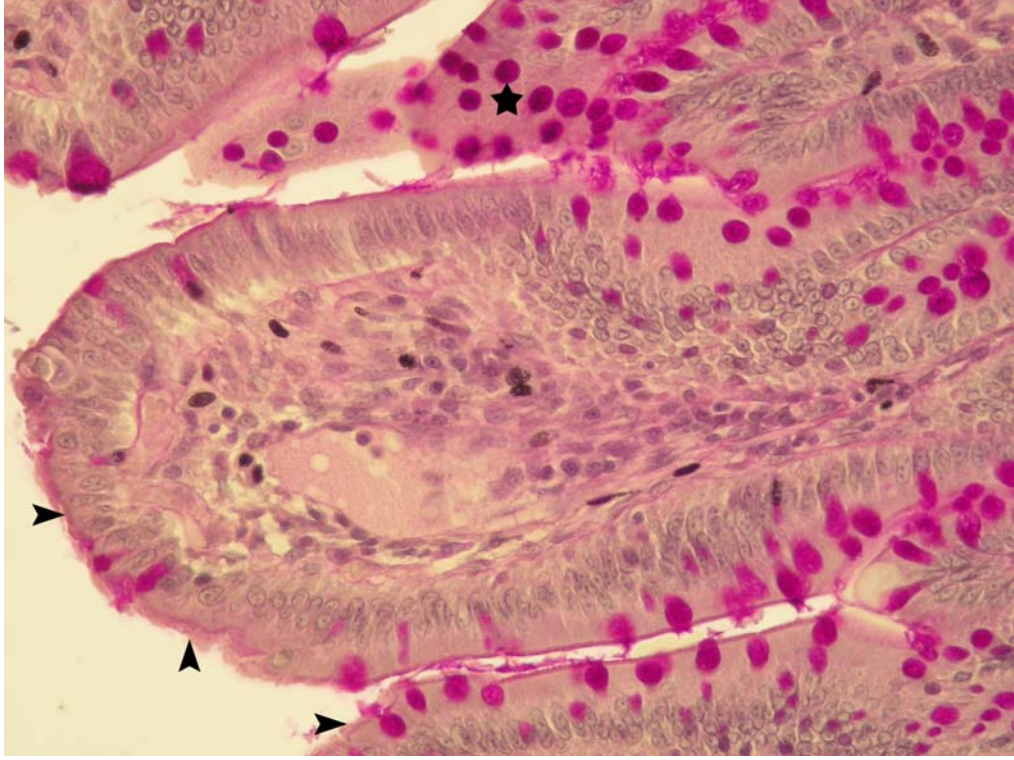
Resim 30. Villus intestinalis'lerin şeklinin genel anlamda korunduğu ancak hafif düzeyde subepitelyal ayrılmalar olduğu (→) görülmekte. Masson, X100



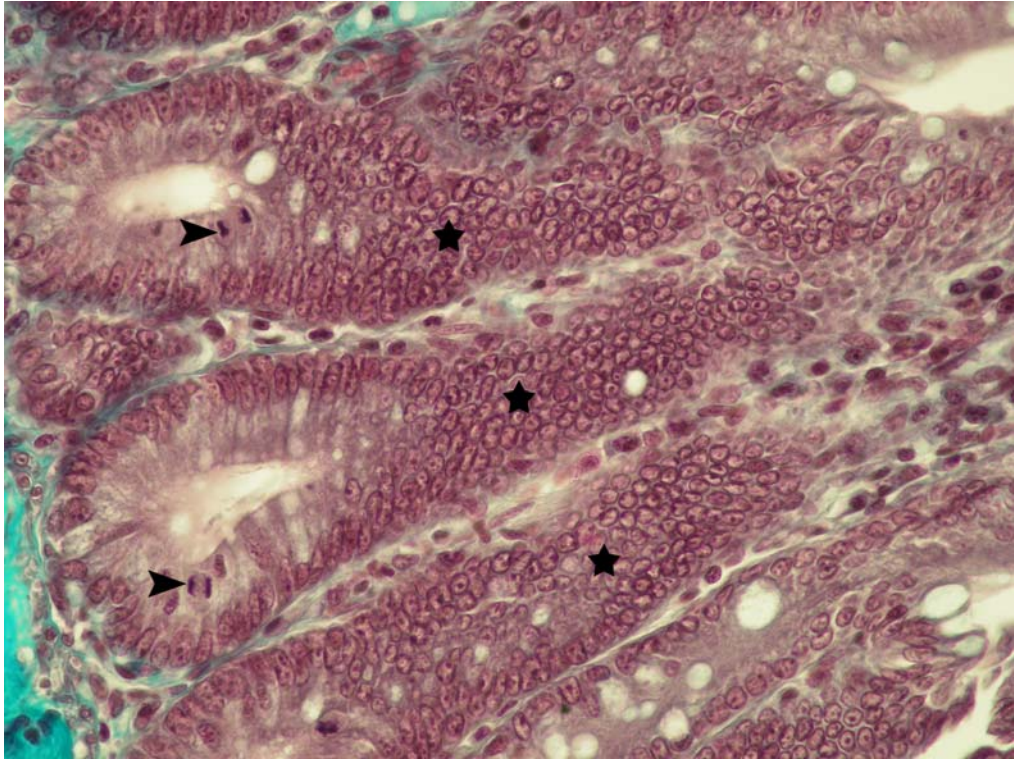
Resim 31. Lamina epitelyaliste korunmuş olan hücrelerin yanı sıra, yer yer bütünlükleri bozularak raket şekli almış atılmakta olan epitelyal kısımlar (▶) görülmekte. Villusların apikal kısmında hafif bir subepitelyal ayrılma (→) dikkati çekmekte. Masson, X400.



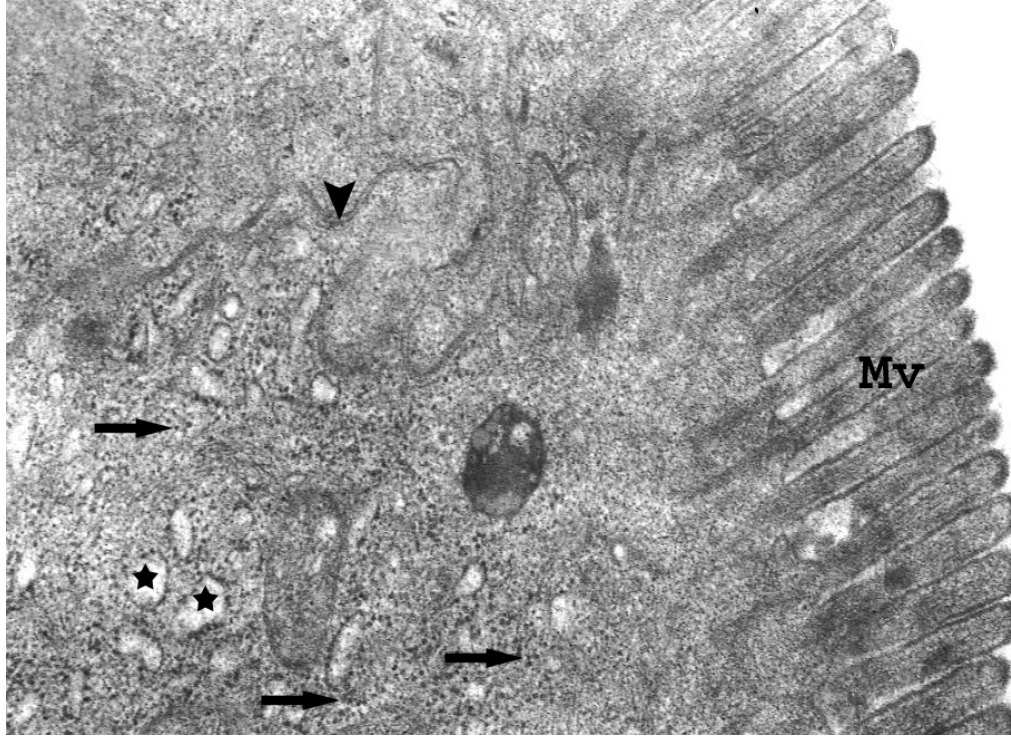
Resim 32. Lieberkühn bezlerinden göç eden, PAS(+) reaksiyon veren kadehsi hücrelerin düzgün yerleşimi yanı sıra, villusların apikal kısımlarında subepitelyal ayrılmalar (→) ile birlikte epitelyal hücrelerdeki düzensizliğe bağlı olarak çizgili kenar yapısında hafif bozulma (▶) dikkati çekmekte. PAS+HL, X200.



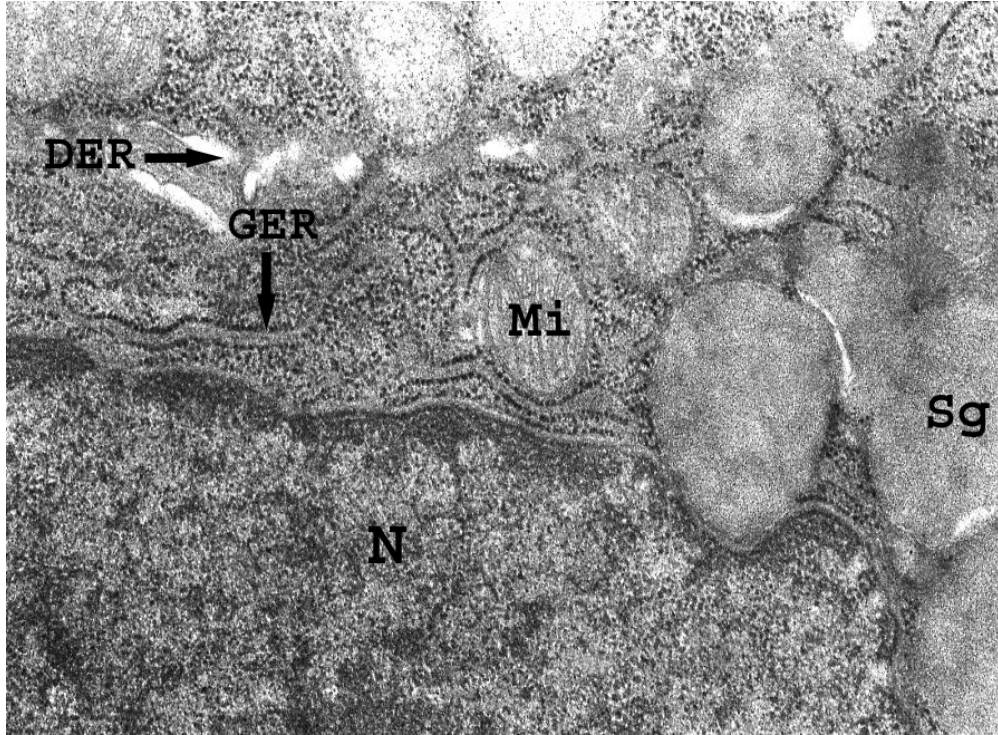
Resim 33. Villus intestinalislerin epitelyal hücrelerinin apikal yüzündeki PAS(+) reaksiyon veren çizgili kenar yapısında hafif bir düzensizlik olduğu (►) görülmekte. Bazı bölgelerde kadehsi hücrelerin yerleşimlerinde yer yer dağımlık olduğu (*) dikkati çekmekte. PAS+HL, X400.



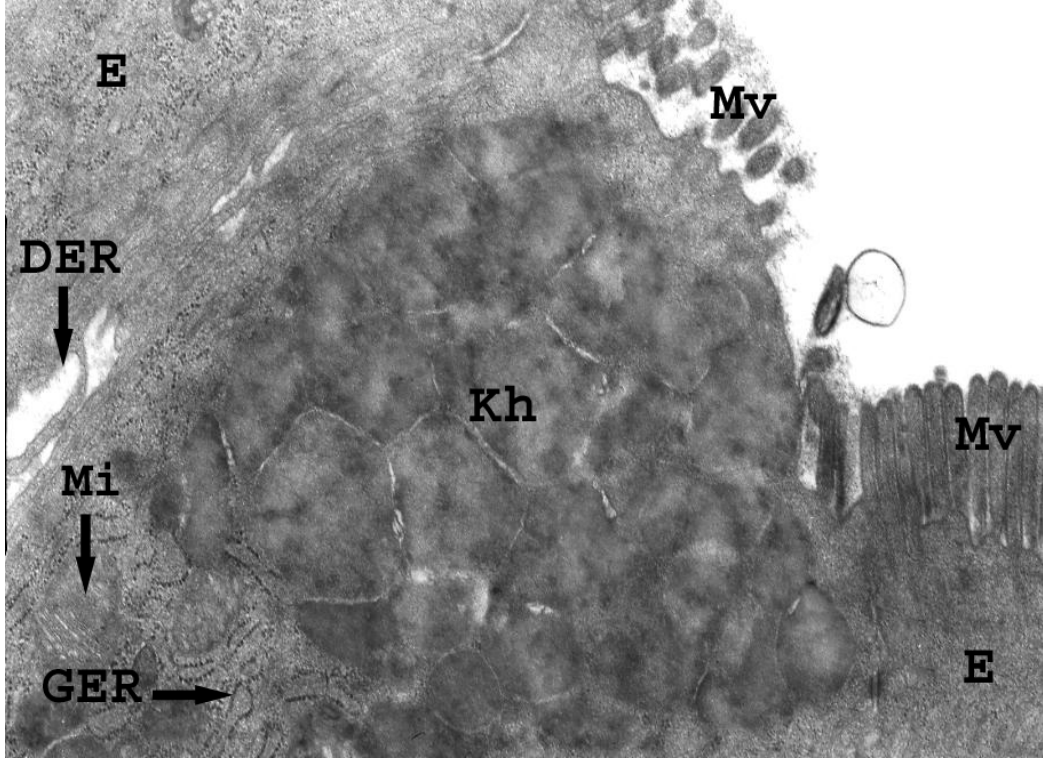
Resim 34. Lieberkühn bezlerindeki mitoz figürlerinin yanı sıra (►) villusa doğru göç eden hücreler (*) dikkati çekmekte. Masson, X400.



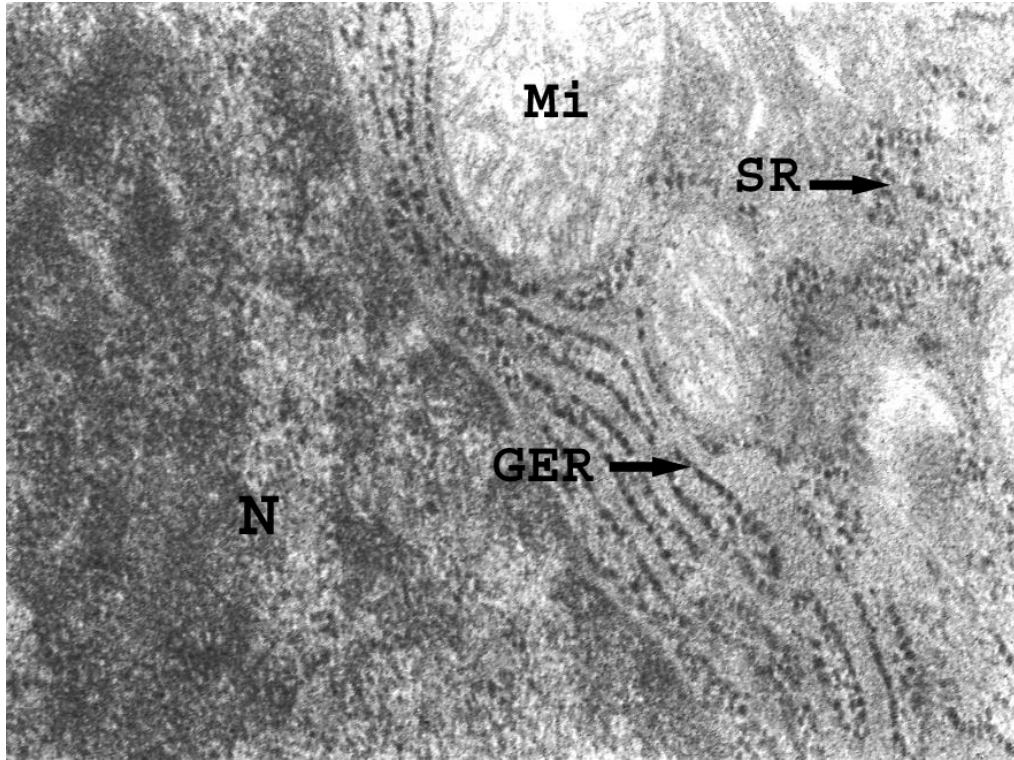
Resim 35. Hücrelerin apikal yüzünde düzenli yerleşmiş mikrovilluslar (Mv) görülmekte. Hücreler arası sahada (►) herhangi bir şekilde genişleme izlenmemekte. GER sistenalarının bazılarında hafif derecede dilatasyon (*) ve sitoplazma içerisinde dağınık yerleşimli serbest ribozomlar (→) dikkati çekmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 25000.



Resim 36. GER ve DER sistenaları düzenli görünen, kristalleri belirgin mitokondrilere (Mi) sahip kadehsi hücrenin nükleusunda (N) kromatin materyalin nükleer lamina altında normal yerleşimine karşın, düzensiz bir kromatin dağılımı dikkati çekmekte. Nükleusa yakın yerleşmiş birkaç salgı granülü (Sg) izlenmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 25000.

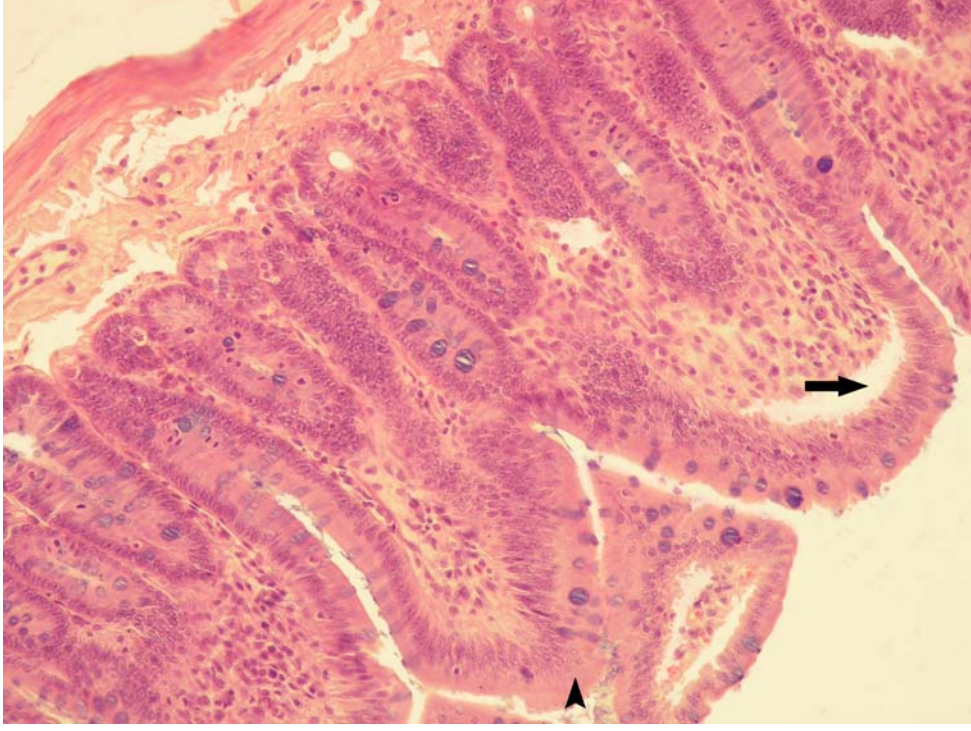


Resim 37. Henüz lümene açılmamış bal peteği görünümünde sıkı paketlenmiş salgı granüllerine sahip bir kadehsi hücrenin (Kh) apikalinde az sayıda mikrovillus (Mv) görülmekte. Teka bölgesinin altında düzenli yapıda GER sisternları ve kristalleri belirgin mitokondriler (Mi) dikkati çekmekte. Düzgün mikrovilluslara sahip enterositlerin (E) DER sisternalarının dilate olduğu izlenmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 15000.

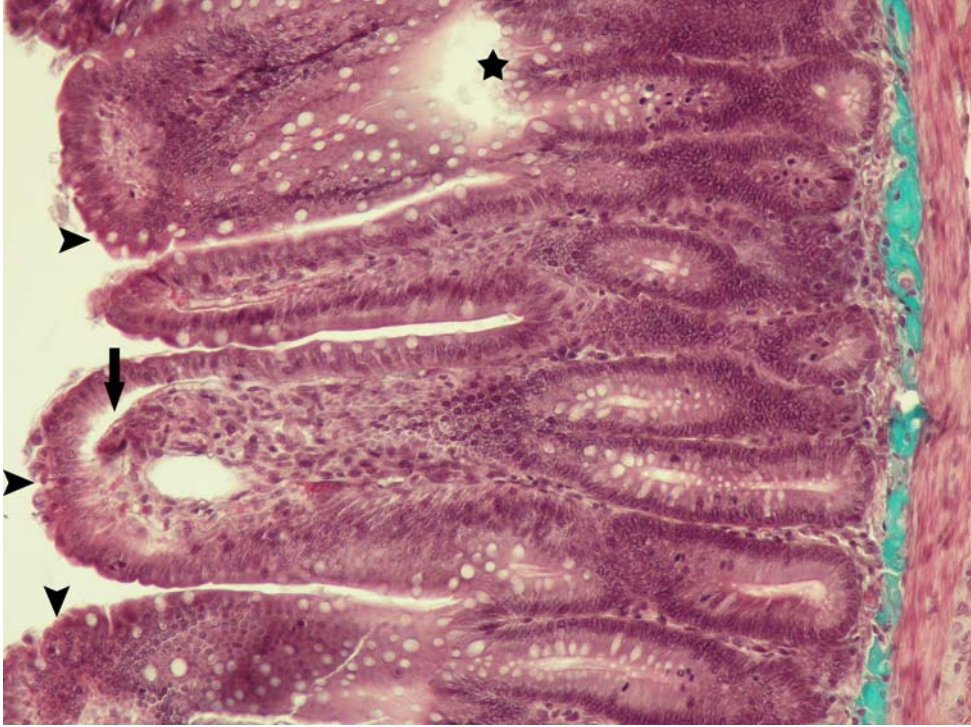


Resim 38. Kaba ve düzensiz kromatin dağılımına sahip bir nükleus (N) içeren kadehsi hücrenin, düzgün yerleşimli GER sisternaları, kristal mitokondrileri (Mi) ve serbest ribozomları (SR) görülmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 40000.

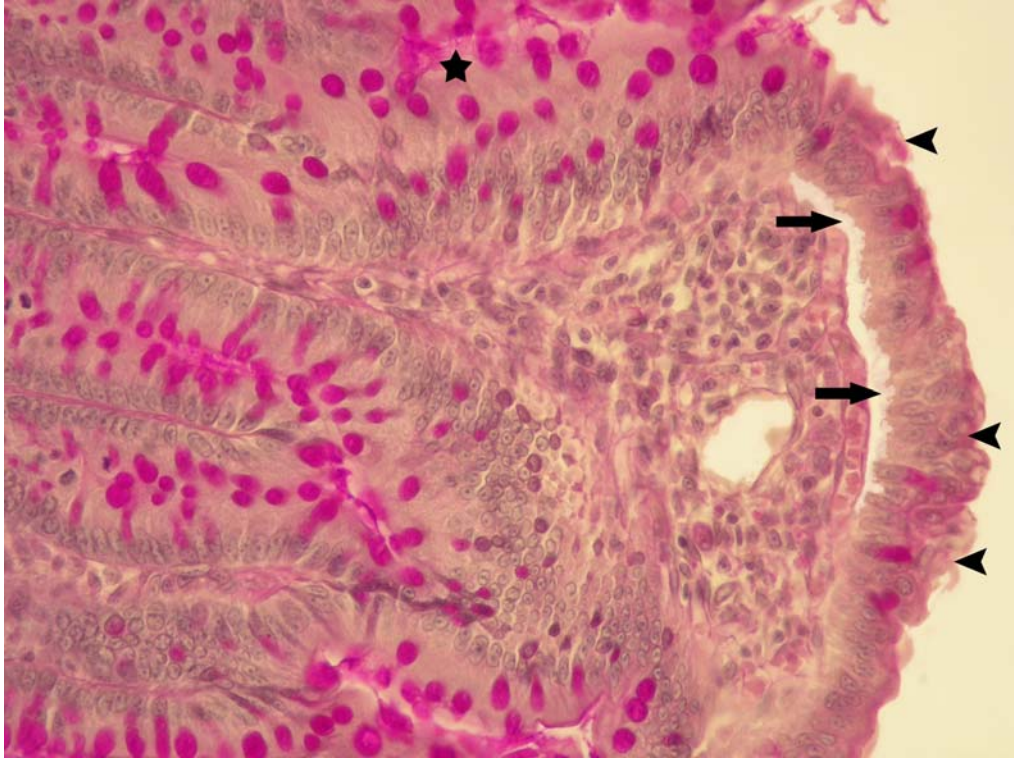
İKİ DOZ RADYASYON VE CURCUMİN GRUBUNA AİT IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLER



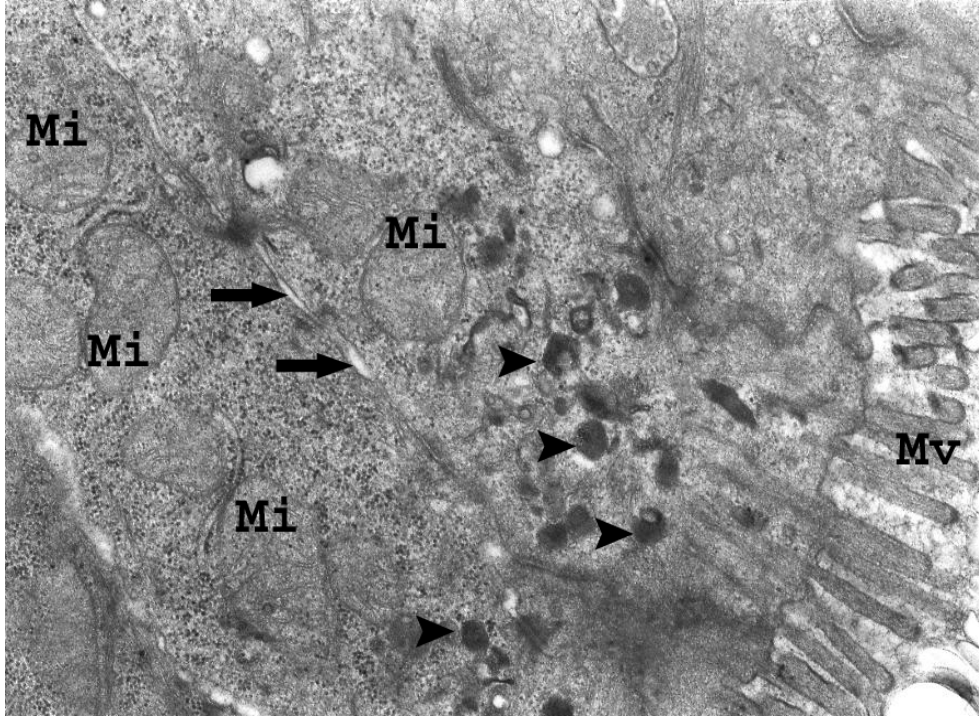
Resim 39. Lamina epitelyalisi oluşturan hücrelerin yerleşiminde yer yer düzensizlikler (►) dikkati çekmekte. Bazı bölgelerde lamina epitelyalis ve lamina propria arasında hafif ayrılmalar (→) olduğu görülmekte. H+E, X200.



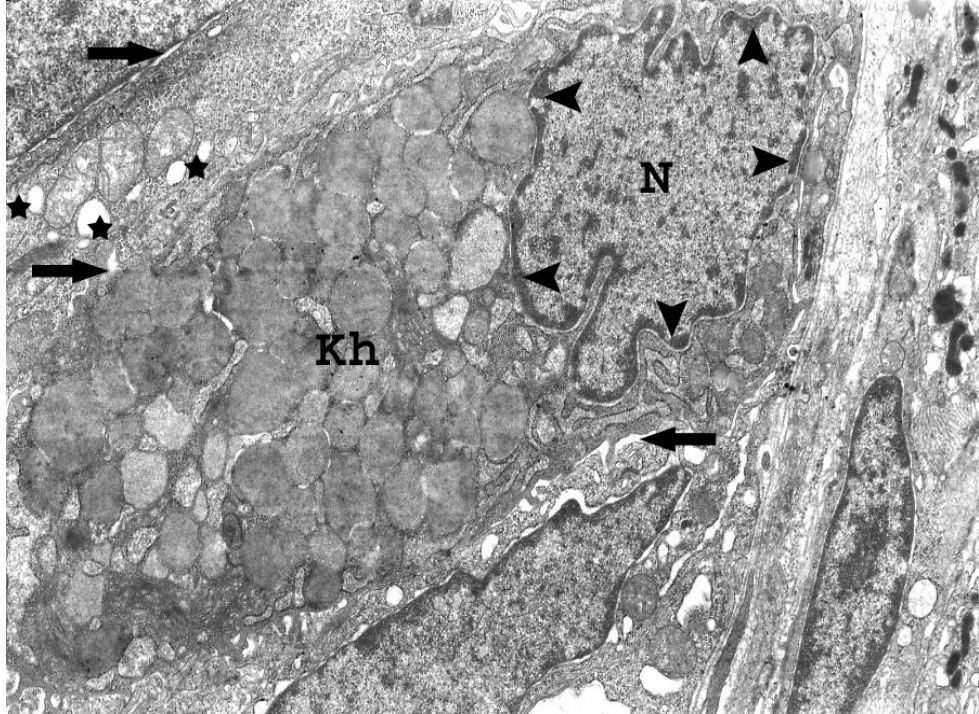
Resim 40. İki doz 5 Gy radyasyon ve curcumin alan deneklere ait bu resimde; Lieberkühn bezleri ile villusların birleşim yerlerinde kopma (*) ile birlikte bazı villusların epitelindeki düzensizlik (►) ve subepitelyal ayrılma (→) dikkati çekmekte. Masson, X200.



Resim 41. Kütleşmiş olan villus intestinalisin uç kısmında hafif bir subepitelyal ayrılmanın (→) yanı sıra hücrelerin şekillerinin de kısmen bozulmuş olduğu (▶) görülmekte. Bazı bölgelerde kadehsi hücrelerin dağınık yerleşimi (*) dikkati çekmekte. PAS+HL, X400.

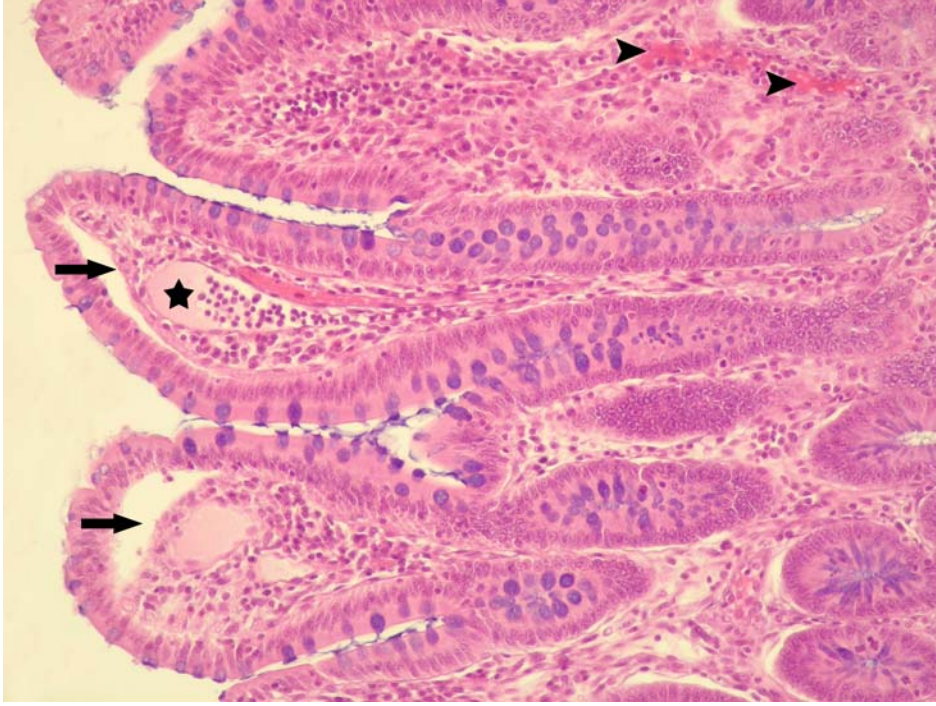


Resim 42. Yüzey epitel hücrelerinin apikal kısmındaki mikrovillusların (Mv) şeklinde ve yerleşiminde düzensizlik dikkati çekmekte. Hücreler arası sahada çok hafif bir ayrılma (→) ile birlikte kristalarında kısmen silinme görülen mitokondrilerde şişme (Mi) ayırt edilmekte. Apikal sitoplazma içerisinde mikrocisimler (▶) gözlenmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 15000.

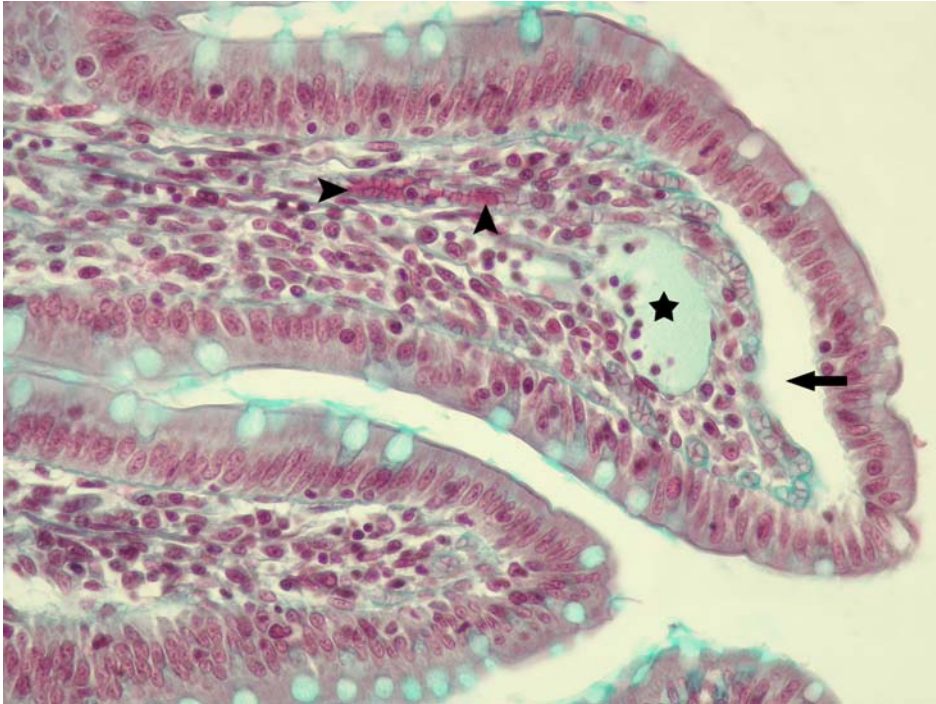


Resim 43. Henüz lümene açılmamış, çok sayıda irili ufaklı ve farklı yoğunlukta salgı granülüne sahip bir kadehsi hücrenin (Kh) çentikli yapıdaki nükleusunda (N) kromatin materyalinin nükleer lamina altında hafif derecede yoğunlaşması (▶) görülmekte. Hücreler arası sahada hafif derecede ayrılmalar (→) izlenmekte. Enterositlere ait DER sisternalarında hafif derecede dilatasyonun (*) varlığı dikkati çekmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 6000.

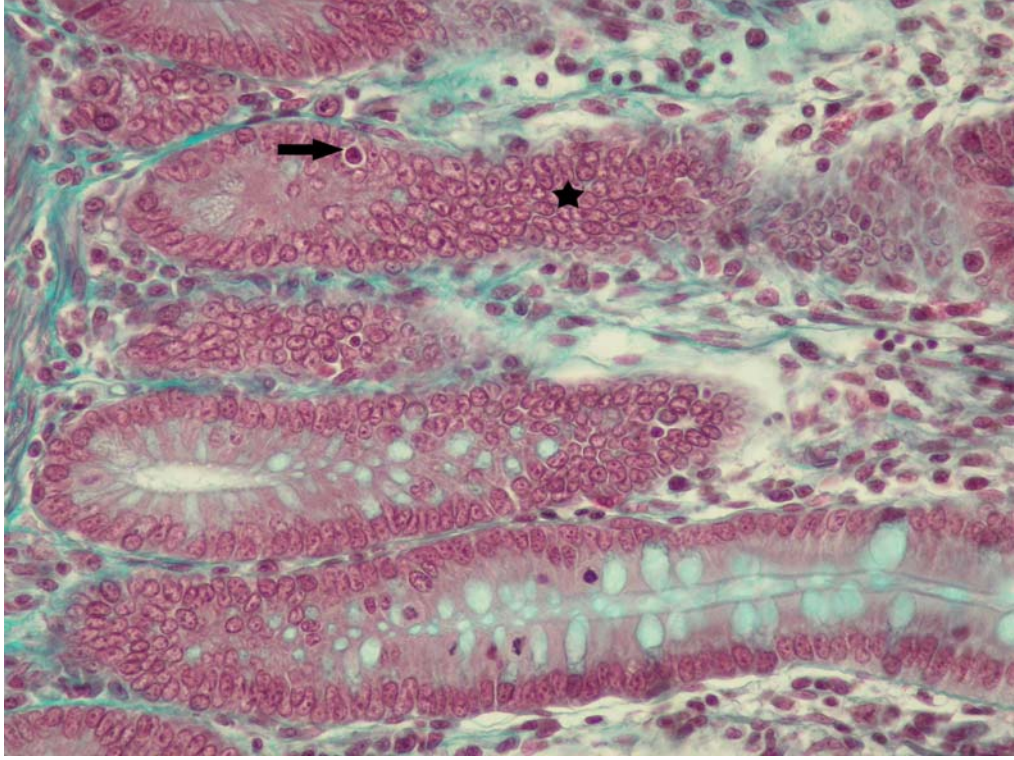
TEK DOZ RADYASYON VE C VİTAMİNİ GRUBUNA AİT IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOPİK GÖRÜNTÜLER



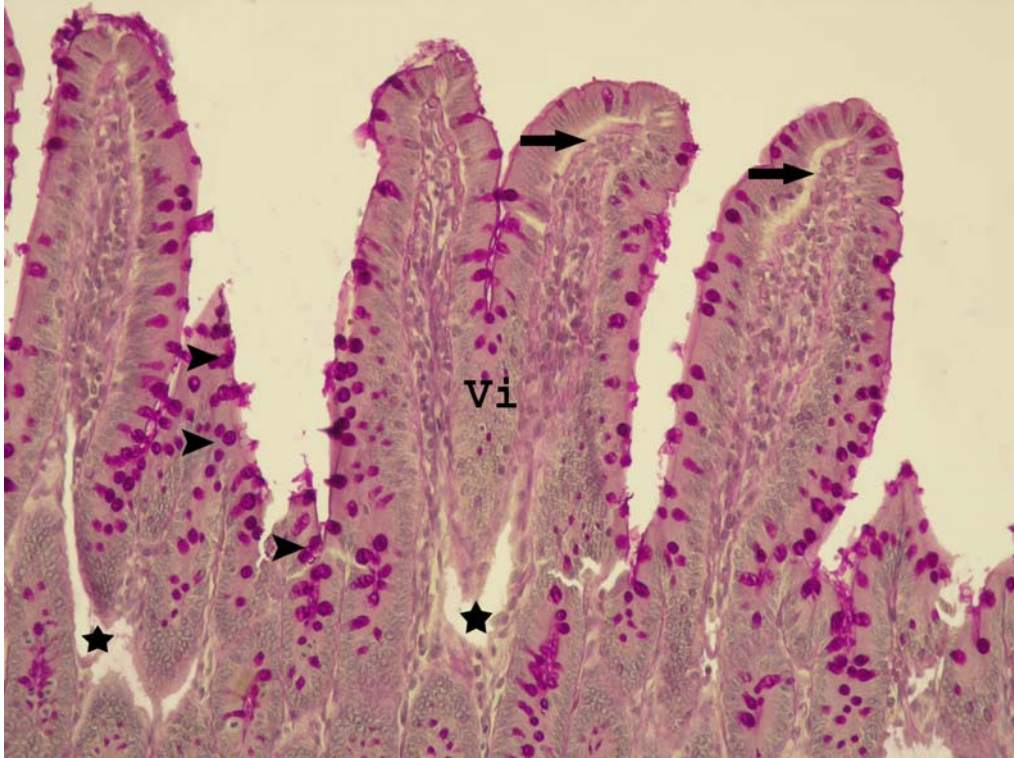
Resim 44. Tek doz 5 Gy radyasyon ve C vitamini alan deneklere ait bu resimde; lamina propriadaki kapiler konjesyon (►) ve lakteal içerisindeki lenfositler (*) görülmekte. Villus intestinalislerin ve epitelyal hücrelerin genel anlamda korunmuş olmasına karşın, bazı villuslarda subepitelyal ayrılmalar (→) da dikkati çekmekte. H+E, X200.



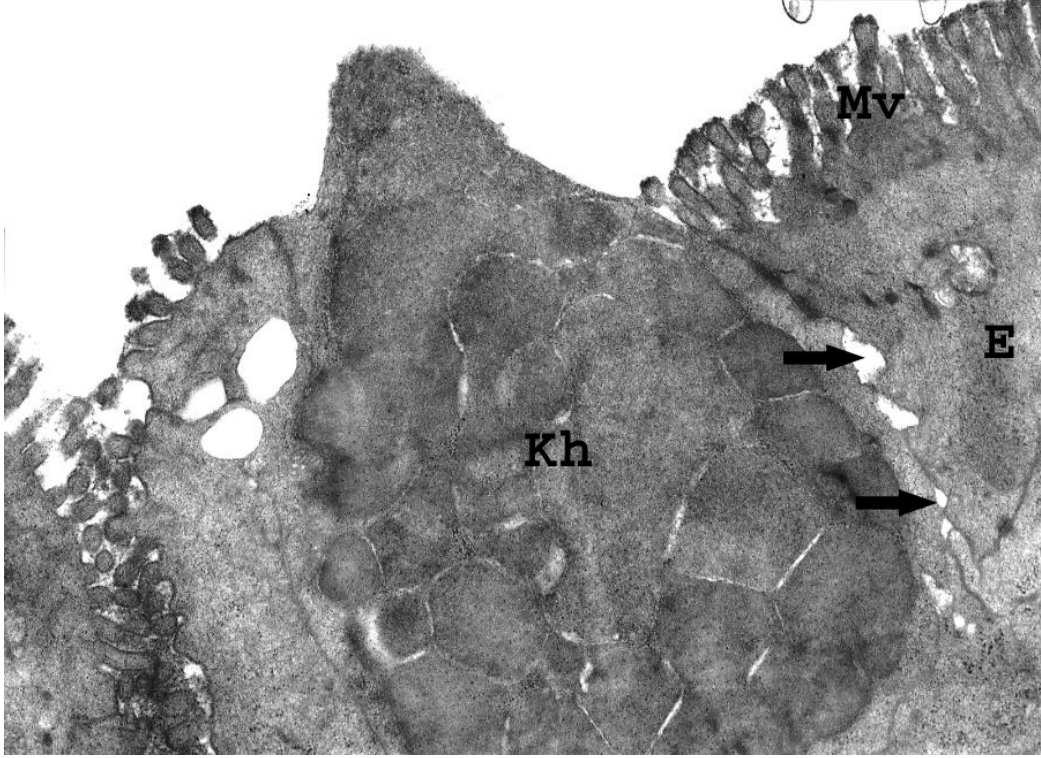
Resim 45. Villus intestinalisin uç kısmında lamina epitelyalis ve lamina propria arasında ayrılma (→) görülmekle birlikte epitelyal hücrelerin düzenli yerleşimi izlenmekte. Lakteal içindeki lenfositler (*) ve kapiler konjesyon (►) dikkati çekmekte. Masson, X400.



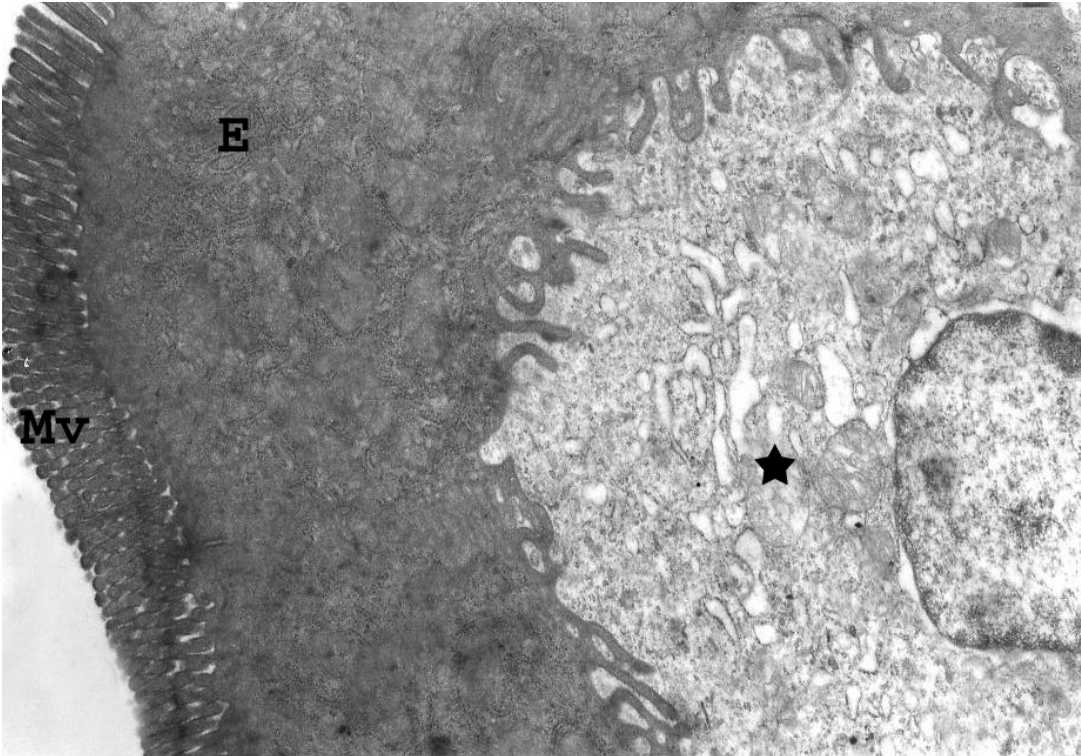
Resim 46. Lieberkühn bezlerinden villus intestinalislere doğru göç eden hücreler (*) arasında piknotik nükleuslu şeffaf sitoplazmalı hücreler (→) dikkati çekmekte. Masson, X400.



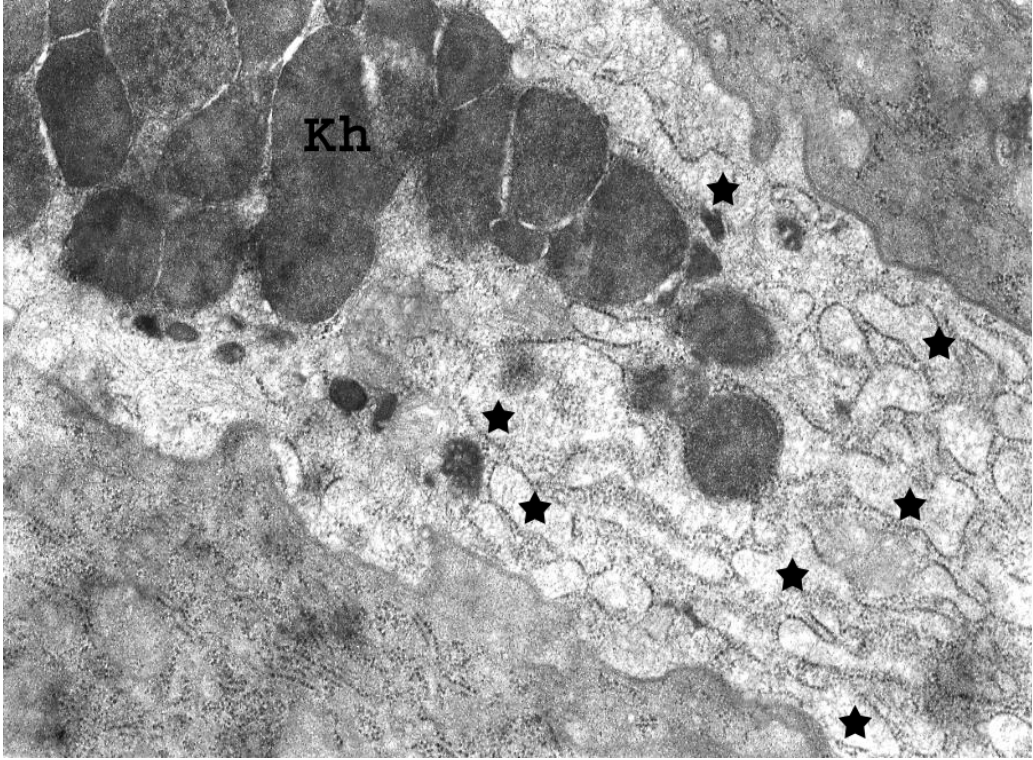
Resim 47. Şekilleri kısmen bozulmuş olan villus intestinalislerde (Vi), lamina epitelyalis ve lamina propria arasında hafif ayrılmalar (→), villuslar arasında yer yer birleşmeler ve dip kısımlarında hafif kopmalar (*) olduğu görülmekte. Çok sayıdaki kadehsi hücrenin düzensiz dağılımı (►) dikkati çekmekte. PAS+HL, X200.



Resim 48. Lümeneye açılmakta olan bal peteği görünümüne sahip salgı granülleri içeren kadehsi bir hücrenin (Kh) komşu hücrelerle olan bağlantılarının zayıflamış olduğu (→) görülmekte. Enterositlere (E) ait mikrovillusların (Mv) dağınık yerleşimi ve bozulmuş şekilleri dikkati çekmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X12000.

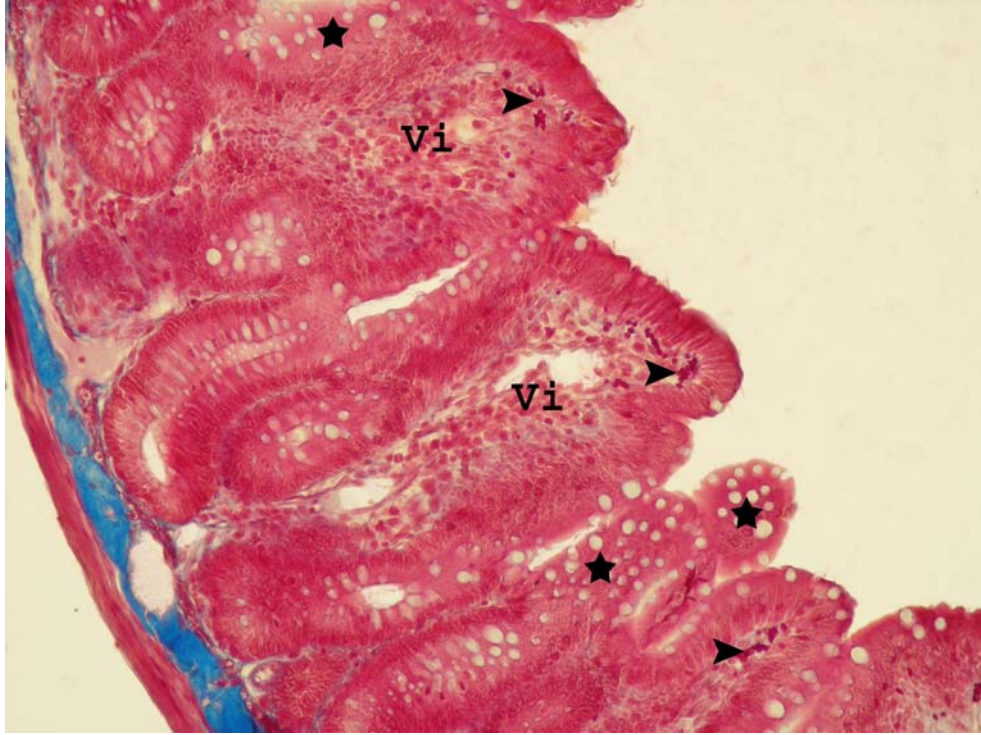


Resim 49. Kondanse olmuş enterositlerle (E) birlikte villus yüzeyine yakın yerleşmiş aydınlık bir dev hücre (*) görülmekte. Yüzeydeki mikrovillusların (Mv) hafif dağınık yapısı dikkati çekmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X8000.



Resim 50. Kadehsi bir hücrenin (Kh) degranüle ve dilate olmuş GER sisternalarının düzensiz yerleşimi (*) dikkati çekmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X15000.

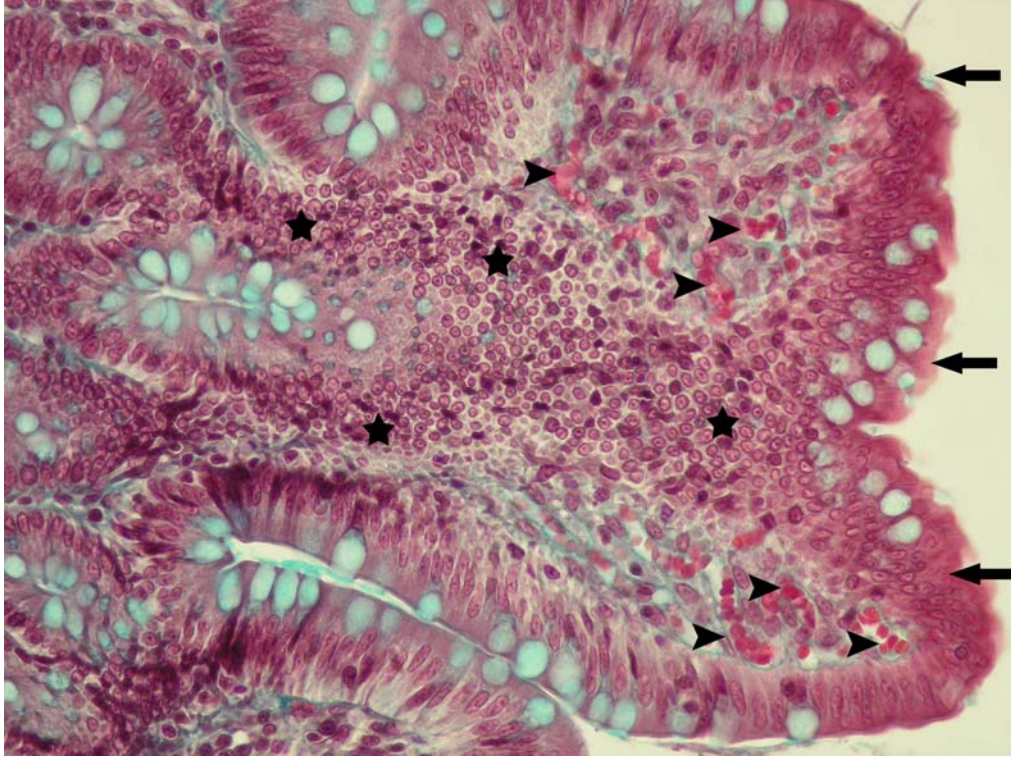
İKİ DOZ RADYASYON VE C VİTAMİNİ GRUBUNA AİT IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK GÖRÜNTÜLER



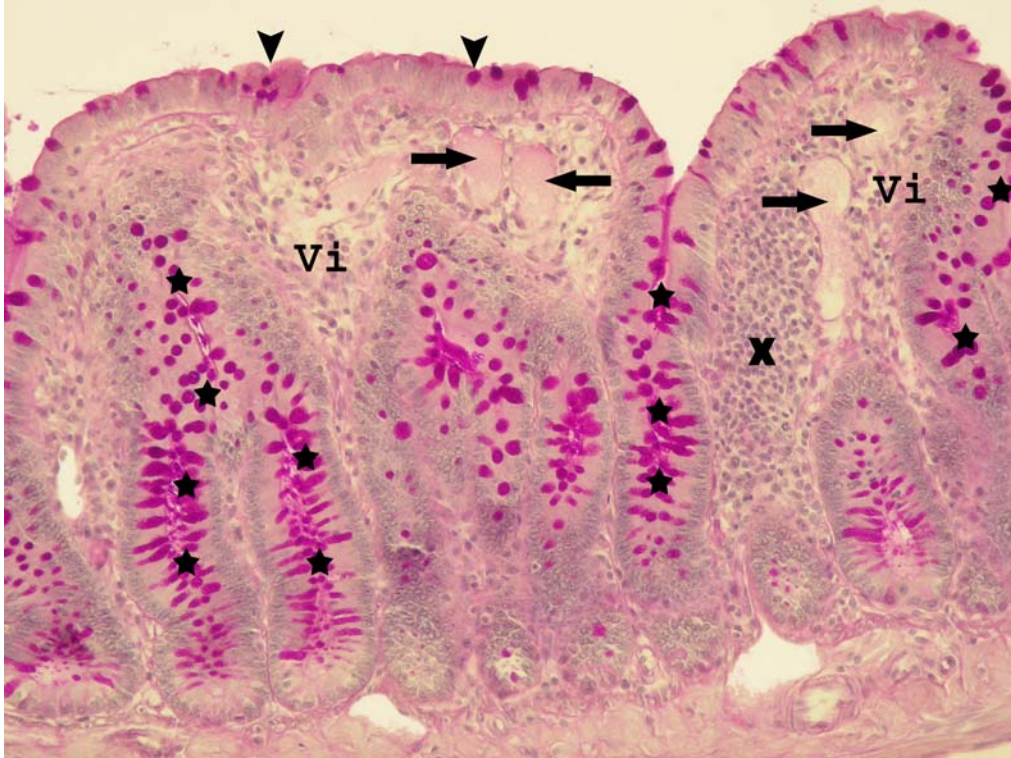
Resim 51. İki doz 5 Gy radyasyon ve C vitamini alan deneklere ait bu resimde; villus intestinalislerin (Vi) düzensiz şekle sahip olduğu ve bazı bölgelerde kadehsi hücrelerin yoğun olarak yerleştiği (*) görülmekte. Lamina propriadaki kapiler konjesyon alanları (►) dikkati çekmekte. Azan, X200.



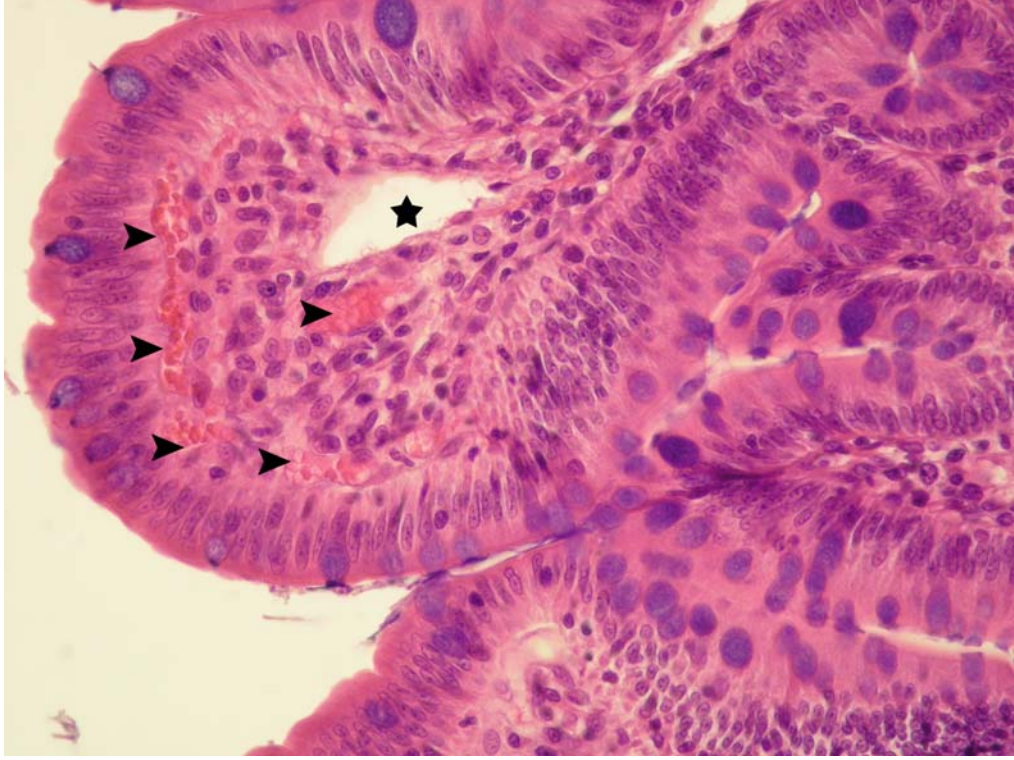
Resim 52. Lamina epithelialisin genel olarak bütünlüğünü koruduğu yer yer düzensizleştiği (→) dikkati çekmekte. Lamina propriada kapiler konjesyon alanları (►) olduğu görülmekte. Mallory Triple, X200.



Resim 53. Birleşmiş bir villus intestinaliste bozuk şekilli lamina epitelyalis hücrelerinin düzensiz yerleşimi (→) ve bezlerden çok sayıda proliferere olmuş farklılaşmaya giden hücrelerin epitel altındaki yoğunluğu (*) dikkati çekmekte. Lamina propriada kapiler konjesyon (▴) görülmekte. Masson, X400.



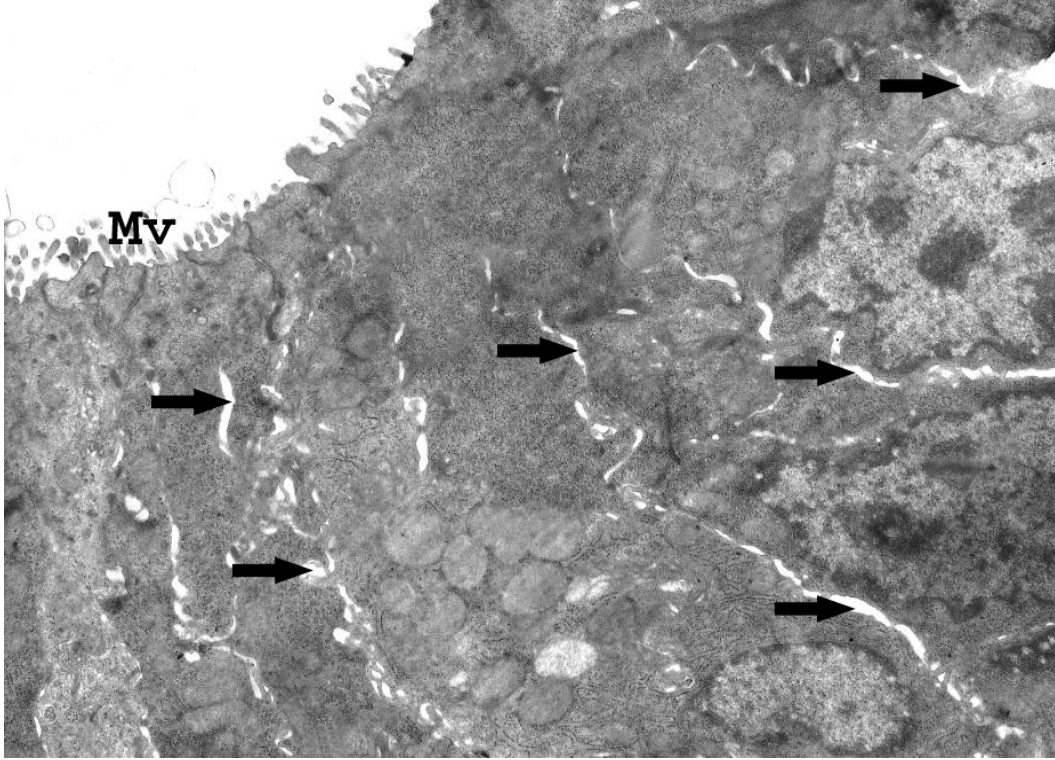
Resim 54. Birleşmiş ve uç kısımları küntleşmiş villus intestinalislerin (Vi) lamina epitelyalisindeki çizgili kenar yapısında yer yer bozulmalar (▴), lamina propriasında genişlemiş laktealler (→) ve lenfosit infiltrasyonu (X) dikkati çekmekte. Bezlerden villusa doğru göç eden PAS(+) reaksiyon veren kadehsi hücreler (*) ayırt edilmekte. PAS+HL, X200.



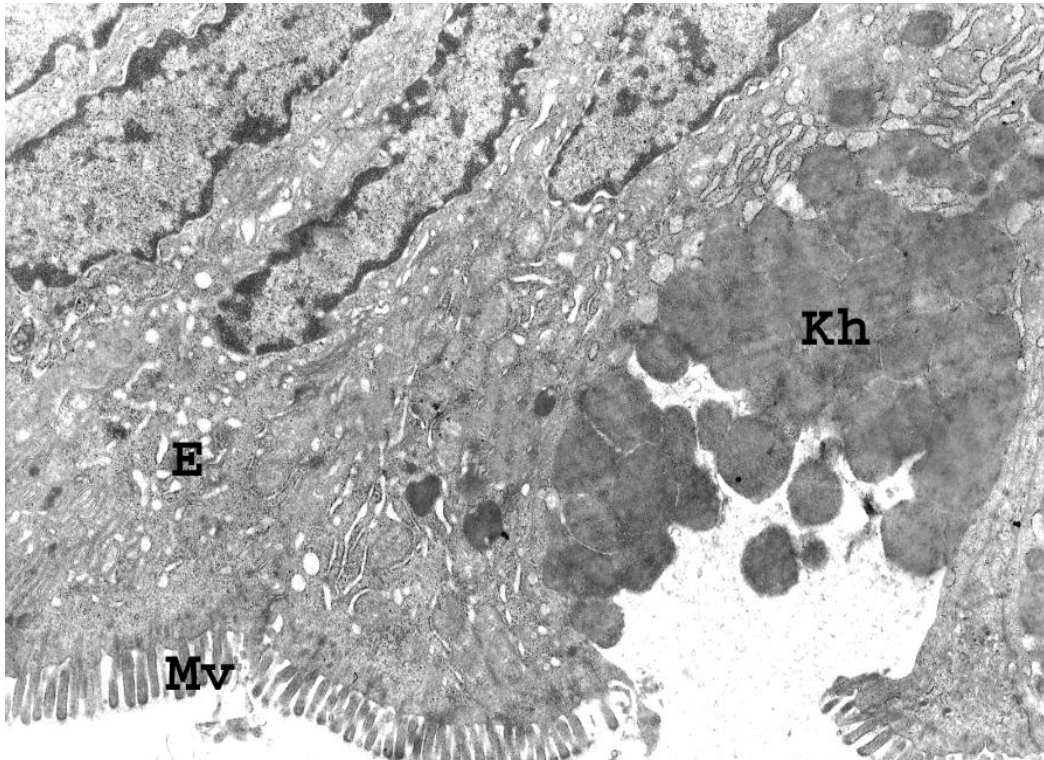
Resim 55. Lamina propriadaki kapiler konjesyon alanları (►) ve genişlemiş lakteal (*) dikkati çekmekte. H+E, X400.



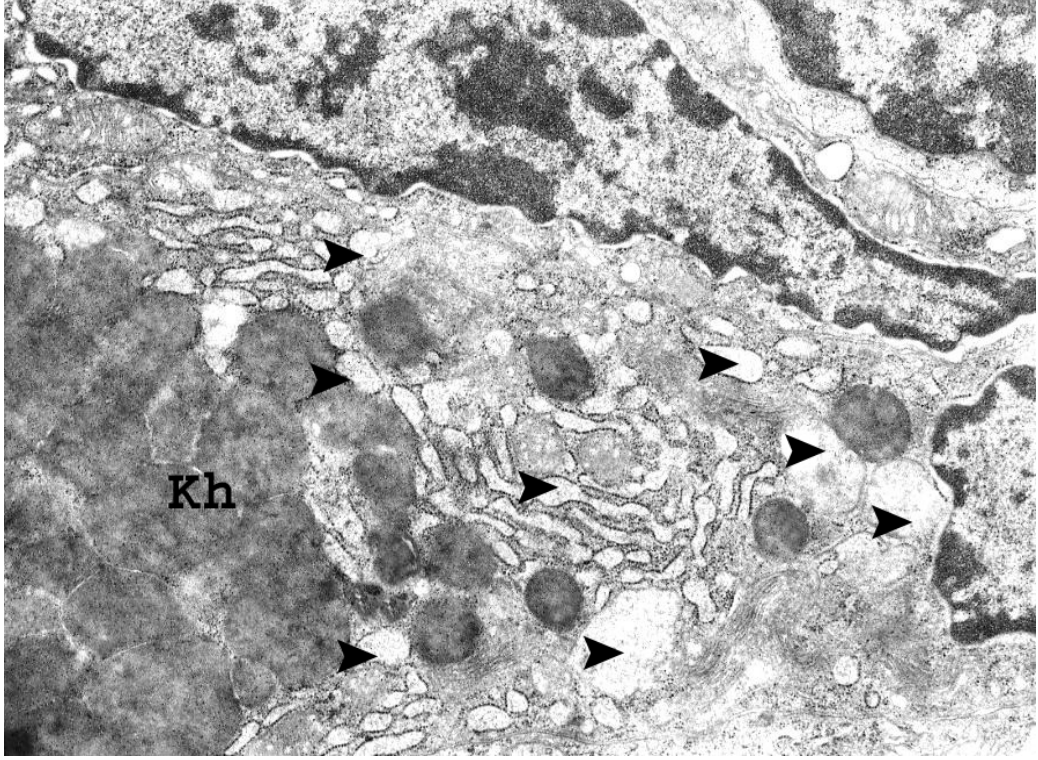
Resim 56. Lieberkühn bezlerinden (Lb) villuslara doğru yerleşen az farklılaşmış hücreler (→) ile birlikte mitoz figürleri (►) dikkati çekmekte. Mallory Triple, X400.



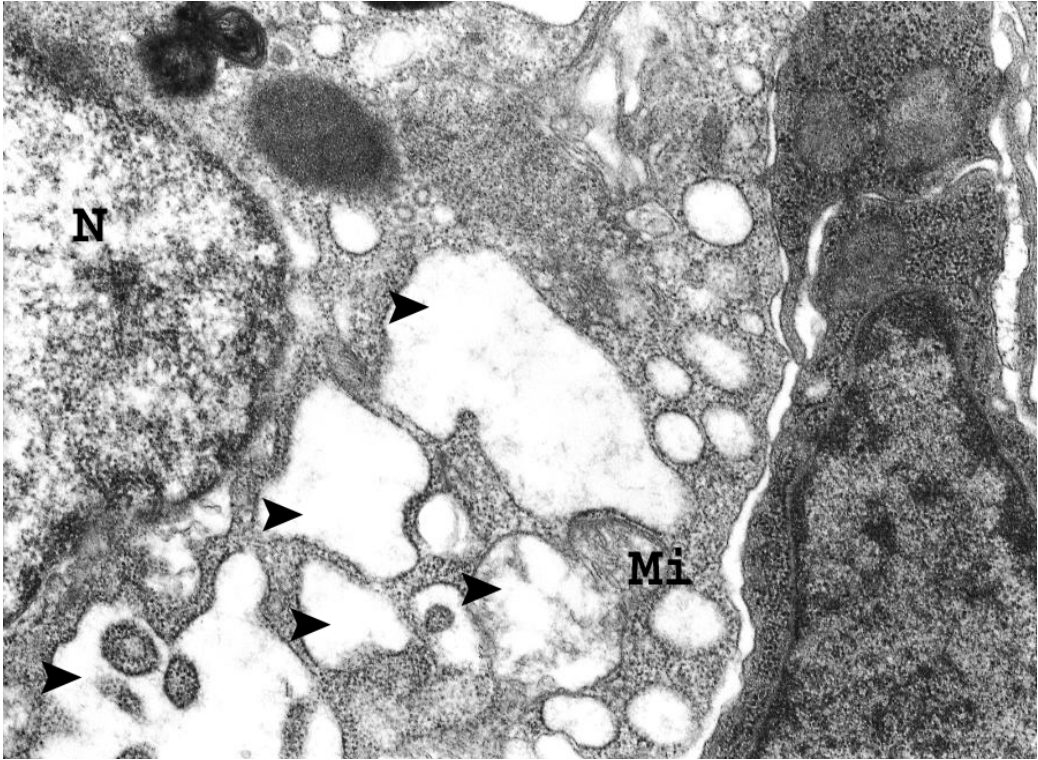
Resim 57. Hücreler arası sahada ayrılma (→) ile birlikte hücrelerin apikalinde yerleşen mikrovilluslarda (Mv) bozulma dikkati çekmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X5000.



Resim 58. Lümene açılmış bir kadehsi hücre (Kh) görülmekte. Enterositlere (E) ait mikrovillusların (Mv) düzensiz yerleşimi ve şekillerindeki bozukluk dikkati çekmekte. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X6000.



Resim 59. Salgı granülleri hafif dağılmış bir kadehsi hücrenin (Kh) GER sisternalarında vezikülarizasyon ve dilatasyon olduğu (►) gözlenmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X10000.



Resim 60. Kaba kromatinli nukleusa (N) sahip kadehsi hücrenin GER sisternalarında ileri derecedeki dilatasyon (►) ve mitokondri kristallarının (Mi) da kısmen bozulma olduğu görülmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X15000.

MORFOMETRİK BULGULAR

Yüz kare oküler mikrometre ile yapılan birim alandaki kadehsi hücre sayım sonuçları Tablo 3'te gösterildi.

Tablo 3. Villus intestinalislerde bulunan kadehsi hücrelerin dağılımı.

Gruplar	Kadehsi Hücre Adet / 625 μm^2 Ortalama\pmStandart Sapma
Kontrol	62,75 \pm 8,83
Tek doz radyasyon	120,45 \pm 12,66*
İki doz radyasyon	154,38 \pm 17,91†
Tek doz rad + curcumin	94,98 \pm 9,87‡
İki doz rad + curcumin	109,20 \pm 11,12*
Tek doz rad + C vitamini	117,78 \pm 12,12*
İki doz rad + C vitamini	135,45 \pm 14,60§

*p<0,01 kontrolle kıyaslandığında.

†p<0,001 kontrolle kıyaslandığında.

‡p<0,05 kontrolle kıyaslandığında.

§ p<0,01 kontrolle kıyaslandığında.

HİSTOPATOLOJİK BULGULAR

Deneysel çalışma sonunda tüm gruplarda gözlenen mokoza hasarların histopatolojik sonuçları Tablo 4'te gösterildi.

Tablo 4. Gruplardaki deneklerin Chiu Sınıflamasına göre dağılımı (74).

Gruplar	Evre 0	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4	Evre 5	Toplam
Kontrol	6						6
Tek doz radyasyon			1	4	1		6
İki doz radyasyon				3	3		6
Tek doz rad + curcumin		6					6
İki doz rad + curcumin		3	3				6
Tek doz rad + C vitamini		3	2	1			6
İki doz rad + C vitamini			2	2	2		6

Kontrol grubundaki deneklerin tümü evre 0 olarak değerlendirildi (Resim 1). Tek doz radyasyon grubundaki deneklerin biri evre 2 (Resim 44), dördü evre 3 (Resim 9) ve biri de evre 4 (Resim 17) olarak değerlendirilirken, iki doz radyasyon grubundaki deneklerin üçü evre 3 ve üçü de evre 4 olarak değerlendirildi. Tek doz radyasyon + curcumin grubundaki deneklerin altısı evre 1 (Resim 51), iki doz radyasyon + curcumin grubunda ise üçü evre 1, üçü de evre 2 olarak değerlendirildi. Tek doz radyasyon + C vitamini grubunda deneklerin üçü evre 1, ikisi evre 2, biri evre 3 iken, iki doz radyasyon + C vitamini grubunda ikisi evre 2, ikisi evre 3, ikisi de evre 4 olarak değerlendirildi.

Deneklerin histopatolojik değerlendirme sonuçları Tablo 5'te gösterildi.

Tablo 5. Tüm gruplara ait histopatolojik değerlendirme sonuçları.

Gruplar	Minimum	Maksimum	Ortalama±Standart Sapma
Kontrol	0,00	0,00	0,00±0,00
Tek doz radyasyon	2,00	4,00	3,00 ±0,43*
İki doz radyasyon	3,00	4,00	3,50 ±0,47†
Tek doz rad + curcumin	1,00	1,00	1,00 ±0,00‡
İki doz rad + curcumin	1,00	2,00	1,50 ±0,24§
Tek doz rad + C vitamini	1,00	3,00	1,62 ±0,39§
İki doz rad + C vitamini	2,00	4,00	3,00 ±0,41*

*p<0,001 kontrolle kıyaslandığında.

†p<0,0001 kontrolle kıyaslandığında.

‡p<0,05 kontrolle kıyaslandığında.

§p<0,01 kontrolle kıyaslandığında.

AĞIRLIK TAKİBİ SONUÇLARI

Tüm deneklerin deneyin başlangıcından sonuna kadar her gün ağırlıkları ölçüldü. Her grup için; başlangıç ve sakrifikasyon günleri ölçüm değerlerinin ortalama ve standart sapmaları Tablo 6'da gösterildi. Yapılan dışkı takibi esnasında, ışınlama sonucu diarenin şiddetine bağlı olarak deneklerin ağırlıklarında azalma olduğu tespit edildi. Yalnızca tek ve iki doz radyasyon + curcumin alan deneklerin ağırlığında anlamlı bir azalma olmadığı gözlemlendi.

Tablo 6. Deneklerin başlangıç ve sakrifikasyon günleri ağırlık ölçüm değerleri.

Gruplar	Başlangıç (g)	Sakrifikasyon Günü (g)
Kontrol	257,86±2,72	260,12±3,14
Tek doz radyasyon	305,50±2,34	284,50±1,22*
İki doz radyasyon	317,16±2,04	296,33±1,86†
Tek doz rad + curcumin	230,16±2,48	228,50±2,42
İki doz rad + curcumin	206,00±1,78	205,16±1,88
Tek doz rad + C vitamini	275,33±5,16	267,33±4,13‡
İki doz rad + C vitamini	301,16±3,18	280,00±1,67§

*p<0,05 tek doz radyasyon grubu ile kıyaslandığında.

†p<0,05 iki doz radyasyon grubu ile kıyaslandığında.

‡p<0,05 tek doz rad + C vitamini grubu ile kıyaslandığında.

§p<0,05 iki doz rad + C vitamini grubu ile kıyaslandığında.

TARTIŞMA

Dokular ve hücreler üzerine iyonize radyasyonun akut ve uzun dönem etkilerinin araştırılması radyoterapide istisnasız büyük öneme sahiptir (27). Gastrointestinal kanal, kemik iliğinden sonra radyasyonun etkilerine karşı en duyarlı organdır (75). Kazara iyonize radyasyona maruz kalmanın yanı sıra, planlı olarak uygulanan radyoterapi de, gastrointestinal kanalın hasara uğramasında büyük öneme sahiptir (76). Antitümoral radyasyon terapisi alan hastaların yaklaşık 1/4'ünde ortaya çıkan kısa dönem yan etkilerin en ciddilerinden birinin radyasyon enteriti olduğu bilinmektedir (75).

İyonize radyasyon gastrointestinal kanalın çeşitli doku bileşenlerinde bazı morfolojik değişikliklere yol açar. Bu morfolojik değişikliklerin sınıflandırılması, radyasyon hasarının derecesinin tespit edilmesine yardımcı olur. Erken morfolojik parametrelerin değerlendirilmesi için; hücrenin şeklindeki, hücreler arası bağlantılarındaki ve hücre yüzey morfolojisindeki değişikliklerin yanı sıra, hücre ölümünün saptanması ve fibrozisin derecesi gibi doku seviyesindeki morfolojik değişiklikler, kriter olarak kullanılmaktadır (76).

Hücre seviyesinde radyasyona yanıt; mutasyon, malin transformasyon, anormal hücre şekillerinin gelişimi ve hücrelerin ölümü gibi geri dönüşümsüz, ya da biyolojik sistemlerin geri dönüşümlü minör yapısal ve fonksiyonel değişiklikleri şeklinde gözlenebilir. Hücrelerin hem geri dönüşümsüz hem de geri dönüşümlü hasarları, hücre iskelet sistemi, lizozomlar, ER, mitokondri, Golgi aygıtı, nükleer membranlar, hücreler arası bağlantılar ve plazma membranını içeren hücre organellerinde yapısal ve fonksiyonel değişiklikler olarak açık bir biçimde gösterilebilir (27).

Araştırmalar, Lieberkühn bezlerinde bulunan kök hücrelerin, ışınlamaya karşı hücre kaybı ve sonrasında hızlı bir çoğalma süreciyle yanıt oluşturduğunu göstermiştir (77).

Işınlamanın ardından, kök hücrelerin reproduktif sterilizasyonu ve G2 fazının bloke olmasıyla mitotik inhibisyon gerçekleşir. Apoptozisten dolayı akut hücre ölümü neticesinde direkt olarak kök hücreler kayba uğrar. Mitotik inhibisyon ışınlamadan yaklaşık olarak 30 dk sonra başlar ve sonraki 8-20 saat süresince gözlenebilir. Apoptotik hücreler ışınlamadan sonra 2-3 saat içinde görülür ve tipik ultrastrüktürel özellikler gösterir (78). Yapılan çalışmalardan elde edilen son verilere göre, iyonize radyasyona bağlı apoptozisin, gastrointestinal kanalda p53 bağımlı bir mekanizma tarafından düzenlendiği açıklanmıştır (79).

Bu çalışmada, ışınlamadan sonraki 4. günde Lieberkühn bezlerinde mitotik figürlere rastlanması, bu süre içinde mitotik inhibisyonun ortadan kalktığına bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Bunun yanı sıra, ışınlama ile birlikte curcumin ve C vitamini alan gruplarda, bezlerdeki mitotik aktivite daha belirgin olarak gözlenmiştir. Özellikle iki doz radyasyon grubu deneklerin, Lieberkühn bezlerinde piknotik nükleuslu şeffaf sitoplazmalı hücrelere rastlanması, uygulanan dozda radyasyonun ışınlamadan sonraki 4. günde dahi kök hücreler üzerindeki apoptotik mekanizmaları indüklediğini düşündürmektedir.

Radyasyona bağlı olarak gastrointestinal kanalın hücre kinetiklerinde meydana gelen değişikliklerle ilgili pek çok veriye ulaşılabilir. Erken kök hücre ölümü neticesinde, farklılaşmış enterositlerin, enteroendokrin ve paneth hücrelerinin oranı yada nisbi sayısının ışınlamadan sonra yalnızca 2-4 günde değiştiği bildirilmiştir. Öte yandan kadehsi hücrelerin bifazik bir reaksiyon gösterdiği, ilk olarak ışınlamadan sonraki 20-24 saat içinde hücre sayısında anlamlı bir artış olduğu, 48-96 saatte bunu bir azalma periyodunun izlediği, ardından bir hafta içinde iyileşme gözlemlendiği açıklanmıştır (27). Hem tek, hem de ikinci ışınlama dozunun ardından 4. günde yapılan incelemelerde, tüm gruplarda kadehsi hücre sayısının kontrole göre anlamlı düzeyde artmış olduğunu tespit ettik. Işınlamadan sonra ilk artış periyodunun ardından 2-4 gün zarfında kadehsi hücre sayısının azalmaya başlayarak bir hafta içinde normale döneceğinin bildirildiği çalışmaların verileri de göz önünde bulundurulduğunda, ışınlanmış gruplarda 4. günde halen kadehsi hücre sayısının kontrole göre fazla olması ilk 20-24 saatte meydana gelen artışın oldukça fazla olabileceğini düşündürdü. Radyasyona bağlı olarak kadehsi hücre sayısında gözlenen anlamlı artış, intestinal mukozanın korunmasında bu hücrelerin önemini çok belirgin olarak ortaya koymaktadır. Hasarlanmış olan mukozanın gerek patojenlerden gerekse toksinler ve makromoleküllerden korunması açısından mukus bariyerinin rolü düşünüldüğünde, kadehsi hücre sayısında meydana gelen bu artışın doğal olduğu kanaatindeyiz.

Bu çalışmada, tek doz 5 Gy radyasyon ve curcumin tedavisi alan deneklerin kadehsi hücre sayıları, yalnızca tek doz 5 Gy radyasyona maruz kalan deneklerinkinden anlamlı düzeyde düşük bulundu. İki doz 5 Gy radyasyon ve curcumin alan deneklerdeki kadehsi hücre sayısı, yalnızca iki doz 5 Gy radyasyona maruz kalan grupla kıyaslandığında yine anlamlı düzeyde bir azalma olduğu görüldü. Kontrole göre kıyaslandığında hala anlamlı düzeyde artış görülmesine rağmen, curcumin tedavili gruplarda radyasyona verilen bifazik yanıt döneminin tedavisiz gruplara göre daha çabuk geçirilerek hücre sayısı bakımından normal değerlere daha çabuk dönülebileceği fikrini doğurdu. Ayrıca morfolojik açıdan değerlendirildiğinde curcumin tedavili gruplarda mukozal hasar oldukça hafif seviyede kaldığı için, bu gruplardaki kadehsi hücre sayısının tedavisiz gruplara göre anlamlı düzeyde düşük olması, curcuminin yapmış olduğu korumaya işaret etmektedir.

Tek doz 5 Gy radyasyon ve C vitamini tedavisi alan denekler ile sadece tek doz 5 Gy radyasyon alan denekler arasında kadehsi hücre sayısı bakımından anlamlı bir fark bulunmazken, iki doz 5 Gy radyasyon ve C vitamini alan deneklerin kadehsi hücre sayısı, sadece iki doz 5 Gy radyasyon alan deneklerinkinden anlamlı seviyede düşük bulundu. Yapılan bu karşılaştırmalar neticesinde özellikle tek doz radyasyon ve C vitamini tedavisi alan denekler ile yalnızca tek doz radyasyon alanlar arasında, kadehsi hücre sayısı bakımından anlamlı fark olmaması, morfolojik incelemelerimizde de gözlemlenen mukozal hasarın boyutuna ve kullanılan dozda C vitamininin radyasyon hasarını önlemede etkisinin istenen düzeyde olmadığına dikkat çekmektedir.

Bağırsak epitelinde, hücre kaybıyla eş zamanlı olarak hücre morfolojisinde de değişiklikler gözlemlendiği ortaya konmuştur. Carr ve ark. iyonize ışınlamadan sonra atrofik mukozanın; büyük ölçüde anormal epitelyal hücreler (omega hücreleri), lümen kısmında raket şeklindeki hücreler (80) ve villusların apikal yüzeyinde enterosit orjinli dev hücreler ile süreklilik gösteren bir tabakayla doldurulduğunu göstermişlerdir (81, 82). Yalnızca tek ve iki doz 5 Gy radyasyon uygulanan deneklerde daha belirgin olarak, ileum tunika mukozasının atrofik bir hal aldığı, özellikle lamina epitelyalisteki hücrelerin morfolojilerinde belirgin bir değişiklik olduğunu, yer yer tedavili gruplarda da şekil bozukluğu gösteren hücreleri gözlemledik.

Işınlamayla Lieberkühn bezlerinin bazal kısmında aydınlık hücre olarak adlandırılan hücrelerin görüldüğü (80), bu aydınlık hücreler ile villus yüzeyinde gözlenen dev hücrelerin doz bağımlı olarak ortaya çıktığı Carr ve ark. (1981) tarafından bildirilmiştir (81). Bunun yanı sıra ışınlamadan 3 gün sonra görülen raket şeklindeki hücrelerin sayılarının doza bağımlılık

göstermediği saptanmıştır (76). Yapılan bu çalışmada, raket şeklindeki hücreleri, lamina epitelyalisten ayrılıp atılmak üzere olan yapılar olarak gözlemledik. Elektron mikroskopik incelemeler esnasında ise tek ve iki doz radyasyon uygulamasına bağlı olarak hem aydınlık hem de dev hücrelere rastladık.

Farklı tipteki iyonizan radyasyona bağlı ortaya çıkan hücre kaybının, Lieberkühn bezlerinin çevresinde azalmaya (80) ve villusların boylarında kısalmaya yol açtığı görülmüş, buna ilaveten villusların yüksekliğindeki azalma, elektron mikroskopik olarak villusun yüzeyinde ve şeklindeki değişimlerle açığa vurulmuştur. Işınlamadan birkaç saat sonra Carr ve ark. (1981) bezlerin ekstrüksiyon bölgesinde epitelin düzensizleştiğini, tepede şişkinleştiğini, villus yüzeyinde bakterilerin sayısında anlamlı bir artış ve mukus üretiminde artma meydana geldiğini saptamışlardır (81). Yine Carr ve ark. farklı nitelikteki ışınlamaların villuslar üzerinde morfolojik değişikliklere yol açtığını gösteren bir seri çalışma yayınlamışlardır (27, 81). Gözlenen değişiklikler; villusların lateral, vertikal, horizontal ve temel çöküşü olarak sınıflandırılmıştır. Ortaya çıkan bu morfolojik değişikliklerin, ışınlamanın dozuna ve özelliklerine bağlı olduğu saptanmıştır. Bildirilen hasarların çoğunun ışınlamadan sonraki 3-7 gün içinde görüldüğüne dikkat çekilmiştir (81). Tek ve iki doz 5 Gy radyasyon alan deneklerin ileum tunica mukozaları ışınlamadan sonraki 4. günde incelendiğinde, özellikle lamina epitelyalin bütünlüğünde meydana gelen bozulmalardan dolayı; villus boylarının kısaldığını, uç kısımlarının küntleştiğini, aralarında birleşmeler olduğunu, bazı villusların parçalandığını gözlemledik. Işınlama ile birlikte curcumin uygulanan deneklerde daha belirgin olmakla birlikte, C vitamini alan deneklerde de villus şekillerinin genel anlamda korunmuş olduğunu fark ettik.

Barsağın tüm bu morfolojik değişikliklerinin radyasyon için spesifik olmadığı düşünülmekte olup, benzer değişikliklerin diğer bazı hastalık ya da tedaviler için de tanımlanmış olduğu üzerinde durulmaktadır (82). Carr ve arkadaşları tarafından özellikle villusun şeklindeki değişikliklerin, radyasyonun nöro-muskuler etkileri ile bağdaştırılabileceği ileri sürülmüştür (83).

Mikrovilluslardaki ve sayılarındaki değişiklikler, pürüzlü membran, yalancı ayakların kasılması gibi hücre yüzeylerinin mikromorfolojisindeki değişikliklerin geniş dağılımı; ışınlamayı takiben çeşitli hücre tiplerinde gözlenmiştir (27). Radyasyona bağlı mikromorfolojik değişikliklerin oranı ve geridönüşümü hücrenin tipine ve ışınlamanın şartlarına bağlıdır (84).

X ışınlamayı takiben 10-30 dk içinde, epitelyal hücrelerin mikrovilluslarının yanı sıra, membran sınırında da değişiklik ve şişme meydana geldiği gösterilmiştir. Daha sonra mikrovillusların uzunluğunda, çapında ve sıklığında değişiklikler gözlemlendiği, mikrovillusların kademeli olarak kısaldığı ve genişlediği bildirilmiştir. 4. günde hem ileum hem de jejunumun içerdiği hücrelerin, anormal, dağınık ve yassılaştığı olduğu, mikrovillusların ise dallanmış olduğu görülmüştür (27). Hem tek, hemde iki doz ışınlamadan sonraki 4. günde yapılan elektron mikroskopik incelemede, hücreler arası sahanın açıldığı, mikrovillusların şekillerinde ve periodisitesinde bozulmalar olduğunu gözlemledik. Özellikle ışınlama ile birlikte curcumin alan deneklerde epitelyal hücrelerin mikrovilluslarının genel anlamda korunduğunu, hücreler arası sahadaki açılmaların da oldukça indirgenmiş olduğunu saptadık. C vitamini alan gruplarda ise, mikrovilluslarda ve hücreler arası bağlantılarda kısmen bozukluklara rastladık.

Radyasyona bağlı gelişen geri dönüşümlü hücre hasara, hem epitelyal hem de stromal hücrelerin ve bileşenlerinin ince yapısında görülen bir seri morfolojik değişiklikler eşlik eder. Nükleusta şişme, sınırında düzensizlik, kromatin ve nükleolus yapısında bozulma, nükleus membranında değişiklikler ve mikronükleuslar ortaya çıkar. Diğer sitoplazmik organellerden mitokondri, ER, Golgi aygıtı ve lizozomlarda da yapısal bozukluklar meydana gelir (85-87). Somosy (2000) tarafından bahsedilen ultrasüruktürel değişikliklerin, bağırsak hücrelerine spesifik olmadığı bildirilmiştir (27).

Düşük doz radyasyonun çeşitli hücrelerde (88, 89), hızlı ve geri dönüşümlü şişmeye neden olduğu bildirilmiştir. Genişlemiş nükleuslu hücrelerin ışınlamadan sonra 30-60 dk içinde ortaya çıktığı, günler veya haftalar boyu bu durumun devam ettiği izlenmiştir. Etkili doz oranının 0,25-4 Gy olduğu saptanmıştır (89). Bazı araştırmacılar, düşük doz ışınlamaya cevap olarak hücrelerde nükleer lamina altında marginal kromatin yoğunlaşması ve nükleer matrix içinde geniş yoğun kromatin kümelerinin oluştuğunu tespit etmişlerdir (27).

Düşük doz ışınlamanın, daha az yoğun, hale ile çevrelenmiş yüzük benzeri kromatin agregatları olarak görülen nükleer cisimcik olarak adlandırılan oluşumlara neden olduğu saptanmıştır. Bu oluşumların pre-mRNA ve pre-rRNA'nın transport veya sürecindeki, artışla birlikte ortaya çıktığı sanılmaktadır (90). Morales ve arkadaşları (1996) tarafından; nükleolus sayısı ve nükleolar organizatör bölgelerin ortalama hacminin ışınlamadan sonra belirgin şekilde artabileceği bildirilmiştir (91). Bu olay nükleusun transkripsiyonel aktivitesinin radyasyona bağlı artışına bağlı olabilir. Araştırmacılar tarafından, ışınlamanın, nükleolusda yoğun madde lekelerinin oluşumuna neden olabileceği ve ışınlanmış hücrelerde nükleolar ayrılmanın

meydana gelebileceği bildirilmiştir (27). Deneklere uygulanan tek ve iki doz 5 Gy'lik γ radyasyonun, hem enterosit hem de kadehsi hücre nükleuslarında kromatin materyalin nükleer lamina altında yoğunlaşmasına, düzensiz ve kaba bir kromatin dağılımına yol açtığını gözlemledik. Yer yer benzer değişikliklere tedavili gruplarda da rastladık.

İyonize radyasyon, DNA baz bozuklukları, DNA-DNA çapraz bağları ve tek ve çift zincir kırılmaları gibi DNA lezyonlarını meydana getirir. Kromatid zincirler ve kromozomlar içinde boşluk ve kırılmalar en sık gözlenen radyasyona bağlı kromozomal lezyonlardır. Bazı araştırmacıların kombine edilmiş ışık ve elektron mikroskopik çalışmaları; radyasyona bağlı boşluk, kopma oluşumunun, kromatinin dekondeksasyonundan ziyade DNA-protein kompleksinin fiziksel kaybının sonucu olduğunu göstermiştir (92). Translokasyonlar ve delesyonlar gibi kromozom anormallikleri tüm vücut ışınlamasından sonra köpek kromozomlarında yüksek rezolüsyonlu taramalı elektron mikroskobu ile tespit edilmiştir. UV ışınlama, özellikle nükleik asitler tarafından absorblanan UV-B, nükleik asitlerin moleküler yapısında kırılma ve karışıklığa neden olabilmektedir (93).

Kromozom bozukluklarının ölçülmesi iyonize radyasyonun genetik riskinin anlaşılması için yaygın şekilde kullanılan bir yöntemdir ve radyasyon maruziyetinin kullanışlı bir biyolojik indikatörüdür (27).

Mitokondrilerin, iyonize radyasyonun direkt intrasellüler hedefi olabileceği düşünülmektedir. Reaktif oksijen türlerinin, fizyolojik koşullarda mitokondrilerde yüksek miktarlarda sürekli olarak üretildiği, bununla birlikte konsantrasyonlarının ışınlamayı takiben büyük ölçüde arttığı ve lipid peroksidasyon ürünlerinin biriktiği bildirilmiştir. Bu yüzden, mitokondrilerin yapı ve fonksiyonundaki bozulmalar genellikle ışınlanmış hücrelerde gözlenir. Uzamış ve dallanmış mitokondriler, büyüklüklerinde geri dönüşümlü artış ve dev şekillerin gelişimi ışınlanmış hücrelerde en sık gözlenen değişiklikler olarak bildirilmektedir. Mitokondrilerin dış ve iç membranlarında bozulma ve vaküolüzyon çok farklı hücre tiplerinde ışınlama ile birlikte sıklıkla gözlenmiştir (94). Uygulanan tek ve iki doz 5 Gy radyasyon neticesinde, özellikle tedavisiz gruplarda, mitokondri şekillerinde bozukluklara ve kristalarında silinmelere rastladık. Radyasyon hasarını önlemek amacıyla verilen curcuminin mitokondri şekillerini ve krista yapılarını genel anlamda korumuş olduğunu fark ettik. C vitamini uygulanan gruplarda da mitokondri şekillerinin kısmen korunduğunu gözledik.

Yapılan çalışmalarda genel olarak, ışınlamanın ER üzerine etkisi; sisternalarının fragmantasyonu, vesikülarizasyonu ve dilatasyonu olarak değerlendirilmiştir (27). Ayrıca, GER membranlarının iyonize radyasyona bağlı degranülasyonu da çeşitli hücre tiplerinde iyi bilinen bir olay haline gelmiştir. Membrana bağlı ribozomlardan serbest şekle dönüşüm,

Erlich-asit hücre serisinin S ve G₁ fazında 5 Gy ışınlamadan 5 saat sonra polizom sayısındaki artışla birlikte gözlenmiştir (95). Chedid ve Nair (1975), 0,5 Gy prenatal X ışınlamadan sonra rat hepatositlerinde büyük polizomal agregatların geliştiğini tespit etmişlerdir (96). 5 Gy tek doz ve 4 gün ara ile uygulanan iki doz 5 Gy'lik γ radyasyonun özellikle tedavisiz gruplarda GER sisternalarında belirgin düzeyde dilatasyona ve degranülasyona yol açtığını gözlemledik. Işınlama öncesi ve sonrasında curcumin uygulanan gruplarda, düzenli yerleşime sahip GER sisternalarının genel anlamda korunduğunu bazı bölgelerde yer yer çok hafif derecede dilate olduklarını tespit ettik. C vitamini tedavisi uygulanan gruplarda GER sisternalarının yalnızca ışınlanan gruplardakine benzer bir görüntü sergilediklerini fark ettik.

Golgi aygıtı, hücrenin salgılayıcı aygıtı olarak GERda sentez edilen proteinin saklanması, paketlenmesi ve modifikasyonundan sorumlu bir spesifik intrasellüler membran sistemidir. Golgi sisternalarının yeniden düzenlenmesi ve fragmentasyonu ışınlamadan sonra çeşitli hücre tiplerinde genellikle gözlenir (96-98). Bu olay, Golgi aygıtının fraksiyonel hacim artışıyla ve fonksiyonunun karışıklığıyla birlikte görülür. Pek çok çalışmada, ışınlamadan sonra, Golgi aygıtının küçük vesiküller şeklinde parçalanmış olduğu ve bunların sitoplazma içerisine dağılmış olduğu gözlenmiştir. Yapılan çalışmalar ışığında, Golgi aygıtındaki değişikliklerin, hücre iskelet sisteminin radyasyona bağlı bozulmasıyla bağlantılı olabileceği düşünülmektedir (27). Radyasyona maruz kalan gerek tedavili gerekse tedavisiz gruplarda yapılan elektron mikroskobik incelemelerde, belirgin bir Golgi aygıtı yapısına rastlanmaması, Golgi sisternalarının ışınlamanın etkisiyle parçalanıp küçük veziküller halinde sitoplazmaya dağılmış olma ihtimalini aklımıza getirmektedir.

İyonize radyasyonu takiben, hücrelerde lizozomların sayı ve hacminin arttığı, lizozomal enzim aktivitesinde de artış meydana geldiği tespit edilmiştir (99). Aynı zamanda lizozomal enzimlerin sitozol ve ekstrasellüler sıvıya da geçtiği bildirilmiştir. Bu bilgiler, hücre ölümünün, ışınlamadan sonra lizozomal sindirici enzimlerin düzensiz salınımından dolayı gerçekleştiğini destekleyen radyasyon sonrası hücre ölümü hipotezi "enzim salınımı"nın temeli olarak yorumlanmıştır. Bu olayın radyasyona bağlı nekroz durumunda gerçekleşebileceği bildirilmiştir (27). İyonize radyasyona bağlı enterositlerin lizozom benzeri vakuollerinin sitoplazmik volüm fraksiyonu ve sayısındaki artışla birlikte lizozomal hidrolazların aktivitelerinin artışı hakkında da bir takım bulgular yayınlanmıştır (76, 100). Işınlamaya maruz kalan gruplarımızda, özellikle enterositlerde mikrocisimlere rastlanması, iyonize radyasyonun lizozom benzeri vakuollerin sayısında artışa neden olduğunu açıklayan çalışmaların verileriyle uyumluydu.

Histokimyasal çalışmalar radyasyona bağılı ince bağırsaktaki mukosubstansların hem bileşiminde hem de miktarında değişiklikler meydana geldiğini ortaya çıkarmıştır. Ratlarda 10 Gy X ışınlamasından sonra 1. günde kadehsi hücrelerde sülfatlı müsünlerin miktarının azaldığı, iyileşme sırasında yeni sentez edilen müsünlerin genellikle sülfatlanmamış olduğu bildirilmiştir (76). Elektron mikroskopik incelemelerimizde kadehsi hücrelerde farklı yoğunlukta salgı granüllerine rastlamamız, radyasyona bağılı olarak müsün bileşiminde değişiklikler meydana gelmiş olabileceğini düşündürmüştür.

İyonize radyasyona karşı karakteristik hücreyel yanıt, hücreler arası bağılantıların fonksiyon ve yapısının değişmesi ile ortaya çıkar (84, 86, 101, 102). İyonize ışınlamadan sonra epitelyal hücreler sıklıkla birbirleri ile bağılantılarını ve sahip oldukları pek çok lateral ve bazal çıkıntılarını kaybederler. Uzantıları ile bazal laminaya penetre olurlar ve altındaki mezenkimal hücrelerle ilişki kurarlar. Epitelyal hücreler ve mikroçevreleri arasındaki etkileşimde meydana gelen değişim, normal homeostazisin korunmasında kritik öneme sahiptir. Bu dengenin bozulmasında tipik olmayan hücre proliferasyonunun, adezyonunun, fonksiyon ve göçünün etkili olduğu Barcellos-Hoff (1998) tarafından ortaya konmuştur (103). Epitel hücrelerini birbirlerine ve bazal membrana bağılayan bağılantı komplekslerinin yapısının, radyasyona bağılı olarak değişikliğe uğramasında, çok kompleks sinyalleşme sistemlerinin rol oynadığı bilinmektedir (76, 104, 105).

İn vitro iyonize radyasyona akut faz yanıtının karakteristik özelliği, dezmozomları, adharens bağılantıları ve sıkı bağılantıları içeren hücreler arası bağılantıların hasarlanmasıdır. X ya da γ ışınlamayı takiben hücreler arası sahanın önemli ölçüde geri dönüşümlü olarak genişlemesi, bağırsaklarda, vasküler epitelde bağılantı bölgelerinin değişimi neticesinde ortaya çıkar (106). Genel olarak ışınlanan epitelyal tabaka, bağılantı komplekslerinin bozulmasından dolayı sızıntılı bir hal alır. Vasküler geçirgenliğin artması neticesinde bağırsakta bakterilere, bakteriyel toksinlere ve proteolitik enzimlere karşı bariyer fonksiyonun kaybolduğu pek çok çalışmada gözlenmiştir (86). İyonize ışınlanmayı takiben, ince bağırsağın epitelyal tabakasında sıkı bağılantıların değişimi dondurup kırma yöntemi ile araştırılmıştır. Porvaznik tarafından 1979'da yapılan çalışmalarda; ileum epitelinde 3 ve 5 Gy X ışınlamadan sonraki 4. günde epitelyal hücreler arasındaki sıkı bağılantı bölgelerinin orta kısmında belirgin bir değişiklik olduğu gözlenmiştir. Bazı kadehsi hücrelerin sıkı bağılantıları da bölgesel olarak bozulmuştur (107). X ışınlamaya bağılı olarak hücreler arası bağılantıların kırılma indeksindeki artış, fare jejunal hücrelerinin sıkı bağılantılarının yapısının değişmiş olduğunu göstermektedir (27).

Özellikle 4 gün ara ile iki doz 5 Gy γ radyasyon uygulanan tedavisiz grup ile aynı doz radyasyona maruz kalıp C vitamini tedavisi alan deneklerin elektron mikroskopik görüntülerinde, epitelyal hücreler arasında bağlantı kompleksi yapılarının bozulmasından dolayı hücreler arası sahada genişlemeler olduğunu tespit ettik. Tek doz 5 Gy radyasyon ve curcumin uygulanan deneklerin elektron mikroskopik verilerinde bağlantı kompleksi yapılarının korunduğunu ve hücreler arası sahada herhangi bir açılma olmadığını gözlemledik. İki doz 5 Gy radyasyon ve curcumin tedavisi alan deneklerle tek doz 5 Gy radyasyon C vitamini tedavisi alan deneklerin elektron mikroskopik incelemelerinde ise hücreler arası sahada çok hafif ayrılmalara rastladık.

Son zamanlarda radyasyona bağlı tight-gap ve adherens bağlantılar gibi çeşitli hücresel kontaktların yapısal ve fonksiyonel değişimi üzerine bazı yeni deneysel veriler elde edilebilmiştir. Bu veriler sinyalleşme (84, 108-110) ve hücre haberleşmesi (27, 111, 112), paraselüler permeabilite (86) hücre-substrat ilişkisi ve hücre-hücre stabilizasyonunu içeren farklı hücresel yanıtlarda önemlidir (105).

Rejenerasyon süreçlerinde ve dokunun radyasyona yanıtının yaygınlaşmasında, sinyalleşme mekanizmalarına aracılık eden farklı inflamatuvar sitokinler, lokal hormonlar ve benzerleri önemli role sahiptir. Bu moleküller; epitelyal hücrelerin birbirleri ile olan bağlantılarını değiştirerek ve immün hücrelerin hücre içi sinyal akışına etki ederek fonksiyonlarını değiştirip, farklı şekillerde hücre ölümlerinin gerçekleşmesinde anahtar bir rol oynar. Bu yüzden bu moleküller radyobiyojik araştırmaların yönünü belirleyen temel unsurlardan biri olarak kabul edilir (76).

5 Gy abdominal γ radyasyona maruz kalan ratlarda hafif düzeyde radyasyon enteriti geliştiği, bu tablonun insandaki abdominal ışınlamanın akut fazına çok benzerlik gösterdiği Raguso ve ark. (2002) tarafından bildirilmiştir (75). Radyasyonun bağırsak mukozasının fonksiyonunun kolinerjik düzenlenmesini geçici olarak uyarması neticesinde kadehsi hücrelerin salgılama fonksiyonunu hızlandırarak diareye yol açtığı bilinmektedir. Özellikle Lieberkühn bezlerindeki kadehsi hücrelerde, kolinerjik stimülasyonla hücre içi Ca^{++} iyon konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak sekresyon hızının arttığı bildirilmiştir (113). Bu çalışmada, aynı dozda abdominal olarak yapılan ışınlama neticesinde deneklerde hafif düzeyde radyasyon enteriti geliştiğini gözlemledik. Işınlamanın ardından yapılan dışkı takibi, radyasyona bağlı olarak deneklerde 1,5-2 gün süren hafif bir diarenin meydana geldiğini göstermiştir. Deneklerin günlük ağırlık takipleri gözden geçirildiğinde, su ve elektrolit kaybına da bağlı olarak ağırlıklarda azalma gözlemlendi.

Akut ve geç radyasyon yanıtları arasında, ışınlanan deri, damar duvarı, akciğer, böbrek ve beynin radyasyona bağlı inflamatuvar reaksiyonları geniş ölçüde araştırılmıştır. Sonuç olarak inflamatuvar reaksiyonların; yuvarlanma, aktivasyon, adhesyon ve migrasyon olarak tertiplenen ardışık lökosit-endotelial hücre etkileşimi süreçleri tarafından düzenlendiği tespit edilmiştir. Elde edilen veriler, radyasyonun bu süreçlerin çeşitli elementlerini değiştirebileceğini göstermiştir (105).

Lökositlerin endotel tabakası boyunca hareketi, yuvarlanma olarak bilinir. Çeşitli dokularda ışınlamayı takiben lökositlerin yuvarlanmasında artış olduğu gözlenmiştir (114, 115). Işınlamanın ardından yuvarlanmanın belirteci olan P ve E seçkin moleküllerinin ekspresyonu bu dokularda gösterilebilir. Hallahan ve Virudachalam'ın immünohistokimyasal verileri X ışınlamaya bağlı olarak sitoplazmik rezervuardan hücreler arası sahaya P-selektin'in translokasyonunu göstermiştir. Aktive olan lökositler, yüzeylerinde hücreler arası adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ve integrinleri içeren moleküllerin ekspresyonu vasıtasıyla endotelyuma sıkıca yapışabilirler. ICAM-1 lökositlerin çevre dokular içine göçünde inflamatuvar süreçlerin son basamağında temel bir role sahiptir. Radyasyona bağlı olarak ICAM-1'i de içeren hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonu iyi bilinen bir olaydır (116, 117). Bu veriler, çeşitli dokularda radyasyon aracılı akut inflamasyonun gelişiminde bu moleküllerin ekspresyonunun önemli bir rol oynadığını göstermiştir. Muhtemel mekanizma; nükleer faktör kapa sinyalleşme sisteminin aktivasyonu tarafından adezyon moleküllerinin up-regülasyonudur. Bahsedilen adezyon moleküllerinin ekspresyonunda radyasyona bağlı olarak ortaya çıkan sitokinlerin rolleri (interlökin1, interlökin6, TNF- α , interferon- γ gibi) henüz tam olarak anlaşılammıştır (105). Radyasyona bağlı olarak lamina propriada gözlediğimiz infiltrasyon odaklarının ortaya çıkışının temelinde bu mekanizmaların yattığını düşünmekteyiz. Morfolojik gözlemlerimizde; iyi bir antioksidan olmasının yanı sıra antiinflamatuvar özellikleri dolayısı ile, curcuminin radyasyona bağlı gelişen inflamatuvar yanıtı hafiflettiğini gözlemledik.

Pek çok araştırmacı tarafından farmakolojik etkileri araştırılmış olan curcuminin özellikle antioksidan ve antiinflamatuvar etkilerinden dolayı, uygulamış olduğumuz ışınlama dozlarında koruyucu etkileri, hem ışık hem de elektron mikroskopik seviyede yapmış olduğumuz incelemelerle gösterilmiştir.

C vitamininin yüksek dozda ortaya çıkan prooksidan etkilerinden kaçınmak için uyguladığımız 100 mg/kg'lık en düşük etkin dozun, yeterli koruma sağlayamamasından dolayı, doz kontrollü yeni çalışmalarda, C vitamininin radyasyon hasarına karşı koruyucu etkilerinin daha üst seviyede olabileceği kanısındayız.

SONUÇ

Radyoterapi esnasında normal hücreleri radyasyon hasarından koruyabilmeyi düşünerek planladığımız çalışmamızda, ışınlama öncesinde başlayıp ışınlama sonrasında sakrifikasyona kadar devam ettiğimiz curcumin ve C vitamini uygulamalarının deneklerimizi radyasyonun olumsuz etkilerinden genel anlamda koruduğunu gözledik. Radyasyona bağlı olarak kadehsi hücre sayısında kontrole göre anlamlı düzeydeki artma tüm deney gruplarında ortaya çıkmış olup, kadehsi hücre sayısında radyasyona verilen bifazik yanıt göz önünde bulundurulduğunda, özellikle curcumin tedavili gruplarımızın daha çabuk normale dönme sürecine girmiş olduğu tespit edilmiştir. Kadehsi hücrelerin mukus bariyerinin sürekliliğinin korunmasındaki rolleri göz önüne alındığında, radyasyon hasarından korunmada önemli bir yere sahip oldukları bu çalışma ile gösterilmeye çalışılmıştır.

Tüm bu veriler göz önünde bulundurulduğunda; radyasyon hasarından korunmada eşit dozda uygulanan antioksidanlardan curcuminin C vitaminine üstünlük sağladığı ışık ve elektron mikroskopik gözlemlerimiz ile ortaya konmuştur.

Sonuç olarak; curcuminin radyoterapi esnasında, intestinal mukozayı koruyarak, tedavi kazancını artırabileceği ve kliniğe fayda sağlayabileceği kanısına varılmıştır.

ÖZET

GAMMA RADYASYONUN İLEUM KADEHSİ HÜCRELERİNDE OLUŞTURDUĞU HASARLARA KARŞI CURCUMİN VE C VİTAMİNİNİN KORUYUCU ETKİLERİNİN IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOBİK DÜZEYLERDE İNCELENMESİ

Meryem AKPOLAT

Gastrointestinal kanal, radyasyonun etkilerine karşı en duyarlı organlardan biridir. İntestinal mukoza üzerindeki iyonize radyasyonun sitotoksik etkisinin, oksidatif stres ile ilgili olduğu bilinmektedir. Antioksidan maddelerin, radyasyon hasarına karşı yararlı etkiye sahip olduğu ileri sürülmektedir.

Sıçanlar üzerinde yapılan bu çalışmada; farklı dozlarda gamma radyasyona bağlı, ileum kadehsi hücrelerinde meydana gelen hasarlara karşı, curcumin ve C vitamininin koruyucu etkilerinin olup olmadığının ışık ve elektron mikroskopik düzeylerde incelenmesi amaçlandı. Hayvanlar biri kontrol 6'sı deney grubu olmak üzere toplam 7 gruba ayrıldı. Radyasyon hasarı oluşturmak amacıyla, kontrol grubu dışındaki deneklerin batin bölgelerine 5 Gy'lik gamma ışını verildi. Işınlamadan sonraki 4. günde, III., V. ve VII. grup deneklere ikinci kez aynı dozda ışın uygulandı.

Radyasyon hasarını önleyebilmek amacı ile IV. ve V. grup deneklere, ışınlamadan 10 gün önce başlayıp sakrifikasyon zamanlarına kadar 100 mg/kg curcumin dimetilsülfoksit içinde çözülerek intragastrik yoldan; VI. ve VII. grup deneklere de, aynı sürelerde intraperitoneal yoldan 100 mg/kg C vitamini verildi. I., II., IV. ve VI. grup deneklerden,

birinci ışınlamadan sonra 4. günde, III., V. ve VII. grup deneklerden de ikinci ışınlamadan sonraki 4. günde, anestezi altında alınan ileum biyopsi materyalleri ışık ve elektron mikroskopik gözlemlerimiz için işlemlendirildi.

Çalışmamızda, hem tek hem de iki doz 5 Gy gamma radyasyonun ileum mukozasında hasara sebep olduğu, kadehsi hücrelerin şekil ve yerleşimlerinde bozukluklara yol açtığı gözlemlendi. Özellikle radyasyona bağlı olarak sayıları artan kadehsi hücrelerin mukozadaki düzensiz dağılımları dikkat çekiciydi. Elektron mikroskopik düzeyde, hücreler arası sahada genişlemeler, mikrovilluslarda bozulmalar, mitokondriyal hasar ve özellikle granüllü endoplazmik retikulum sisternalarında görülen dilatasyon en belirgin değişiklikler olarak saptandı.

Radyasyona bağlı kadehsi hücrelerde meydana gelen hasarların önlenmesinde, curcuminin etkili olduğu, C vitamininin ise uyguladığımız dozda yeterli koruma sağlamadığı tespit edildi. Sonuç olarak; curcuminin radyoterapi esnasında, intestinal mukozayı koruyarak, tedavi kazancını artırabileceği ve kliniğe fayda sağlayabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: gamma-radyasyon, ileum, kadehsi hücre, curcumin, C vitamini, sıçan.

SUMMARY

EXAMINING THE PROTECTIVE EFFECTS OF CURCUMIN AND VITAMIN C AGAINST GAMMA RADIATION-INDUCED ILEUM GOBLET CELL DAMAGE AT LIGHT AND ELECTRON MICROSCOPIC LEVELS

Meryem AKPOLAT

The gastrointestinal tract is a very sensitive organ and is important in protecting against the effects of radiation. It is known that the cytotoxic effect of ionized radiation on the intestinal mucosa is related to oxidative stress. Antioxidant substances are claimed to have beneficial effects against radiation damage.

In our study, the protective effects of curcumin and vitamin C, whose antioxidant effects are well known, were investigated in rats when different doses of gamma radiation were applied. Light and electron microscopy were employed to examine damage in the goblet cells of the ileum. For this study, 42 Wistar albino male rats, taken from Trakya University Animal Care and Research unit, were divided into seven groups (one control group and six experimental groups). To create radiation damage, 5 Gy of gamma rays were applied to the abdominal area of all rats, except those in the control group. On the fourth day following the application of radiation, the rats in the third, fifth, and seventh groups were given a second application of radiation at the same dosage as the first application.

To prevent radiation damage, rats in the fourth and fifth groups were given 100 mg/kg of curcumin dissolved in dimethylsulfoxide intragastrically beginning 10 days prior to the application of radiation until they were sacrificed. Those in the sixth and seventh groups were given 100 mg/kg of vitamin C intraperitoneally during the same period. Ileum biopsy samples were taken under anesthesia from the rats in the first, second, fourth, and sixth groups on the fourth day following the first radiation application and from the rats in the third, fifth, and seventh groups on the fourth day following the second radiation application. The samples were processed so that they could be observed using light and electron microscopy.

In this study, it was observed that 5 Gy of gamma radiation applied either once or twice caused damage in the ileum mucosa. Additionally, it resulted in disorganized shape and settlement of the goblet cells. In particular, it caused especially disordered dispersal of the goblet cells, which increased in number due to radiation, in the mucosa. Using electron microscopy, extensions in the area between the cells, disorders in the microvilluses, mitochondrial damage and dilatation were observed. This was most distinctive in the rough endoplasmic reticulum cisternae.

The preventive effects of curcumin applied prior to radiation doses were seen using both light and electron microscopy. The minimal radioprotective dose that was applied was not found to provide efficient protection from the prooxidant effects of vitamin C. It was concluded that curcumin can strengthen the treatment by protecting the intestinal mucosa during radiotherapy and can be beneficial for clinical usage.

Keywords: gamma-radiation, ileum, goblet cell, curcumin, vitamin C, rat.

KAYNAKLAR

- 1- Özalpan A. Temel Radyobioloji. 1. Basım. İstanbul: Haliç Üniversitesi Yayınları, 2001: 1-218.
- 2- Uzal C, Çaloğlu M. Kanser Etyolojisinde İyonizan Radyasyonun Yeri. Trakya Üniv Tıp Fak Derg 2002; 19: 177-182.
- 3- Steel GG. The Significance of Radiobiology for Radiotherapy. In; Steel GG (Ed.). Basic Clinical Radiobiology. New York: Co-published in the USA by Oxford University Pres; 1997: p.1-7.
- 4- Mostofi FK, Davis CJ. Pathology of tumors of testis. In: Principles and Management of Urologic Canser. 1983: 2: 381-387.
- 5- Rubin P. Radiation and drug toxicity. In: Principles and Practice Radiation Oncology. 1997: 3: 155-205.
- 6- Saclariides TJ. Radiation injuries of the gastrointestinal tract. Surgical Clinics of North America 1997: 77: 261-168.
- 7- Nussbaum ML, Campana TJ, Weese LJ. Radiation-induced intestinal injury. Clinics in Plastic Surgery 1993: 20: 573-580.
- 8- Trier JS, Browning TH. Morphologic response of the mucosa of the human small intestine to x-ray exposure. J Clin Invest 1966; 45: 95-97.
- 9- Guzman-Stein G, Bonsack M, Lieberty J. Abdominal radiation causes bacterial translocation. J Surrigical Res 1989; 46: 104-107.
- 10- Robbins S. Kumar V. (Çeviri Ed.: U Çevikbaş). Temel Patoloji: Çevresel Hastalıklar; Fiziksel ajanlarla zedelenme. 6. Basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti.; 2000: 241-243.

- 11- Mutlu-Turkoglu U, Erbil Y, Oztezcan S. The protective of selenium and los vitamine E treatments on radiation injury. *Cancer* 1990; 66: 62-68.
- 12- Dokmeci D, Akpolat M, Aydogdu N, Uzal C, Turan NF. The Modifying Effect of Ibuprofen on Total Body Irradiation-induced Elevation of Oxidative Reactions in Male Hamsters. *Acta Med Biol* 2004; 52, 2, 67-72.
- 13- Neoman E, Zahran AM, Kamal AM. Vitamin E and selenium administration as a modulator of antioxidant defence system: Biochem Assesment and Modification. *Biol Trace Elem Res* 2002; 86: 55-64.
- 14- Algüneş Ç. Radyasyon Biyofiziği.1. Basım. Edirne: Trakya Üniversitesi Yayınları No:51, 2002: 59-62.
- 15- Tubiana M, Dutreix J. Introduction to Radiobiology. Taylor&Francis, 1990; 22-23.
- 16- Busch DB. Radiation and Chemotherapy Injury: Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment. *Crit Rev Oncol Hematol* 1993; 15: 49-89.
- 17- Macmillan TJ., Steel GG. DNA damage and cell killing. In; Steel GG (Ed.). Basic Clinical Radiobiology. New York: Co-published in the USA by Oxford University Pres; 1997: 58-69.
- 18- Hall JE. Radiobiology for the Radiologist. 5th ed. J.B. Lippincott Company, 2000: 12-45.
- 19- Greenstock CL. Radiation and Aging: Free Rradical Damage, Biological Response and Possible Antioxidant Intervention. *Med Hypotheses* 1993; 41:473-82.
- 20- Fang YZ, Yang S, Wu G. Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Nutrition* 2002; 18:872-9.
- 21- Cox JD. (ed.) Gastrointestinal Tract. Moos' Radiation Oncology 1994: 7:428-440.
- 22- Donald P. Carroll MD. Richard T. Zera MD. Jeanesse CR. Efficacy of radioprotective agents in preventing small and bowel radiation injury. *Dis. Colon Rectum* 1995; 65:716-725.
- 23- Russell JC. Welch JP. Operative management of radiation injuries of the intestinal tract. *Am J Surg* 1979; 137:433-442.
- 24- Sashasura B. Kandasary E. Involvement of suproxide dismutase and glutathione peroxidase in attenuation of radiation-induced hyperthermia by interleukin-1 α in rats. Elsevier Science Publishers B.U Brain Researc 1993; 606:106-110.
- 25- Kogel AJ. Radiation response and tolerane of normal tissues. In; Steel GG (Ed.). Basic Clinical Radiobiology. New York: Co-published in the USA by Oxford University Pres; 1997; 30-39.
- 26- Yech EK, Vosowits M. Radiation enteritis. *Surg Gynecol Obsset* 1987; 168: 373-376.
- 27- Somosy Z. Radiation response of cell organelles. *Micron* 2000; 31:165-81.

- 28- Shaheen AA, Hassan SM. Radioprotection of whole-body gamma irradiation-induced alteration in some hematological parameters by cysteine, vitamin E and their combinations in rats. *Strahlenther Oncol* 1991; 167: 498-501.
- 29- Diamond AM, Dale MP, Murray JL, Grdina DJ. The inhibition of radiation induced mutagenesis by the combined effects of selenium and the aminothiols WR-1065. *Elsevier Science B. V. Mutation Research* 1996; 356:147-154.
- 30- Klimberg VS, Souba WW, Dolson DJ. Prophylactic glutamine protects the intestinal mucosa from radiation injury. *Cancer* 1990; 66:62.
- 31- Threumma KE. Protective effects of curcumin, ellagic acid and bixin on radiation induced toxicity. *Ind J Exp Biology* 1996; 34:840-847.
- 32- Hermann A, Davies JR, Lindell JR. Studies on the "insoluble" glycoprotein complex from human colon: identification of reduction-insensitive MUC2 oligomers and C-terminal cleavage. *J Biol Chem* 1999; 274: 15828-36.
- 33- Blaser M.J, Smith PD, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerrant RL. Editors. *Infections of the gastrointestinal tract*. Lippincott Williams&Wilkins 2002: 57-79.
- 34- Specian RD, Neutra MR. Mechanism of rapid mucus secretion in goblet cells stimulated by acetylcholine. *J Cell Biol* 1980; 85: 626-640.
- 35- Akiba Y, Guth PH, Engel E. Dynamic regulation of mucus gel thickness in rat duodenum. *Am J Physiol* 2000; 279: 437-447.
- 36- McCool DJ, Forstner JF, Forstner GG. Regulated and unregulated pathways for MUC2 mucin secretion in human colonic LS180 adenocarcinoma cells are distinct. *Biochem J* 1995; 312: 125-133.
- 37- McCool DJ, Forstner JF, Forstner GG. Synthesis and secretion of mucin by the human colonic tumour cell line LS180. *Biochem J* 1994; 302: 111-118.
- 38- Jackson AD. Airway goblet-cell mucus secretion. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22: 39-45.
- 39- Plaisancie P, Barcelo A, Moro F, Claustre J, Chayvialle JA, Cuber JC. Effects of neurotransmitters, gut hormones, and inflammatory mediators on mucus discharge in rat colon. *Am J Physiol* 1998; 275: 1073-84.
- 40- Halm DR, Halm ST. Secretagogue response of goblet cells and columnar cells in human colonic crypts. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000; 278: 212-33

- 41- Stanley CM, Phillips TE. Selective secretion and replenishment of discrete mucin glycoforms from intestinal goblet cells. *Am J Physiol* 1999; 277: 191-200.
- 42- Bertrand CA, Labois CL, Hopfer U. Purinergic and cholinergic agonists induce exocytosis from the same granule pool in HT29-Cl.16E monolayers. *Am J Physiol* 1999; 276: 907-14.
- 43- Branka JE, Vallette G, Jarry A, Labois CL. Stimulation of mucin exocytosis from human epithelial cells by nitric oxide: evidence for a cGMP-dependent and a cGMP-independent pathway. *Biochem J* 1997; 323: 521-4.
- 44- Belley A, Keller K, Grove J, Chadee K. Interaction of LS174T human colon cancer cell mucins with *Entamoeba histolytica*: an in vitro model for colonic disease. *Gastroenterology* 1996; 111:1484-92.
- 45- McCool DJ, Marcon MA, Forstner JF, Forstner GG. The T84 human colonic adenocarcinoma cell line produces mucin in culture and releases it in response to various secretagogues. *Biochem J* 1990; 267: 491-500.
- 46- Barcelo A, Claustre J, Moro F, Chayvialle JA, Cuber JC, Plaisancie P. Mucin secretion is modulated by luminal factors in the isolated vascularly perfused rat colon. *Gut* 2000; 46: 218-24.
- 47- Limtrakul P, Lipigorngoson S, Namwong O, Apisariyakul A, Dunn FW. Inhibitory effect of dietary curcumin on skin carcinogenesis in mice. *Cancer Lett* 1997; 116:197-203.
- 48- Scartezzini P, Speroni E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *J Ethnopharmacol* 2000; 71: 23-43.
- 49- Uslu E. Curcumin'in Stres Ülserlere Etkisi. *Cerrahpaşa Tıp Derg* 2002; 33: 93-96.
- 50- Romiti N, Tongiani R, Cervelli F, Chieli E. Effects of curcumin on P-glycoprotein in primary cultures of rat hepatocytes. *Life Sci* 1998; 62: 2349-58.
- 51- Pandya U, Saini MK, Jin GF, Awasthi S, Godley BF, Awasthi YC. Dietary curcumin prevents ocular toxicity of naphthalene in rats. *Toxicol Lett* 2000; 115: 195-204.
- 52- Choudhary D, Chandra D, Kale RK. Modulation of radioresponse of glyoxalase system by curcumin. *J Ethnopharmacol* 1999; 64: 1-7.

- 53- Pan MH, Huang TM, Lin JK. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice. *Drug Metab Dispos* 1999; 27: 486-94.
- 54- Sikora E, Bielak-Zmijewska A, Piwocka K, Skierski J, Radziszewska E. Inhibition of proliferation and apoptosis of human and rat T lymphocytes by curcumin, a curry pigment. *Biochem Pharmacol* 1997; 54: 899-907.
- 55- Devasena T, Rajasekaran KN, Menon VP. Bis-1,7-(2-hydroxyphenyl)-hepta-1,6-diene-3,5-dione (a curcumin analog) ameliorates DMH-induced hepatic oxidative stress during colon carcinogenesis. *Pharmacol Res* 2002; 46: 39-45.
- 56- Priyadarsini KI. Free radical reactions of curcumin in membrane models. *Free Radic Biol Med* 1997; 23: 838-43.
- 57- Sreejayan N, Rao MNA, Priyadarsini KI, Devasagayam TPA. Inhibition of radiation-induced lipid peroxidation by curcumin. *Int J Pharm* 1997; 151: 127-130.
- 58- Jagetia GC, Rajanikant GK. Role of curcumin, a naturally occurring phenolic compound of turmeric in accelerating the repair of excision wound, in mice whole-body exposed to various doses of gamma-radiation. *J Surg Res* 2004; 120: 127-38.
- 59- Bhaumik S, Jyothi MD, Khar A. Differential modulation of nitric oxide production by curcumin in host macrophages and NK cells. *FEBS Lett* 2000; 483: 78-82.
- 60- Ozen N, Uslu E, Ozen M, Aydin S, Altug T, Belce A, Kokoglu E. Curcumin's effects on sialic acid level and sialidase activity in Ehrlich ascites tumor bearing mice. *Tohoku J Exp Med* 2002; 197: 221-7.
- 61- Kobayashi T, Hashimoto S, Horie T. Curcumin inhibition of dermatophagoides farinea-induced interleukin-5 (IL-5) and granulocyte macrophage-colony stimulating factor (gm-csf) production by lymphocytes from bronchial asthmatics. *Biochem Pharmacol* 1997; 54: 819-824.
- 62- Inano H, Onoda M, Inafuku N, Kubota M, Kamada Y, Osawa T, Kobayashi H, Wakabayashi K. Potent preventive action of curcumin on radiation-induced initiation of mammary tumorigenesis in rats. *Carcinogenesis* 2000; 21: 1835-41.
- 63- Piper JT, Singhal SS, Salameh MS, Torman RT, Awasthi YC, Awasthi S. Mechanisms of anticarcinogenic properties of curcumin: the effect of curcumin on glutathione linked detoxification enzymes in rat liver. *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30: 445-56.

- 64- Akpolat M. Alkolün Oluşturduğu Serbest Radikaller Üzerine İbuprofen ve Erusik Asidin Etkileri (tez). Edirne: T Ü Sağ Bil Enst; 2000.
- 65- Chandra Jagetia G, Rajanikant GK, Rao SK, Shrinath Baliga M. Alteration in the glutathione, glutathione peroxidase, superoxide dismutase and lipid peroxidation by ascorbic acid in the skin of mice exposed to fractionated gamma radiation. *Clin Chim Acta* 2003; 332: 111-21.
- 66- Hsu PC, Guo YL. Antioxidant nutrients and lead toxicity. *Toxicology* 2000; 180: 33-44.
- 67- Kapil U, Singh P, Bahadur S, Shukla NK, Dwivedi S, Pathak P, Singh R. Association of vitamin A, vitamin C and zinc with laryngeal cancer. *Indian J Cancer* 2003; 40: 67-70.
- 68- Nam SY, Cho CK, Kim SG. Correlation of increased mortality with the suppression of radiation-inducible microsomal epoxide hydrolase and glutathione S-transferase gene expression by dexamethasone: effects on vitamin C and E-induced radioprotection. *Biochem Pharmacol* 1998; 56: 1295-304.
- 69- Bhatia AL, Jain M. *Amaranthus paniculatus* (Linn.) improves learning after radiation stress. *J Ethnopharmacol* 2003; 85: 73-9.
- 70- Seven A, Candan G. Antioksidan Savunma Sistemleri. *Cerrahpaşa Tıp Derg* 1996; 27: 41-50.
- 71- Bancroft JD, Alan S. *Theory and practice of histological techniques*. Third Edition, New York : Churchill Livingstone Inc. 1990.
- 72- Gabe M. *Les Principes Généraux de la technique histologique*. Masson and Cie: Paris: 1968; 10-130.
- 73- Hayat MA. *Principles and techniques of electron microscopy*. New York: Van Nostrand Reinhold Company, 1970.
- 74- Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 1970; 101: 478-83.
- 75- Raguso C A, Leverve X, Pichard C. Protective effects of recombinant growth hormone on intestinal mucosa in rats receiving abdominal radioteraphy. *Clinical Nutrition* 2002; 21: 487-490
- 76- Somosy Z, Horvath, Telbisz A, Rez G, Palfia Z. Morphological aspects of ionizing radiation response of small intestine. *Micron* 2002; 33: 167-178.

- 77- Potten CS, Merritt A, Hickman J, Hall P, Faranda A. Characterization of radiation-induced apoptosis in the small intestine and its biological implications. *Int J Radiat Biol* 1994; 65: 71-8.
- 78- Merritt AJ, Potten CS, Watson AJ, Loh DY, Nakayama K, Nakayama K, Hickman JA. Differential expression of bcl-2 in intestinal epithelia. Correlation with attenuation of apoptosis in colonic crypts and the incidence of colonic neoplasia. *J Cell Sci* 1995; 108: 2261-71.
- 79- Wilson JW, Pritchard DM, Hickman JA, Potten CS. Radiation-induced p53 and p21WAF-1/CIP1 expression in the murine intestinal epithelium: apoptosis and cell cycle arrest. *Am J Pathol* 1998; 153: 899-909.
- 80- Rubio CA, Jalnas M. Dose-time-dependent histological changes following irradiation of the small intestine of rats. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 392-401.
- 81- Carr KE, Hamlet R, Nias AH, Watt C. Multinucleate giant enterocytes in small intestinal villi after irradiation. *J Microsc* 1981; 123: 169-76.
- 82- Carr KE, Hume SP, Marigold JC, Michalowski A. Scanning and transmission electron microscopy of the damage to small intestinal mucosa following X irradiation or hyperthermia. *Scan Electron Microsc* 1982; 1: 393-402.
- 83- Carr KE, Bullock C, Ryan SS, McAlinden MG, Boyle FC. Radioprotectant effects of atropine on small intestinal villous shape. *J Submicrosc Cytol Pathol* 1991; 23: 569-77.
- 84- Katak SS, Diglio CA, Onoda JM. Low dose radiation-induced endothelial cell retraction. *Int J Radiat Biol* 1993 Sep; 64: 319-28.
- 85- Trier JS, Browning TH. Morphologic response of the mucosa of human small intestine to x-ray exposure. *J Clin Invest* 1966; 45: 194-204.
- 86- Somosy Z, Kovacs J, Siklos L, Koteles GJ. Morphological and histochemical changes in intercellular junctional complexes in epithelial cells of mouse small intestine upon X-irradiation: changes of ruthenium red permeability and calcium content. *Scanning Microsc* 1993; 7: 961-71.
- 87- Somosy Z, Thuroczy G, Koteles GJ, Kovacs J. Effects of modulated microwave and X-ray irradiation on the activity and distribution of Ca(2+)-ATPase in small intestine epithelial cells. *Scanning Microsc* 1994; 8: 613-9.
- 88- Gasperin P, Gozy M, Pauwels O, Fruhling J, Van Houtte P, Pasteels JL, Kiss R. Monitoring of radiotherapy-induced morphonuclear modifications in the MXT mouse

mammary carcinoma by means of digital cell image analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992; 22: 979-87.

89- Somosy Z, Pikli A, Kubasova T, Koteles GJ, Bodo M. Alteration of nuclear diameter of murine lymphocytes upon the effect of X-irradiation in vivo. *Radiobiol Radiother (Berl)* 1985; 26: 305-10.

90- Roth MB. Spheres, coiled bodies and nuclear bodies. *Curr Opin Cell Biol* 1995; 7: 325-8.

91- Morales A, Schwint AE, Itoiz ME. Nucleolar organizer regions in a model of cell hyperactivity and regression. *Biocell* 1996; 20: 251-8.

92- Humphrey RM, Brinkley BR. Ultrastructural studies of radiation-induced chromosome damage. *J Cell Biol* 1969; 42: 745-53.

93- Caricchio R, Reap EA, Cohen PL. Fas/Fas ligand interactions are involved in ultraviolet-B-induced human lymphocyte apoptosis. *J Immunol* 1998; 161: 241-51.

94- Shen ZY, Ye CQ, Wu DC. Effect of inhaled $^{239}\text{PuO}_2$ on alveolar type II cells. *Int J Radiat Biol* 1989; 56: 169-78.

95- Skog S, Collins VP, Ivarsson B, Tribukait B. Scanning and transmission electron microscopy following irradiation of Ehrlich ascites tumour cells. Relationships to cell cycle. *Acta Radiol Oncol* 1983; 22: 151-62.

96- Chedid A, Nair V. Ontogenetic changes in the ultrastructure of rat hepatocyte organelles after prenatal x-irradiation. *Radiat Res* 1975; 62: 123-32.

97- Somosy Z, Thuroczy G, Kubasova T, Kovacs J, Szabo LD. Effects of modulated and continuous microwave irradiation on the morphology and cell surface negative charge of 3T3 fibroblasts. *Scanning Microsc* 1991; 5: 1145-55.

98- Betzold JM, Saeger W, Ludecke DK. Ultrastructural-morphometric effects of radiotherapy on pituitary adenomas in acromegaly. *Exp Clin Endocrinol* 1992; 100: 106-11.

99- Hamberg H. Cellular autophagocytosis induced by X-irradiation and vinblastine. On the origin of the segregating membranes. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand [A]* 1983; 91: 317-27.

100- Becciolini A, Giache V, Balzi M, Morrone A. Behaviour of lysosomal enzymes in the small intestine after multiple daily fractionation. *Strahlentherapie* 1983; 159: 508-12.

101- Somosy Z, Kubasova T, Koteles GJ. Scanning electronmicroscopic appearance of X-irradiated human fibroblasts. *J Radiat Res (Tokyo)* 1983; 24: 109-17.

102- Somosy Z, Kubasova T, Koteles GJ. The effects of low doses of ionizing radiation upon the micromorphology and functional state of cell surface. *Scanning Microsc* 1987; 1:1267-78.

- 103- Barcellos-Hoff MH. How do tissues respond to damage at the cellular level? The role of cytokines in irradiated tissues. *Radiat Res* 1998; 150: 109-20.
- 104- Giancotti FG, Ruoslahti E. Integrin signaling. *Science* 1999; 285: 1028-32.
- 105- Koteles GJ, Somosy Z. Radiation responses in plasma membrane. Review of the present state and future trends. *Cell Mol Biol* 2001; 47: 473-84.
- 106- Lieb RJ, McDonald TF, McKenney JR. Fine-structural effects of 1200-R abdominal X irradiation on rat intestinal epithelium. *Radiat Res* 1977; 70: 575-84.
- 107- Porvaznik M. Tight junction disruption and recovery after sublethal gamma irradiation. *Radiat Res* 1979; 78: 233-50.
- 108- Akimoto T, Mitsuhashi N, Saito Y, Ebara T, Niibe H. Effect of radiation on the expression of E-cadherin and alphacatenin and invasive capacity in human lung cancer cell line in vitro. *Int J Radiat Onco. Biol Phys* 1998; 41: 1171-1176.
- 109- Ebara T, Mitsuhashi N, Saito Y, Akimoto T, Niibe H. Change in E-cadherin expression after X-ray irradiation of a human cancer cell line in vitro and in vivo. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998; 41: 669-674.
- 110- Onoda JM, Kantak SS, Diglio CA. Radiation induced endothelial cell retraction in vitro: correlation with acute pulmonary edema. *Pathol Oncol Res* 1999; 5: 49-55.
- 111- Ishii K, Watanabe M. Participation of gap-junctional cell communication on the adaptive response in human cells induced by low dose of X-rays. *Int J Radiat Biol* 1996; 69: 291-299.
- 112- Little JB. Radiation-induced genomic instability. *Int J Radiat Biol* 1998; 74: 663-671.
- 113- Lebrun F, Francois A, Vergnet M, Lebaron-Jacobs L, Gourmelon P, Griffiths NM. Ionizing radiation stimulates muscarinic regulation of rat intestinal mucosal function. *Am J Physiol* 1998; 275: 1333-40.
- 114- Kimura H, Wu NZ, Dodge R, Spencer DP, Klitzman BM, McIntyre TM, Dewhirst MW. Inhibition of radiation-induced up-regulation of leukocyte adhesion to endothelial cells with the platelet-activating factor inhibitor, BN52021. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 33: 627-633.
- 115- Panes J, Perry MA, Anderson DC, Manning A, Leone B, Cepinskas G, Rosenbloom CL, Miyasaka M, Kvietys PR, Granger DN. Regional differences in constitutive and induced ICAM-1 expression in vivo. *Am J Physiol* 1995; 269: 1955-1964.
- 116- Handschel J, Prott FJ, Sunderkotter C, Metze D, Meyer U, Joos U. Irradiation induces increase of adhesion molecules and accumulation of beta2-integrin-expressing cells in humans. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999; 45: 475-481.

117- Hareyama M, Imai K, Oouchi A, Takahashi H, Hinoda Y, Tsujisaki M, Adachi M, Shonai T, Sakata K, Morita K. The effect of radiation on the expression of intercellular adhesion molecule-1 of human adenocarcinoma cells. *Int J Radiat Oncol Phys* 1998; 40: 691-696.

RESİMLEMELER LİSTESİ

Sayfa No

Resim 1. Kontrol grubu, Mallory Triple, X400.....	26
Resim 2. Kontrol grubu, Azan, X400.....	26
Resim 3. Kontrol grubu, PAS+HL, X400.....	27
Resim 4. Kontrol grubu, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 8000.....	28
Resim 5. Kontrol grubu, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 5000.....	28
Resim 6. Kontrol grubu, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 6000.....	29
Resim 7. Kontrol grubu, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 8000.....	29
Resim 8. Tek doz radyasyon grubu, H+E, X200.....	30
Resim 9. Tek doz radyasyon grubu, H+E, X400.....	30
Resim 10. Tek doz radyasyon grubu, Azan, X200.....	31
Resim 11. Tek doz radyasyon grubu, Masson, X400.....	31
Resim 12. Tek doz radyasyon grubu, PAS+HL, X200.....	32
Resim 13. Tek doz radyasyon grubu, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X5000.....	33
Resim 14. Tek doz radyasyon grubu, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X8000.....	33
Resim 15. Tek doz radyasyon grubu, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X8000.....	34
Resim 16. Tek doz radyasyon grubu, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X 20000.....	34
Resim 17. İki doz radyasyon grubu, H+E, X200.....	35
Resim 18. İki doz radyasyon grubu, Azan, X200.....	35
Resim 19. İki doz radyasyon grubu, Mallory Triple, X400.....	36
Resim 20. İki doz radyasyon grubu, Mallory Triple, X400.....	36
Resim 21. İki doz radyasyon grubu, Masson, X400.....	37