

**T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**CAPSAİCİN UYGULANAN SIÇANLARIN (*Sprague dawley*) İNCE
BARSAK DOKUSUNDA PLATELET KAYNAKLI BÜYÜME FAKTÖRÜ-
C ve PLATELET KAYNAKLI BÜYÜME FAKTÖRÜ RESEPTÖRÜ- α 'NİN
İMMUNOHİSTOKİMYASAL DAĞILIMI**

**Öğr. Gör. Buket BAKIR
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı**

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Ebru KARADAĞ SARI**

2011-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CAPSAİCİN UYGULANAN SIÇANLARIN (*Sprague dawley*) İNCE
BARSAK DOKUSUNDA PLATELET KAYNAKLI BÜYÜME FAKTÖRÜ-
C ve PLATELET KAYNAKLI BÜYÜME FAKTÖRÜ RESEPTÖRÜ- α 'NİN
İMMUNOHİSTOKİMYASAL DAĞILIMI**

Öğr. Gör. Buket BAKIR
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Ebru KARADAĞ SARI

2011-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Öğr. Gör. Buket BAKIR tarafından hazırlanmış olan "**Capsaicin Uygulanan Sıçanların (*Sprague dawley*) İnce Barsak Dokusunda Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü-C ve Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü Reseptörü- α 'nın İmmunohistokimyasal Dağılımı**" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

Adı Soyadı

İmza

Başkan: Prof. Dr.

.....

Üye : Prof. Dr.

.....

Üye : Doç. Dr.

.....

Üye : Doç. Dr.

.....

Üye : Doç. Dr.

.....

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nungün vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet ÇİTİL
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışma, çok eski geçmişe sahip olan, baharat ve tıp alanında geniş kullanım alanına sahip capsaicin'in oral ve enjeksiyon yoluyla uygulandığı sıçanların ince barsak dokusunda PDGF-C ve PDGFR- α 'nın dağılımı üzerine etkisinin araştırılması amacıyla yapıldı.

Doktora eğitimimin her aşamasında desteğini gördüğüm, azim ve çalışmalarıyla bana yol gösterici olan, her alanda bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım danışmanım Doç. Dr. Ebru KARADAĞ SARI'ya, laboratuvar çalışmalarında ve tezimin diğer aşamalarında yardım ve desteğini esirgemeyen pratik çözümlerle bana yol gösterici olan, yardım severliği ve bilimsel yanıyla örnek aldığım Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji A.D'dan Doç. Dr. Mahmut SÖZMEN'e; çalışmamda hayvan materyalinin temini ve bakımı süresince çok büyük katkılar sağlayan Prof. Dr. Mümtaz NAZLI ve Öğr. Gör. Sevda ELİŞ YILDIZ'a, Histoloji ve Embriyoloji alanında çok önemli çalışmalarıyla bilime ışık tutan Ankara üniversitesi veteriner fakültesi histoloji ve embriyoloji A.D'dan Prof. Dr. Nevin KURTDEDE'ye, eğitimimde emeği geçen, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Prof. Dr. Nurhayat GÜLMEZ, Prof. Dr. Şahin ASLAN, Prof. Dr. Hakan KOCAMIŞ ve Yrd. Doç. Dr. Turgay DEPREM'e, çalışmada elde ettiğim sonuçların fotoğraflanmasında yardımcı olan Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi A.D.'dan Arş. Gör. Gürol BAYRAKTAR'a, her konuda yardımını ve desteğini gördüğüm Farmakoloji ve Toksikoloji A.D. Doktora öğrencisi Dinçer Erdağ'a, hayatımın her anında yanı başımda olan ve her zor anımı varlığıyla kolaylaştıran eşime ve aileme teşekkür ederim.

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGE

µm

kDa

mg

Kg

Na

Ca

K

Kb

°C

CAG

H₂O₂

AÇIKLAMA

Mikrometre

Kilodalton

Miligram

Kilogram

Sodyum

Kalsiyum

Potasyum

Kilobayt

Santigrad Derece

Krom-Alum-Jelatin

Hidrojen Peroksit

KISALTMA

PDGFR-α

VR-1

PDGF

PDGF-C

SP

FGF

EGF

TGF

IGF-I ve II

HGF

SCLC

AR

LD

TRP

CGRP

NKA

TNF

AÇIKLAMA

Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü Reseptörü-alfa

Vanilloid Reseptör 1

Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü

Platelet Kaynaklı Büyüme Faktörü-C

Substans P

Fibroblast Büyüme Faktörü

Epidermal Büyüme Faktörü

Transforme Edici Büyüme Faktörü

İnsülin-benzeri Büyüme Faktörü-I ve II

Hepatosit Büyüme Faktörü

Küçük Hücreli Akciğer Kanseri

Androjen Reseptör

Ölümcül Doz

Geçici Potansiyel Reseptörü

Kalsitonin Gen İlişkili Peptid

Nörokinin A

Tümör Nekroz Faktör

IEL

FAE

IgA

PBS

NO

İntraepiteliyal Lökosit

Folikülle İlişkili Epitel

İmmunglobulin A

Fosfat Buffered Salin

Nitrit Oksit

İÇİNDEKİLER

TABLO

DİZİNİ.....	I
ŞEKİL DİZİNİ.....	II
GRAFİK DİZİNİ.....	IV
1.GİRİŞ.....	1
1. 1.1.	
CAPSAİCİN.....	
..... 3	
1.1.1. VANİLOİD RESEPTÖRÜ-1 (VR-1, TRPV-1)	5
1.1.2. CAPSAİCİN'İN SİNDİRİM SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ.....	6
1.2. PDGF-C.....	7
1.3. PDGFR- α	9
1. 4. İNCE BARSAK.....	10
2. MATERYAL ve METOT.....	13
2. 1. Materyal.....	13
2. 1. 1. Hayvan Materyali ve Bakım Koşulları.....	13
2. 1. 2. Deneyde Kullanılan Kimyasalların Hazırlanması.....	13
2. 2. Metot.....	14
2. 2. 1. Capsaicin Uygulaması.....	14
2. 2. 2. Canlı Ağırlık Ölçümü.....	14
2. 2. 3. Doku Örneklerinin Alınması.....	14
2. 2. 4. Histolojik İncelemeler.....	15
2. 2. 5. İmmunohistokimyasal İncelemeler.....	15
2. 2. 6. Morfometrik Ölçümler ve İstatistiksel Analizler.....	16
3. BULGULAR.....	18
3.1. Canlı Ağırlık Bulguları.....	18
3. 2. Villus Uzunlukları.....	19
3. 3. Kript Derinlikleri.....	20
3. 4. Villuslarda Bulunan Kadeh Hücre Sayısı Bulguları.....	21
3. 5. Kriptlerde Bulunan Kadeh Hücre Sayısı Bulguları.....	22
3. 6. Histolojik Bulgular.....	23

3. 7. İmmunohistokimyasal Bulgular	26
3.7.1.Duodenumda PDGF-C immunoreaktivitesi.....	26
3.7.2. Jejunumda PDGF-C immunoreaktivitesi.....	31
3.7.3. İleumda PDGF-C immunoreaktivitesi.....	35
3.7.4. Duodenumda PDGFR- α immunoreaktivitesi.....	39
3.7.5. Jejunumda PDGFR- α immunoreaktivitesi.....	43
3.7.6. İleumda PDGFR- α immunoreaktivitesi.....	47
4. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	53
5. ÖZET.....	58
6. SUMMARY.....	60
7. KAYNAKLAR.....	61
8. ÖZGEÇMİŞ.....	70

TABLO DİZİNİ

Tablo 1: Hücrelerdeki PDGF-C ve PDGFR- α immunoreaktivitesinin derecelendirilmesi.....	16
Tablo 2: Gruplar arasında canlı ağırlıklarının karşılaştırılması.....	18
Tablo 3: Gruplar arasında villus uzunluğunun karşılaştırılması.....	19
Tablo 4: Gruplar arasında kript derinliğinin karşılaştırılması.....	20
Tablo 5: Gruplar arasında villuslarda yer alan kadeh hücre sayılarının karşılaştırılması.....	21
Tablo 6: Gruplar arasında kriptlerde yer alan kadeh hücre sayılarının karşılaştırılması.....	22
Tablo 7: Sıçan duodenumunda PDGF-C immunoreaktivitesinin semikantitatif analiz sonuçları.....	26
Tablo 8: Sıçan jejunumunda PDGF-C immunoreaktivitesinin semikantitatif analiz sonuçları.....	30
Tablo 9: Sıçan ileumunda PDGF-C immunoreaktivitesinin semikantitatif analiz sonuçları.....	34
Tablo 10: Sıçan Duodenumunda PDGFR- α immunoreaktivitesinin semikantitatif analiz sonuçları.....	38
Tablo 11: Sıçan jejunumunda PDGFR- α immunoreaktivitesinin semikantitatif analiz sonuçları.....	42
Tablo 12: Sıçan ileumunda PDGFR- α immunoreaktivitesinin semikantitatif analiz sonuçları.....	46

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1: Sham grubu. Duodenumun genel görünümü.....	23
Şekil 2: Oral grup. Jejunumun genel görünümü.....	24
Şekil 3: Enjeksiyon grubu. İleumun genel görünümü.....	25
Şekil 4: Sham grubu. Duodenumda PDGF-C immunoreaktivitesi.....	28
Şekil 5: Oral grup. Duodenumda PDGF-C immunoreaktivitesi.....	29
Şekil 6: Enjeksiyon grubu. Duodenumda PDGF-C immunoreaktivitesi.....	30
Şekil 7: Sham grubu. Jejunumda PDGF-C immunoreaktivitesi.....	32
Şekil 8: Oral grup. Jejunumda PDGF-C immunoreaktivitesi.	33
Şekil 9: Enjeksiyon grubu. Jejunumda PDGF-C immunoreaktivitesi.....	34
Şekil 10: Sham grubu. İleumda PDGF-C immunoreaktivitesi.....	36
Şekil 11: Oral grup. İleumda PDGF-C immunoreaktivitesi.	37
Şekil 12: Enjeksiyon grubu. İleumda PDGF-C immunoreaktivitesi.....	38
Şekil 13: Sham grubu. Duodenumda PDGFR- α immunoreaktivitesi.....	40
Şekil 14: Oral grup. Duodenumda PDGFR- α immunoreaktivitesi.....	41
Şekil 15: Enjeksiyon grubu. Duodenumda PDGFR- α immunoreaktivitesi.....	42
Şekil 16: Sham grubu. Jejunumda PDGFR- α immunoreaktivitesi.....	44
Şekil 17: Oral grup. Jejunumda PDGFR- α immunoreaktivitesi.....	45
Şekil 18: Enjeksiyon grubu. Jejunumda PDGFR- α immunoreaktivitesi.....	46
Şekil 19: Sham grubu. İleumda PDGFR- α immunoreaktivitesi.....	48
Şekil 20: Oral grup. İleumda PDGFR- α immunoreaktivitesi.....	49
Şekil 21: Enjeksiyon grubu. İleumda PDGFR- α immunoreaktivitesi	50
Şekil 22: Enjeksiyon grubu. Duodenumda PDGF-C negatif kontrol.	51
Şekil 23: Enjeksiyon grubu. Duodenumda PDGFR- α negatif kontrol.....	52

GRAFİK DİZİNİ

Grafik 1: Gruplar arasında villus uzunluğunun karşılaştırılması.....	19
Grafik 2: Gruplar arasında kript derinliğinin karşılaştırılması.....	20
Grafik 3: Gruplar arasında villuslarda yer alan kadeh hücre sayılarının karşılaştırılması.....	21
Grafik 4: Gruplar arasında kriptlerde yer alan kadeh hücre sayılarının karşılaştırılması.....	22

2. GİRİŞ

Capsaicin, solanaceae familyasının capsicum cinsinden olan ve botanik biliminde *Capsicum annuum* olarak adlandırılan, acı bibere acılığını veren alkaloid ($C_{18}H_{17}NO_3$) yapıda bir maddedir (35). Yaklaşık 7000 yıllık geçmişe sahip olan acı biber, dünyada Hindistan, Meksika, Tayland gibi ülkeler başta olmak üzere birçok ülkede, ülkemizde ise Güneydoğu başta olmak üzere birçok bölgede baharat olarak kullanılmaktadır. Acı biber, baharat olarak kullanımının yanısıra uzun yıllardan beri tıp alanında da önemli yer tutmuştur. Güney Amerika'da yaşamış olan Aztekler tarafından kırmızı acı biberin, tuz ve bal ile karışımının içilmesiyle inatçı öksürük tedavisinde kullanımının yanısıra Tarahumara hintlileri tarafından da boğaz iltihabı ve bronşitte tedavi amaçlı kullanılmıştır (27).

Capsaicinin ve capsaicinoid grubu diğer üyelerinin gastrointestinal, kardiyovasküler ve solunum sistemi üzerine etkilerinin olduğu bilinmektedir (86). Capsaicinin etkileri doza ve kullanım süresine bağlı olarak değişmektedir (62). Düşük dozda kullanımı, mide mukozasında kan dolaşımını düzenlemeden sorumlu olan sinirleri uyarırken yüksek dozda kullanımı afferent sinir kayıplarını artırarak sinir sonlarında geri dönüşümsüz hasarlara neden olabilmektedir (50). Capsaicinin doza bağlı olarak kardiyovasküler sistem üzerine etkilerini araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada (22), 1 µg capsaicin'in sıçanlara intravenöz yolla uygulanması sonucu kalp atış hızında düşüş, kan basıncında ise önce düşüş ardından artış gözlenirken, 5 µg dozda uygulanması sonucu kan basıncında artış görülmüştür. Hindistan'da yapılan bir araştırmada (8) ise acı biberin doza bağlı olarak ağız boşluğu, yutak, yemek borusu ve gırtlak kanserleri insidansını arttırdığı bildirilmiştir.

Benzer şekilde, capsaicin'in immün sistem üzerine etkileri doza bağlı olarak değişmektedir. Düşük dozda uygulanmasının immün sistemi uyardığı yüksek dozun ise immün cevabı baskıladığı bildirilmiştir. Bu etkileri de somatostatin ve substans P (SP) salınımını uyararak yaptığı öne sürülmüştür (73).

Capsaicin'in spesifik olarak bağlandığı reseptöre capsaicin reseptörü veya vanilloid reseptör 1 (VR-1) adı verilir. Bu reseptör, capsaicin'in kendisine

bir ligand gibi bağlanmasıyla, asit veya ısının da etkisiyle aktifleşme özelliğine sahiptir (21). VR-1; hipokampus, santral amygdala, hipotalamus, sentromedian, paraventriküler talamik nüklei, substantia nigra ve serebellum gibi sinir sisteminin farklı bölgelerinden salgınmaktadır (69). Yapılan çalışmalar (53, 60) ile sinir sisteminin yanı sıra mast hücreleri, deride keratinositler, idrar kesesi epitel hücreleri, düz kas hücreleri, ince barsak villusları ve mide epitel hücreleri gibi hücrelerde de varlığı saptanmıştır.

Büyüme faktörleri ailesinin bir üyesi olan platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF, Platelet-Derived Growth Factor), 30 kDa moleküler ağırlıkta büyüme ve gelişim üzerinde önemli fonksiyonlara sahip olan bir proteindir (28). PDGF; PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC ve PDGF-DD olmak üzere beş farklı homodimer ve heterodimer alt ünitelerinden oluşmaktadır. Ailenin bu beş üyesi PDGFR- α , PDGFR- β ve PDGFR- $\alpha\beta$ olarak adlandırılan tirozin kinaz aktivitesi gösteren üç farklı PDGF reseptörü tarafından bağlanarak aktifleştirilmektedir (45).

PDGF ve PDGF reseptörlerinin memeliler, vertebralılar ve hatta intervertebralılarda varlığı bildirilmiştir (16). PDGF'nin hücrelerin çoğalmasını ve transformasyonunu, doku yenilenmesini sağladığı ve apoptozisi düzenlediği bilinmektedir (28). Bu büyüme faktörü, trombositlerdeki α granülleri, makrofajlar, düz kas hücreleri, kemik matriksi, astrositler, endotel hücreleri, megakaryositler, fibroblastlar, kondrositler ve glia hücrelerinin yanı sıra mesane kanseri, glioma, meme kanseri, lösemi, hepatoma, kolon kanseri gibi çeşitli kanser hücreleri tarafından da salgınmaktadır (47).

PDGF, normal ve tümör hücrelerini parakrin veya otokrin yolla etkileyerek (14), organizmada büyümeyi artırıcı, kemotaksis, doku şekillenmesi, yara iyileşmesi, angiogenezis ve iskelet kas rejenerasyonunu sağlamakta, artrit, atherosclerosis, kemik iliği fibrozlarını içeren patolojik durumlarda ise iyileştirici rol oynamaktadır (45).

PDGF-C, PDGF ailesinin son bulunan üyelerinden biri olup, PDGFR- α tarafından bağlanmakta ve aktifleştirilmektedir (82). Diğer PDGF üyelerine benzer şekilde hem embriyonik hem de yetişkin dokularında hücre çoğalması, yara iyileşmesi, organ şekillenmesi ve gelişimi gibi önemli görevleri yerine getirmektedir (28). PDGF-C, embriyonal dönemde miyotom, kol ve bacak kemiklerinin ektodermal yüzeyi, sklerotom, nöral tübün üst tabakası ve

notocord, yetişkinlerde ise akciğer, barsak, sidik kesesi, özofagus, kaburga kemiği, perikondrium, intervertebral diskler, karaciğer, testis, kalp, böbrek, ovaryum, plasenta ve iskelet kası gibi birçok doku ve damar düz kas hücreleri, kan pulcukları, fibroblastlar, epitel hücreleri, osteoblastlar ve kondrositler gibi birçok hücrede varlığı saptanmıştır (38).

1. 1. CAPSAİCİN

Capsaicin renksiz, kokusuz, hidrofobik özellikte olup acı biberin etken maddesidir (83). Capsaicinin açık formülü; 8-Metil-N-Vanilil-6-Nonenamid olup biberdeki kuru ağırlığı ortalama 0.83-1.32 mg/g ve 57-66 °C'de erime özelliğine sahiptir (96).

Capsaicin ilk kez 1846 yılında kırmızı acı biberden izole edilmiş ve capsaicin olarak adlandırmıştır (5). Capsaicinin yapısı ise kısmen 1919 yılında açıklanmıştır (74). Acı biberin yapısında capsaicinin yanı sıra nordihydrocapsaicin, homodihydrocapsaicin, dihydrocapsaicin, homocapsaicin, norcapsaicin olarak adlandırılan diğer capsaicinler de bulunmaktadır (41).

Capsaicin'in hem hücre çoğalmasında hem de apoptoziste etkili olduğu bilinirken (62), moleküler düzeyde etki mekanizmasının tam olarak açıklığa kavuşturulamaması nedeni ile kanserojen veya antikanserojen etkileri konusunda kesin bir sonuca varılamamıştır (2). Capsaicinin deri, kolon, akciğer, dil ve prostat kanserlerini baskıladığını bildiren çalışmalar mevcutken (54, 71, 76, 88), özofagus, prostat, kolon ve midede kansere neden olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (4, 5, 91). Capsaicinin apoptozisi etkileyerek kanser hücrelerinin büyümesini engellediği bildirilmiştir (26). Capsaicinin bu etkisi tam olarak açıklanamasa da protein, lipid, DNA ve RNA gibi moleküllere geri dönüşümsüz hasarlar vererek veya hücre içi antiapoptotik Bcl-2 oranını azaltıp kaspaz-3 aktivitesini arttırarak buna neden olduğu düşünülmektedir (26). Bunun yanında kanser hücrelerinde siklin bağımlı kinaz (cdk) inhibitörlerini (p21 ve p53) engelleyerek kanser hücrelerini azalttığı da tespit edilmiştir (71).

İnsanlarda öldürücü bir kanser çeşidi olan küçük hücreli akciğer kanserli (SCLC; Small Cell Lung Cancer) farelere capsaicin uygulanması ile kanser hücrelerinin baskılandığı ve kanserin gerilediği görülmüştür (17). Capsaicinin kanser hücrelerinde gözlenen bu etkisinin apoptozisi arttırmasının yanı sıra hücre siklusunu G1 safhasında durdurması ve hücre siklusunda bir kısmı aktivatör ve bir kısmı da inhibitör etkiye sahip sekiz üyeden oluşan E2F ailesinin transkripsiyonunu düzenlemesine bağlı olduğu belirtilmiştir (17).

Capsaicin çeşitli hastalıklarda tedavi amaçlı da kullanılmaktadır. Capsaicinin otitis gibi çeşitli enfeksiyonların tedavisinde etkili olabileceği de düşünülmektedir (10). Ayrıca, capsaicin ve VR-1'in ağrı duyularının periferden merkeze taşınmasında görev alan miyelinsiz sinir tellerinde bulunan substans P'yi bloke ederek ağrı uyarılarının beyne ulaşmasını engellediği görülmüştür. Capsaicinin bu özelliğinden dolayı artrit, hafif ağrı olguları ile kas ve eklem ağrılarında kullanılmasının yanı sıra kemoterapi ve sklerozis uygulaması sonucunda şekillenen nöropatik tedavilerde de kullanılması öngörülmektedir (10).

Capsaicin yakıcı bir madde olması nedeniyle deri ve göze temas etmesi ve solunumla alınması son derece tehlikelidir. Yüksek miktarda capsaicine maruz kalmak öldürücü olabilir. Farelerde capsaicinin ölümcül dozu (lethal dose-50=LD50) miktarı kg baz alınarak değerlendirildiğinde 47,2 mg/kg olarak belirlenmiştir (92). Capsaicinin genotoksik etkilerini saptamak amacıyla Salmonella cinslerinden TA 98, ve TA100 ile yapılan ames mutasyon testlerinde, capsaicinin mutajenik olduğu bulunmuştur (92). Benzer şekilde capsaicin ve dihidrocapsaicin içeren karışımı V79 hamster hepatositlerinde mutasyonlara neden olduğu görülmüştür (64)

1. 1. 1. VANILLOİD (VR-1, TRPV-1) RESEPTÖRÜ

Vanilloid ailesinin bir üyesi olan capsaicin, vanilloid receptör-1 (VR-1) olarak adlandırılan reseptör tarafından bağlanarak aktiveştirilmektedir. VR-1, 426 aminoasit içeren yaklaşık 95 kDa moleküler ağırlığa sahip bir proteindir. Vanilloidler, eksojen ve endojen olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Capsaicin eksojen vanilloidler sınıfına girer (19). VR-1 iyon kanalları, TRP (Transient Receptor Potential=geçici potansiyel reseptörü) ailesinin bir üyesidir. Bu nedenle VR-1'in TRPV-1 olarak yeniden adlandırılmasını isteyen araştırmacılar mevcuttur. Her iki adlandırmada capsaicinin reseptörü için geçerli kabul edilmektedir (85).

TRP ailesi homojen ve heterojen yapıları içeren ve TRPC, TRPV, TRPM, TRPP olarak adlandırılan 4 üyeden oluşmaktadır. Bu ailenin üyelerinden TRPV ise TRPV1-6 olmak üzere 6 üyeden oluşmaktadır (80). TRPV-1'in spinal kord, hipotalamus, hipokampus ve substansiya nigra olmak üzere hem merkezi sinir sisteminin hem de perifer sinir sisteminin çeşitli bölgelerinin yanı sıra böbrek ve idrar kesesinden de salınımının var olduğu tespit edilmiştir (81).

VR-1, sinir sonlarında bulunmaktadır ve sıcaklık artışı ($\leq 43^{\circ}\text{C}$), pH değişimi ($\text{pH}<5$), capsaicin varlığı gibi durumlarda salınımı artmaktadır. Capsaicine duyarlı afferent nöronlarda bulunan capsaicin bu nöronlardaki VR-1 ile bağlanarak aktiveşmektedir (20). VR-1 sensörük nöronlarda nöropeptidlerin salınımında rol oynamaktadır. Ağrı duyusunun alınması capsaicin VR-1'e bağlanmasıyla aktiveşmekte ve hücreye Na, Ca ve K iyonlarının geçişi artmaktadır. Bunun sonucunda duyu sinir hücrelerinin membranlarında depolarizasyon şekillenmekte ve kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP), SP ve nörokinin A (NKA) gibi nörotransmitterlerin salınımı artmaktadır. Bu maddeler aracılığıyla uyarı merkezi sinir sistemine gönderilerek ağrı duyusunun alınması gerçekleşmektedir. Fakat capsaicin'in uzun süre uygulanmaya devam edilmesi sonucu ağrıya karşı duyarsızlık meydana gelmektedir (66).

Capsazepin, VR-1'in antagonist özelliği göstermektedir. Capsaicin ve capsazepinle yapılan bir çalışmada (73), ağrı duyularının taşınmasında görev

yapan SP salınımının capsaicin uygulanan grupta arttığı, capsazepin uygulanan grupta ise baskılandığı görülmüştür. Ayrıca, Toksin A uygulanan sıçanlara capsaicin ve capsazepin uygulanması sonucu, capsaicin uygulanan grupta VR-1'in uyarılmasıyla SP salınımının arttığı görülürken, capsazepin uygulanan grupta capsazepin'in VR-1'i baskılaması sonucu SP salınımını önlediği görülmüştür (68).

1. 1. 2. CAPSAİCİN'İN SİNDİRİM SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Gastrointestinal kanalda capsaicin'e duyarlı nöronların varlığı bilinmektedir (49). Bu nöronlardan başlıcaları afferent nöronlar olup gastrointestinal kanalda önemli fonksiyonları yerine getirmektedir. Capsaicinin, VR-1 veya TRPV1 olarak da bilinen spesifik reseptörlerinin aktivasyonu ile barsakta tüm vagal sinir tiplerini aktifleştirdiği tespit edilmiştir (36). Sıçanlarda gastrik lümenin capsaicin ile perfüze edilmesi ile capsaicin'nin bazal gastrik asit üretimini etkilemediği ancak, vagal sinir stimülasyonu sonucu oluşan asit sekresyonunu inhibe ettiği saptanmıştır (52).

Capsaicinin mide ve ince barsaktan hızlı bir şekilde emildiği ve uygulanan capsaicin dozunun yaklaşık %85'inin gastrointestinal kanaldan üç saat içinde absorbe edildiği bildirilmiştir. Capsaicinin gastrointestinal sistem boyunca taşındığı ve portal dolaşımdan pasif difüzyonla absorbe edildiği, genel dolaşıma ve ekstra hepatik organlara ulaşmadan önce ise karaciğerde metabolize edildiği öne sürülmüştür (59).

Capsaicinin etkilerinin doza ve süreye bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir. Kısa süreli uygulamasının mide dolaşımını uyardığı (37), düşük dozunun ise midede kan dolaşımını arttırdığı ve motor sinirlerinin işlevini azaltan duyu nöronlarını stimüle ettiği belirtilmiştir (87). Buna karşın yüksek dozunun nörotoksik etki yaptığı ve duyu nöropeptidlerinin salınımını sağlayan capsaicine duyarlı sinir sonlarının inaktivasyonuna neden olduğu öne sürülmüştür (50). Uzun süreli capsaicin uygulamasının ise midede toksik etki yapması ile nöronların kaybına neden olduğu ve rat midesinde VR-1'in immunoreaktivitesini azalttığı bildirilmiştir (75).

Uygun dozlarda capsaicin uygulanmasının barsaklarda peristaltik aktiviteyi düzenlediği bu etkiyi de, Ca^{+2} iyonlarının nöronlara alınımını kolaylaştırıcı özelliğe sahip olan TRPV1 ile etkileşimi sonucu yaptığı öne sürülmüştür (9). Capsaicinin kobay ileumunda kasılmaya neden olduğu ve insan ince ve kalın barsaklarında gevşemeyi arttırıcı etki yapmasının (37) yanında sıçan duodenumunda düz kasların kasılmasını sağladığı da bildirilmiştir (51).

Capsaicinin madde emilimi üzerine etkilerini saptamak amacıyla yapılan bir çalışmada (79), pasif difüzyonla absorbe edilen sefazolinin emilimine bakılmış ve capsaicinin bu antibiyotiğin ince barsakta emilimini arttırdığı görülmüştür. Bu işlevi de TRPV1 işbirliği ile gastrointestinal kanalda bulunan afferent nöronları aktiveleştirerek yaptığı belirtilmiştir (79).

1. 2. PLATELET KAYNAKLI BÜYÜME FAKTÖRÜ-C (PDGF-C)

PDGF-C, protein özellikte, 345 aminoasitten oluşan PDGF ailesinin son bulunan üyelerinden biridir (78). PDGF-C geni yaklaşık 200 kb uzunlukta mRNA'ya sahip olup farelerde dördüncü kromozom üzerine lokalize olduğu saptanmıştır (11, 12).

PDGF'nin kökeni 1970'lerden önce *in vitro* laboratuvar çalışmalarına dayanmaktadır (6). Bu çalışmalar sonucunda tavuk embriyo fibroblastlarının büyümesini arttıran kanın trombositler bakımından zengin olduğu bulunmuştur. 1974'te yapılan bir çalışmada (63), kan örneklerinde hücrelerin çoğalmasını arttıran bir madde bulunmuştur. 1979'da insan PDGF'si elde edilerek PDGF'nin glia hücrelerine bağlandığını ve BALB/3T3 hücrelerinde DNA replikasyonunu stimüle ettiği bildirilmiştir. Ayrıca, PDGF molekülünün iki farklı polipeptid tarafından oluşturduğu ve PDGF'nin A-zincir ve B-zincir heterodimer yapılarının disülfid bağlarla bağlandığı saptanmıştır (45). İlerleyen zamanlarda ise PDGF'lerin birçok farklı hücre tipi tarafından salgılandığı tespit edilmiştir (6).

PDGF-C, diğer PDGF'lerden farklı olarak (PDGF-D hariç) N-terminal CUB dimerlerine sahiptir. Bu CUB dimerlerinin görevi büyüme faktörlerinin işlevlerini düzenlemesi dışında tam olarak bilinmemektedir (30). Fakat CUB

dimerlerinin clr/cls, EGF benzeri protein ve kemik morfogolik protein-1'in buldukları alanlarda yüksek miktarda bulunduğu ve protein-protein, protein-karbonhidrat işbirliğini sağladığı bildirilmiştir (48). Ayrıca, arterlerde düz kas hücrelerinin çoğalmasında da PDGF-C'nin görev yaptığı düşünülmektedir (29).

PDGF-C, 6 eksona sahiptir. Ekson 1; sinyal ucu, ekson 2 ve 3; N-terminal CUB dimerleri, clr/cls, EGF-benzeri protein, kemik morfogolik protein-1'i, ekson 4; PDGF-D'de esas bölge olarak adlandırılan bölgeyi, ekson 5 ve 6'nın ise PDGF-homolog bölgeyi kodladığı belirtilmiştir (9). PDGF-C'nin embriyonik dönemde ilk salınımının endodermal dokular olduğu, erişkin dönemde ise tükrük bezi, akciğer, böbrek, mide, ince ve kalın barsak gibi çeşitli dokuların morfogenezisi boyunca salınımının olduğu saptanmıştır (46, 98). Ancak, kalp ve damar endotelinden az salındığı, serebellum hariç merkezi sinir sisteminden salınmadığı bildirilmiştir (46, 98). Farelerde embriyonik gelişimin 9,5'inci gününde ince barsaktan PDGF-C salınımının gerçekleştiği, gelişim ilerledikçe barsak çevresindeki mezenşim ile longitudinal ve sirküler kaslardan da salındığı saptanmıştır (30). Erişkin dokularda northern blotting analiz sonucunda ise PDGF-C oranının böbrekte yüksek, kalp, beyin, karaciğer ve testiste düşük olduğu tespit edilmiştir (1).

PDGF-C hem embriyonik hem de erişkin dokularda önemli fonksiyona sahiptir (78). Prenatal dönemde pdgf-c -/- farelerin ikinci damağın tamamen ayrılması sonucu solunum ve beslenme sorunlarından dolayı öldüğü görülmüştür (51). Yetişkinlerde ise fibroblastların çoğalması, epitel hücre göçü, vaskülarizasyon ve nötrofil infiltrasyonunun artmasını sağlayarak yara iyileşmesinde düzenleyici etkisi vardır (51).

PDGF-C'nin hücre çoğalmasını artırıp apoptozisi azaltarak tümörlerin oluşmasına neden olduğunun savunulmasının (78) yanında, her zaman tümöre neden olmadığı, örneğin; kalpte kardiyak hipertrofiye neden olabildiği öne sürülmüştür (65).

1. 3. PLATELET KAYNAKLI BÜYÜME FAKTÖRÜ RESEPTÖRÜ-ALFA (PDGFR- α)

PDGF reseptörlerinden biri olan PDGFR- α , farelerde dördüncü kromozom üzerinde bulunan (11), 170 kDa moleküler ağırlığa sahip ve 1089 aminoasitten oluşan protein özelliğine sahiptir (45). PDGFR- α , PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-CC gibi PDGF dimerlerini bağlar ve aktifleşmelerini sağlar (82).

İlk olarak 1981 yılında yapılan bir çalışmada (89), polipeptid zincirlerine homolog olan iki farklı aminoasit zinciri bulunmuştur. Bu aminoasitlerin deri fibroblastları, glia hücreleri ve düz kas hücrelerinde PDGF'ye bağlanan spesifik reseptörün olduğu belirtilmiştir (40). İnsan deri fibroblastlarında, glia hücrelerinde ve 3T3 hücrelerinde 164-185 kDa moleküler ağırlıkta PDGF reseptörleri belirlenmiştir (31). İlk PDGF reseptör cDNA dizini 1986'da fare fibroblast cDNA'sından klonlanmıştır (97). Özgül farklı bağlayıcı ligandlarla iki PDGF reseptörünün olduğu tespit edilmiş ve insan dermal fibroblastlarında 5,7 ve 4,8 kb olmak üzere farklı iki PDGF reseptörünün olduğu 1988'de bulunmuştur (44). İlk önce PDGF-BB ve PDGF-AB'yı bağlayabilen PDGFR- β , 1989'da ise PDGFR- α bulunmuştur (24). PDGFR- α 'nın embriyonik dönemde mezonefroz/gonad sınırından salınımının mevcut olduğu, yetişkin dönemde ise fibroblastlar ve düz kas hücreleri tarafından salındığı bildirilmiştir (45).

Barsağın embriyonik gelişim süresince barsakların şekilleneceği alanda ilk taslak olduğu andan itibaren PDGFR- α bulunduğu tespit edilmiştir (56). Villus, epitel ve kas gelişiminin olduğu alanda PDGF'lerden en fazla PDGF-A'nın salınımının olduğu PDGFR- α 'nın ise bu alanların yanı sıra mezenşimal hücrelerde de bulunduğu belirtilmiştir (56). Gelişimin ilerlemesiyle villus epiteli ile kript epitellerinde de PDGFR- α 'nın bulunduğu, postnatal dönemde ise embriyonik döneme oranla belirtilen alanlarda PDGFR- α miktarının azaldığı görülmüştür (56).

1. 4. İNCE BARSAK

İnce barsaklar genel olarak sindirimin tamamlandığı ve emilim olaylarının en üst düzeyde gerçekleştiği yerdir (39).

İnce barsaklar glanduler mukozaya sahip olup emilim yüzeyini arttıran özel yapılar içermektedir (33). Bunlar;

1. **Pilika sirkularis (Kerckring pilika);** mideden barsaklara geçince mukoza ince barsakların iç yüzünde kıvrımlar ya da katlanmalar gösterir. Tunika mukoza ve submukoza katmanlarının birlikte yaptığı bu mukoza kıvrımlarına pilika sirkularis veya kerckring pilikalari denir (39).
2. **Villus intestinalis;** ince barsakların lümene bakan yüzeyleri parmak benzeri mukoza çıkıntıları içerir. Bunlar villus intestinalis adını alır (39). Bu yapılar tek katlı prizmatik epitel ile döşeli olup ince barsağın proksimalinde daha belirgindir. Her bir villusun iç bağ dokusunda kan, lenf kapılları ve düz kas demetleri bulunur. Ortada ise tüp şeklinde merkezi lenf yarığı (merkezi kilus damarı) bulunur (33).
3. **Mikrovilluslar;** barsak villuslarının üzerini örten epitel hücrelerinin apikal yüzeyini kaplayan sitoplazmik uzantılardır (33).

İnce barsak duvarı lümeden itibaren tunika mukoza, tunika muskularis ve tunika seroza katmanlarını içerir (39).

1. **Tunika Mukoza;** lamina epiteliyalis, lamina propriya, lamina muskularis ve submukoza alt katmanlarını içerir (33).
- a. **Lamina epiteliyalis;** tek katlı yüksek prizmatik epitel hücrelerinden oluşur (39). Yapısında 6 tip hücre barındırır. Epiteldeki hücrelerin çoğunluğunu oluşturan prizmatik şekilli olan ve asıl işlevi son sindirim ürünlerinin ve suyun emilimi olan **emilim yapan hücreler** (epiteliocytus columnaris, enterosit) (33). Emilim yapan prizmatik hücreler arasında serpilmiş olarak bulunan **kadeh hücreleri** (exocrinocytus caliciformis, goblet hücresi); prizmatik epitel hücreleri arasında düzensiz olarak serpiştirilmiş olarak bulunurlar. Sayıları duodenumdan rektuma doğru gidildikçe artar. Bu hücreler salgıladıkları mukus ile barsakların başlangıç kısımlarında yüzeyi korumak son kısımlarında ise kayganlaştırmak görevi üstlenmişlerdir (özer). **Enteroendokrin hücreler** (endocrinocytus gastrointestinalis); ince barsak

hücre topluluğunun %1'ini oluştururlar. Sayıları duodenumdan ileuma doğru gidildikçe azalır. Gastrik inhibitör peptid, sekretin, motilin, kalesistokin gibi hormonları salgırlar (34). Kriptlerin alt bölgelerinde bulunan ve mitoz bölünme özellikleri yüksek olan **köken hücreler** (epitheliocytus nondifferentiatus); kadeh, paneth ve epitel hücrelerine farklanarak onların yenilenmesini sağlarlar (42). **Paneth hücreleri** (exocrincytuscum granulis acidophilicus); barsak bezlerinin tabanında bulunurlar. Bu hücreler epitelin lümene bakan yüzeyini patojen mikroorganizmalardan koruyan; tümör nekroz faktör α (TNF α), lizozim ve defensin gibi maddeleri salgırlar. Sayılarının artması patolojik olgu göstergesidir (33). **M hücreleri** (membran benzeri epitel hücreleri, microfold hücreler); Peyer plaklarının yüzeyini örten FAE (folikülle ilişkili epitel) hücrelerinin arasında bulunurlar. Barsak epitel hücreleri, M hücreleri, intraepiteliyal lökositler (lenfositler) ve makrofajları da içeren epitel örtüsü, folikülle ilişkili epitel (FAE) adını alır. Bu hücreler barsak lümeninden lamina propriyaya antijen taşıyan ve fagositoz yapan hücrelerdir. (33). M hücrelerinin ve barsak epitel hücrelerinin arasında intraepiteliyal lökositler (IELs) bulunur. M hücreleri makromolekül düzeyindeki intraluminal antijenleri luminal yüzeylerinden alıp, veziküller halinde dar olan sitoplazmalarından geçirerek bazal yüzeylerinden lamina propriyaya verirler (89).

- b. Lamina propriya;** kollagen ipliklerin yanında elastik ve retikulum ipliklerini de içeren, hücreden zengin bir bağ doku özelliğindedir. Bu bağ doku içinde intestinal kriptler (Lieberkühn kriptleri) olarak adlandırılan ve anüse kadar devam eden oluşumlar bulunur. Tubuler yapıdaki bu kriptleri oluşturan epitel hücrelerinin arasında yer yer kadeh hücrelerine rastlanır. Buradaki kadeh hücreleri de yüzey epitel hücreleri arasındakiler gibi ileriye doğru gidildikçe sayıca artarlar. İnce barsaklardaki kriptler, villusların dip kısımlarına ağızlanırlar. Lamina propriyada yer yer lenfosit infiltrasyonlarına ya da lenf foliküllerine rastlanır. Bunlar ya tek tek (soliter lenf folikülleri) ya da gruplar (agregat lenf folikülleri, peyer plakları) halindedir. Bunlar mukozayı lümene doğru kubbelendirirler (kubbeli bölge, Dom bölgesi) (89).
- c. Lamina muskularis;** içte sirküler dışta longitudinal olmak üzere iki katman halinde düz kas tellerinden meydana gelmiştir. Bu katmandan ayrılan kas

telleri lamina propriaya geçerek kripler arasında ve ince barsaklarda villusların uç kısmına kadar uzanırlar. İnce barsaklarda bu düz kasların kontraksiyonu sonucu villuslar kısalırlar. Mukozaya hareket kazandırarak bu motorik olgu sayesinde ince barsaklarda geri emilim ve sekresyon olaylarının birbirini izlemesini sağlarlar (39, 89).

d. Submukoza; Gevşek bağ dokudan oluşmuştur. Tek tek ya da gruplar halinde lenf folikülleri içerir. Barsak bölümlerinden sadece duodenumun başlangıç kısmında submukoza içinde bezler bulunur. Tubulo-alveolar özellikteki bu bezler glandule duodenalis (Brunner bezleri) adını alırlar. Bu bezler asit mide içeriğini nötralize eden salgı salgırlar. Salgının güçlü tampon kapasitesi sayesinde HCl'e karşı mukoza korozyondan korunur. Bunun yanında duodenal bezler, ürogastron yapımı ile midede HCl salgılanmasını engelleyerek ince barsakta kriple epitelinin proliferasyonunu hızlandırır (89).

2. Tunika muskularis; içte sirküler, dışta longitudinal yönlü düz kas tellerinden oluşan iki katman halindedir. Bu kas katmanlarının kasılma ve gevşeme hareketleri ile barsak peristaltığı oluşturulur. İki kas kamanı arasında pleksus myenterikusun yer aldığı ince bir bağ dokusu bulunur (39).

3. Tunika seroza; dıştan mezotel hücreleri ile sarılan gevşek bağ doku yapısındadır (özer). Kan ve lenf damar girişleri ile damar ağlarını içerir (33).

Bu çalışma, capsaicin'in oral ve enjeksiyon yoluyla uygulandığı sıçanların ince barsak dokusunda, villus uzunlukları, kriple derinlikleri ile villus ve kriplerde bulunan kadeh hücre sayıları ile PDGF-C ve PDGFR- α 'nın salınımı üzerine etkisinin araştırılması amacıyla yapıldı.

2. MATERYAL ve METOT

Bu çalışma, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Çalışmaya başlamadan önce Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (Karar no: 11.06.2009/04) onay alındı.

2. 1. Materyal

2. 1. 1. Hayvan Materyali ve Bakım Koşulları

Çalışmada 50 günlük, 30 adet *Sprague dawley* ırkı dişi sıçan kullanıldı. Hayvanlar 1. grup (sham), 2. grup (oral) ve 3. grup (enjeksiyon) olmak üzere her grupta 10 adet olacak şekilde üç gruba ayrıldı. Kullanılan deney hayvanları Erzurum Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Merkezinden temin edildi. Standart sıçan yemi ile *ad libitum* olarak beslendi. İçme suyunu serbest olarak tüketmeleri sağlandı. Sıçanlar, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık, 20-22°C sıcaklık ve ortalama %50±5 nem içeren standart kafeslerde barındırıldı.

2. 2. Metot

2. 2. 1. Capsaicin Uygulaması

1. grupta bulunan sıçanlara % 10 ethanol, % 1 Tween 20 ve % 80 distile su içeren karışım hayvanın ağırlığına göre insulin enjektörü yardımıyla bir hafta süre ile her gün subkutan yolla enjekte edildi. 2. grupta bulunan sıçanlara içtikleri su miktarı önceden belirlenerek sıçanların ağırlıkları tartılıp, capsaicin 1 mg/kg (70, 93) olacak şekilde her bir deney hayvanının içtiği suya ilave edildi. 3. grupta bulunan sıçanlara ise oral grubunda olduğu gibi her bir hayvanın ağırlığı önceden tartılarak, sıçanlara 1 mg/kg dozdaki capsaicin, % 10 ethanol içinde çözdürüldükten sonra % 1 Tween 20 ve % 80 distile su ilave edilerek günlük olarak hazırlanan capsaicin daha sonra subkutan olarak hayvanın günlük ağırlığına göre insülin enjektörü yardımıyla bir hafta süreyle her gün aynı saatte enjekte edildi. Tüm gruplara bir haftalık enjeksiyondan sonra bir hafta ara verildi (93).

2. 2. 2. Canlı Ağırlık Ölçümü

Uygulamaya başlandığı ilk gün ile ötenazi işleminden hemen önce (14. gün) tüm gruplardaki hayvanlar tartıldı. Hayvanlar hareket edemeyecekleri ve darası alınmış bir kap içerisine konularak hassas dijital terazide tartıldı. Uygulama bittikten sonra ise ötenazi edilmeden hemen önce gruplar arasında canlı ağırlıklarının istatistiksel olarak değerlendirmesi amacıyla aynı şekilde ağırlıkları ölçüldü.

2. 2. 3. Doku Örneklerinin Alınması

Tüm gruplara bir haftalık enjeksiyondan sonra bir hafta ara verildi ve süre bitiminde tüm çalışma gruplarındaki sıçanlar canlı vücut ağırlıkları tartıldıktan sonra dietil eter anestezisi altında servikal dislokasyonla ötenazi edilerek duodenum, jejunum ve ileumdan doku örnekleri alındı.

2. 2. 4. Histolojik İncelemeler

İnce barsağın histolojik olarak genel yapısını incelemek için alınan doku örnekleri Bouin solüsyonunda tespit edildi. Dereceli alkoller, metil benzoat ve benzol serilerinden geçirilerek parafinde bloklandı. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Kesitlere Crossman'ın üçlü boyama (Triple boyama) yöntemi uygulandı (67). Hazırlanan preparatlar BX-051 Olympus marka araştırma mikroskobunda incelenerek fotoğrafları çekildi.

2. 2. 5. İmmunohistokimyasal İncelemeler

İnce barsakta PDGF-C ve PDGFR-α'nın varlığını immunohistokimyasal olarak belirlemek için Streptavidin-Biotin-Peroksidaz tekniği uygulandı (90). 4 µm kalınlığında alınan kesitler deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden geçirildi. Fosfat buffered salin (PBS) (0.1 M, 7.2 PH) ile yıkanmalarının ardından endojen peroksidaz aktivitesini inhibe etmek için %3'lük H₂O₂ ile 15 dk inkube edildi. Kesitler PBS'le yıkanmalarının ardından antijenik reseptörlerin açığa çıkarılması amacı ile sitrat buffer solusyonunda (pH 6.0) mikrodalga (800 watt, 10 dakika) ile işleme tabi tutuldu. Daha sonra kesitler oda sıcaklığında poliklonal goat anti-PDGF-C (1:50) (Santa Cruz, SC18228) ve poliklonal rabbit anti-PDGFR-α (1:400) (Santa Cruz, SC338) antikoları ile 1 saat inkübasyona bırakıldı. Dokuların PBS ile yıkanmalarının ardından kullanılan primer antikora göre biotinlenmiş goat anti rabbit (PDGFR-α uygulanan kesitler için; 1/300; Dako, Carpinteria USA) ve rabbit anti goat

(PDGF-C uygulanan kesitler için; 1/300; Dako, Carpinteria, USA) immunglobulin G ile 30 dk inkübe edildi. Ardından, tüm kesitler PBS ile yıkanarak peroksidaz bağlanmış streptavidin (1/300; Dako) ile 30 dakika inkübe edildi. Doku kesitlerine renk ortaya çıkarıcı substrat olarak fosfatlı buffer solusyonunda çözdürülen 3.3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride kromojen solüsyonu (DAB, Lab Vision Corp, California, USA) kontrollü olarak uygulandı. Kesitlerin çeşme suyu ile yıkanmalarının ardından zıt boyama için hematoksilin solüsyonu kullanıldı. Bu işlemde sonra kesitler dehidrasyon ve saydamlaştırma işlemlerinden geçirildikten sonra kapatıldı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekildi.

İmmunohistokimyasal boyamanın spesifik olup olmadığını tespit etmek amacı ile sham, oral ve enjeksiyon gruplarından alınan ince barsak kesitlerine bütün işlemler aynı olmak koşulu ile primer antikor ilave edilmeksizin (negatif kontrol) diğer işlemler aynen uygulandı.

Hücrelerdeki PDGF-C ve PDGFR- α immunoreaktivitesi, boyanmanın koyuluk derecesine göre semikantitatif yöntemle skorlandı (7). (Tablo 1).

Tablo 1. Hücrelerdeki PDGF-C ve PDGFR- α immunoreaktivitesinin derecelendirilmesi.

Hücrelerdeki reaksiyon Derecesi	Semboller
Çok yoğun reaksiyon	+++++
Yoğun reaksiyon	++++
Orta derecede reaksiyon	+++
Hafif reaksiyon	++
Çok hafif reaksiyon	+
Reaksiyon yok	-

2. 2. 6. Morfometrik Ölçümler ve İstatistiksel Analizler

Tüm gruplar arasında ince barsaklardaki villus uzunlukları, kript derinlikleri ve kadeh hücre sayıları bakımından farkın olup olmadığını saptamak amacıyla yapılan mikrometrik ölçümler ve sayımlar BX-051 Olympus marka araştırma mikroskobuna uyarlanan oküler mikrometre yardımıyla yapıldı. Her bir hayvana ait duodenum, jejunum ve ileumdan seri olarak alınan altışar kesitin her birinden rastgele seçilen beş villusta, villus uzunluğu, kript derinliği, villuslarda ve kriptlerde bulunan kadeh hücre sayıları belirlendi (15). Villus uzunluğu; X10'luk objektif zeminde villusun uç kısmından villus-kript birleşim yerine kadar ölçülerek (95), kript derinliği; X40'luk objektif zeminde kriptlerin uç noktaları arasındaki mesafe ölçülerek (32), villuslarda ve kriptlerde bulunan kadeh hücresi sayısı ise X10 ve X40'luk objektif zeminde direkt olarak sayılarak belirlendi (32). Gruplar arasında canlı ağırlık ölçümleri, villus uzunlukları, kript derinlikleri, kadeh hücre sayıları ile ilgili verilerin istatistiki olarak karşılaştırılması için Statistical Package for Social Sciences 15.0 (SPSS) programı (84) kullanıldı. Olası farklılıklar, ANOVA ve t-testleri kullanılarak tespit edildi. İstatistik analizlerde güven aralığı 0.05 olarak belirlendi.

3. BULGULAR

3.1. Canlı Ağırlık Bulguları

1. grupta, canlı ağırlık bakımından anlamlı ($P<0,05$) bir artışın olduğu tespit edildi. 2. grupta canlı ağırlığının ilk güne kıyasla azaldığı ve bu azalmanın $P<0,05$ 'e göre anlamlı olduğu görüldü. 3. grupta ise 2. gruba benzer olarak ilk gün ile 14. gün arasında anlamlı bir azalma olduğu ($P<0,05$) saptandı. İstatistiksel veriler ışığında, capsacin uygulanmasının canlı ağırlığında azalmaya neden olduğu tespit edildi. Gruplar arasında canlı ağırlıklarının karşılaştırılması tablo 2'de verildi.

Tablo 2. Gruplar arasında canlı ağırlıkların karşılaştırılması (gr).

Gruplar	Sayı (n)	Aritmetik ortalama \pm SD	Sig.	P
1. grup 1. gün	10	129,30 \pm 9,70	0,001	**
1. grup 14. gün	10	163,40 \pm 14,83		
2. grup 1. gün	10	142,20 \pm 12,59	0,041	**
2. grup 14. gün	10	126,40 \pm 12,08		
3. grup 1. gün	10	163,00 \pm 10,79	0,025	**
3. grup 14. gün	10	147,80 \pm 9,15		

** $P<0.05$. (SD=Standart Sapma, Sig.=Anlamlılık)

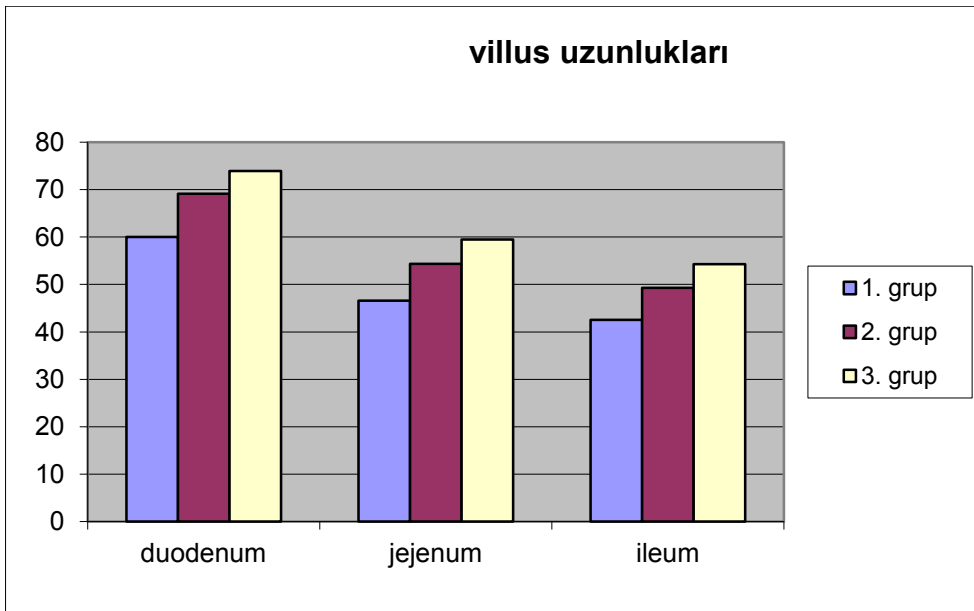
3. 2. Villus Uzunlukları

Tüm gruplar villus uzunlukları bakımından karşılaştırıldığında gruplar arasında fark olduğu ve bu farkın $P<0,05$ 'e göre anlamlı olduğu tespit edildi. Gruplar arasında özellikle 3. grupta, 1. ve 2. gruplara göre villus uzunluğunda artış olduğu görüldü. Villus uzunluğunun gruplar arasında karşılaştırılması tablo 3 ve grafik 1'de verildi.

Tablo 3. Gruplar arasında villus uzunluğunun karşılaştırılması (μm).

Gruplar	n	Duodenum		Jejunum		İleum	
1. grup	300	60,02±5,15	a	46,59±4,98	a	42,57±5,39	a
2. grup	300	69,15±8,49	b	54,37±6,70	b	49,27±6,12	b
3. grup	300	73,96±7,45	c	59,46±6,02	c	54,27±6,13	c
P			**		**		** $P<0.05$

a, b, c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir. ($P<0,05$)



Grafik 1. Gruplar arasında villus uzunluğunun karşılaştırılması. (** $P<0.05$)

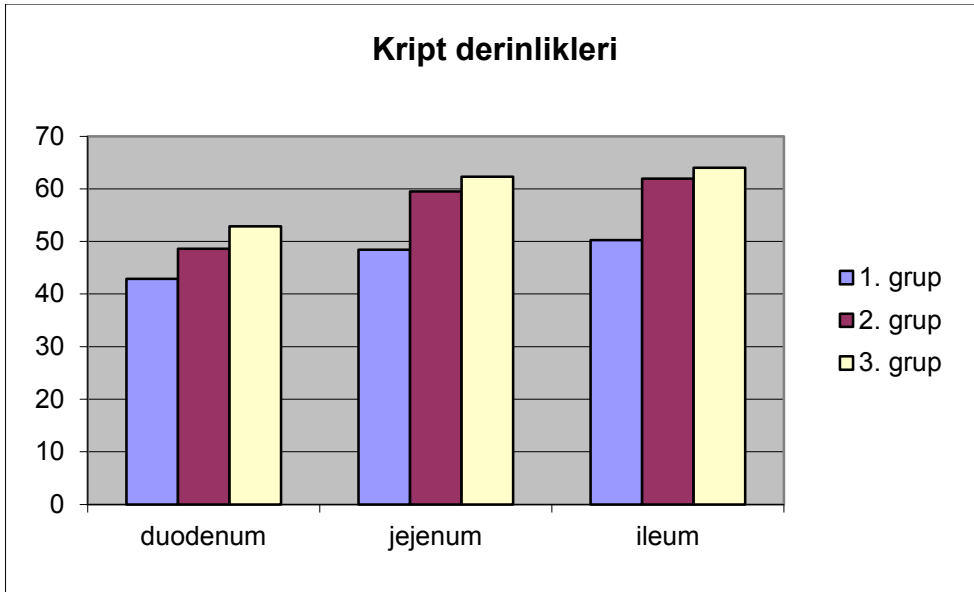
1. 3. Kript Derinlikleri

Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda kript derinlikleri bakımından her üç grup arasında fark olduğu ve bu farkın $P<0.05$ 'e göre anlamlı olduğu tespit edildi. Özellikle 3. grubun kript derinliğinin 1. ve 2. gruplara göre artış gösterdiği dikkati çekti. Gruplar arasında kript derinliğinin karşılaştırılması tablo 4 ve grafik 2'de verildi.

Tablo 4. Gruplar arasında kript derinliğinin karşılaştırılması (μm).

Gruplar	n	Duodenum		Jejunum		İleum	
1. grup	300	42,88±7,29	a	48,44±5,49	a	50,22±4,08	a
2. grup	300	48,62±7,20	b	59,52±8,49	b	61,96±7,99	b
3. grup	300	52,99±8,65	c	62,30±7,99	c	64,02±6,35	c
P			**		**		** $P<0.05$

a, b, c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir. ($P<0,05$)



Grafik 2. Gruplar arasında kript derinliğinin karşılaştırılması. (** $P<0.05$)

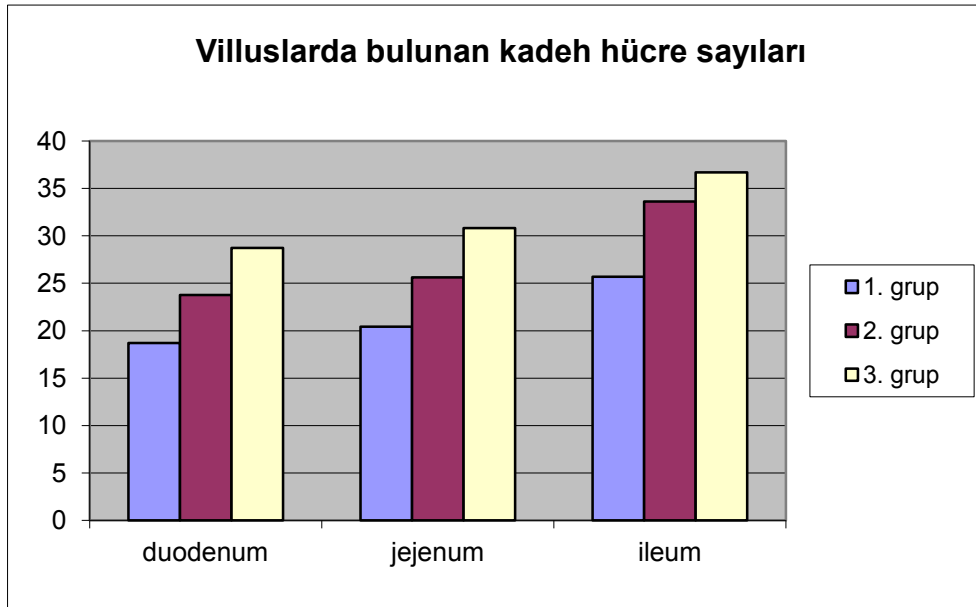
3. 4. Villuslarda Bulunan Kadeh Hücre Sayısı

Her üç grupta ince barsak villuslarında bulunan kadeh hücre sayısı bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark olduğu saptandı ($P<0.05$). 3. grubun villuslarında bulunan kadeh hücre sayısının 1. ve 2. gruplara göre arttığı tespit edildi. Gruplar arasında villuslarda yer alan kadeh hücre sayılarının karşılaştırılması tablo 5 ve grafik 3'te verildi.

Tablo 5. Gruplar arasında villuslarda yer alan kadeh hücre sayılarının karşılaştırılması.

Gruplar	n	Duodenum		Jejunum		İleum	
1. grup	300	18,72±3,44	a	20,44±2,80	a	25,70±4,73	a
2. grup	300	23,78±4,07	b	25,62±2,79	b	33,64±7,49	b
3. grup	300	28,74±5,45	c	30,81±3,88	c	36,69±5,87	c
P			**		**		** P<0.05

a, b, c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir. ($P<0,05$)



Grafik 3. Gruplar arasında villuslarda yer alan kadeh hücre sayılarının karşılaştırılması. (** $P<0.05$)

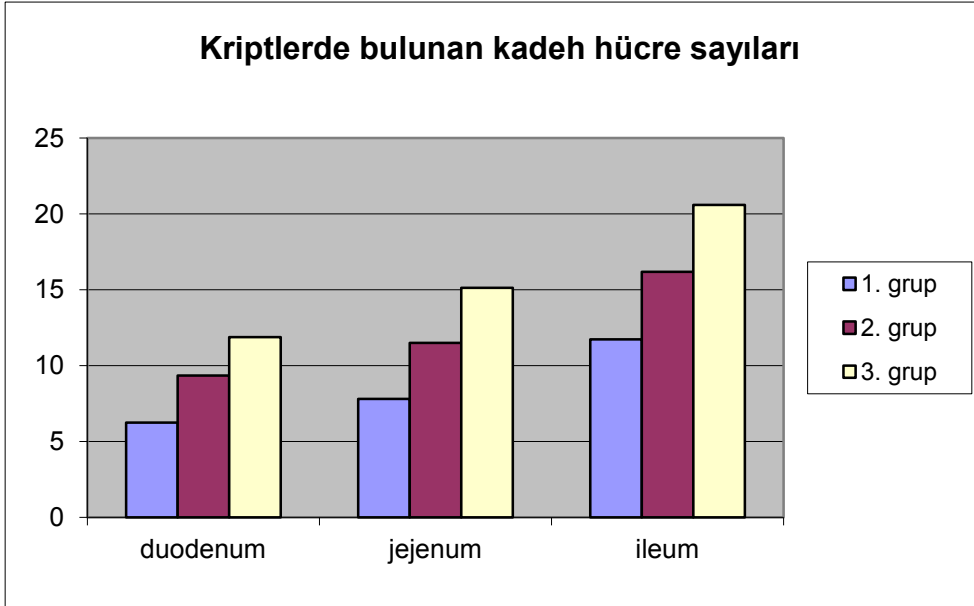
3. 5. Kriptlerde Bulunan Kadeh Hücre Sayısı

Her üç grup arasında kriptlerde bulunan kadeh hücre sayıları bakımından anlamlı bir fark olduğu tespit edildi ($P<0.05$). 3. grubun kriptlerinde yer alan kadeh hücre sayısının 1. ve 2. gruplara göre arttığı görüldü. Gruplar arasında kriptlerde yer alan kadeh hücre sayılarının karşılaştırılması tablo 6 ve grafik 4'te verildi.

Tablo 6. Gruplar arasında kriptlerde yer alan kadeh hücre sayılarının karşılaştırılması.

Gruplar	n	Duodenum		Jejunum		İleum	
1. grup	300	6,25±1,50	a	7,80±1,63	a	11,74±3,50	a
2. grup	300	9,34±1,20	b	11,50±2,08	b	16,19±3,88	b
3. grup	300	11,87±2,54	c	15,12±2,63	c	20,59±5,08	c
P			**		**		** $P<0.05$

a, b, c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir. ($P<0,05$)



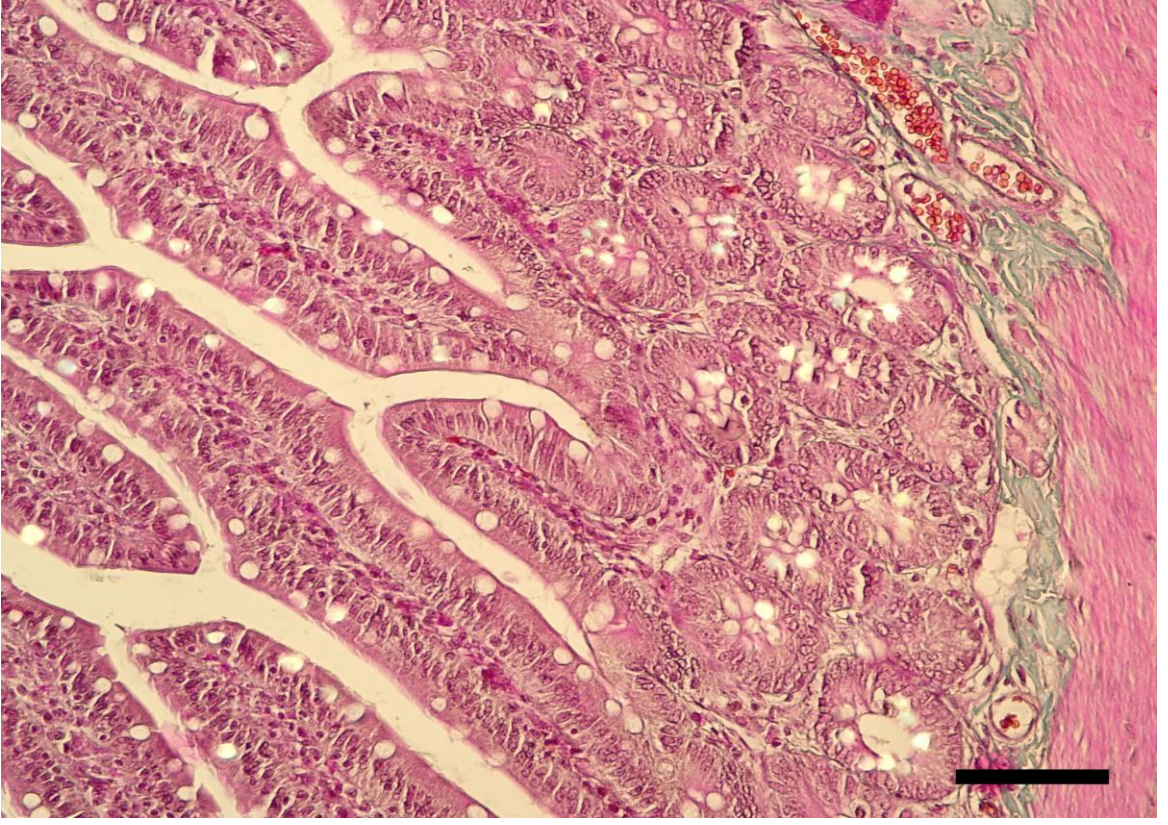
Grafik 4. Gruplar arasında kriptlerde yer alan kadeh hücre sayılarının karşılaştırılması. (** $P<0.05$)

3. 6. Histolojik Bulgular

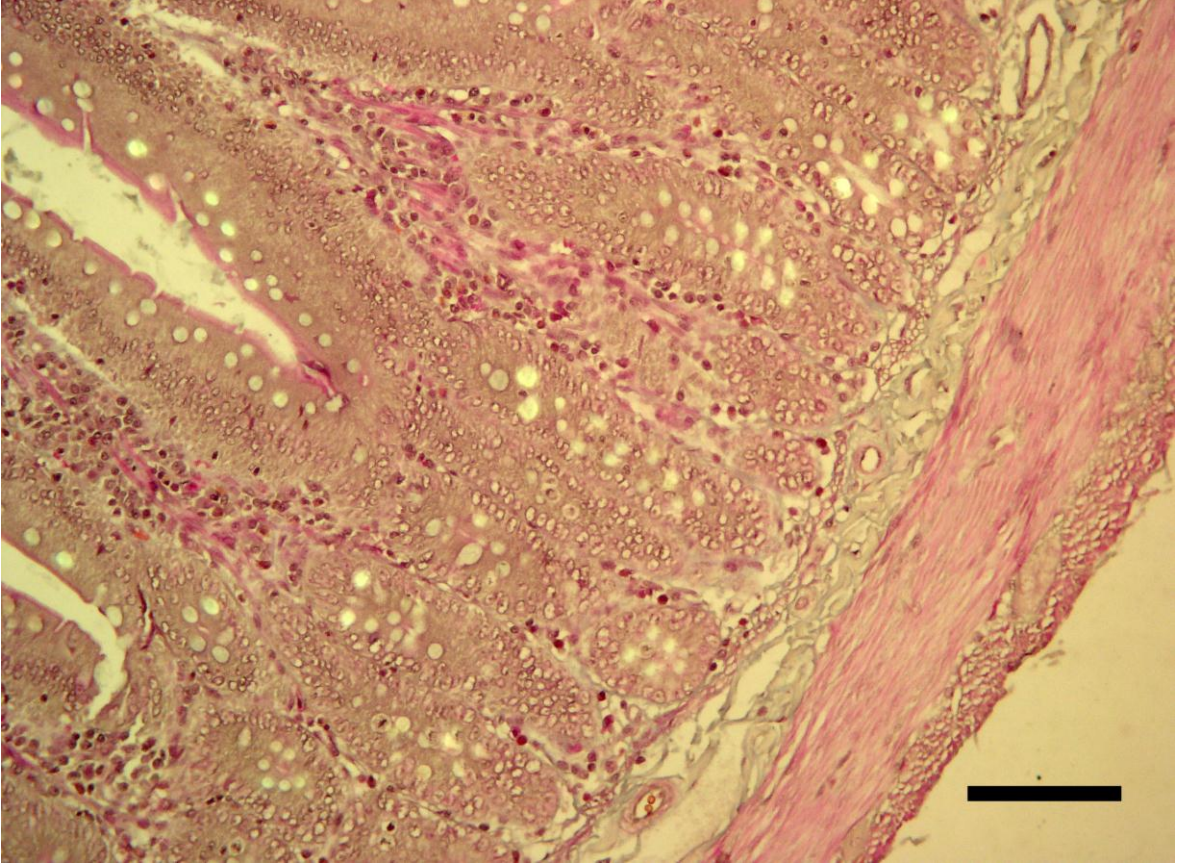
Mikroskopik incelemeler sonucunda, tüm grupların duodenum, jejunum ve ileum dokularında villuslar ve villus epitel hücrelerinde, villus ve kriplerde yer alan kadeh hücrelerinde, lamina propriyanın bağ dokusu ve bu katmanda yer alan kriplerde, lamina muskularis, submukoza, tunika muskularis ve tunika seroza katmanlarında histolojik yapıların normal özelliklere sahip olduğu tespit edildi (Şekil 1, 2, 3).



Şekil 1. 1. grup. Duodenumun genel görünümü. Triple boyama. (Bar=100 µm).



Şekil 2. 2. grup. Jejunumun genel görünümü. Triple boyama. (Bar=100 µm).



Şekil 3. 3. grup. İleumun genel görünümü. Triple boyama. (Bar= 100 µm).

3. 7. İmmunohistokimyasal Bulgular

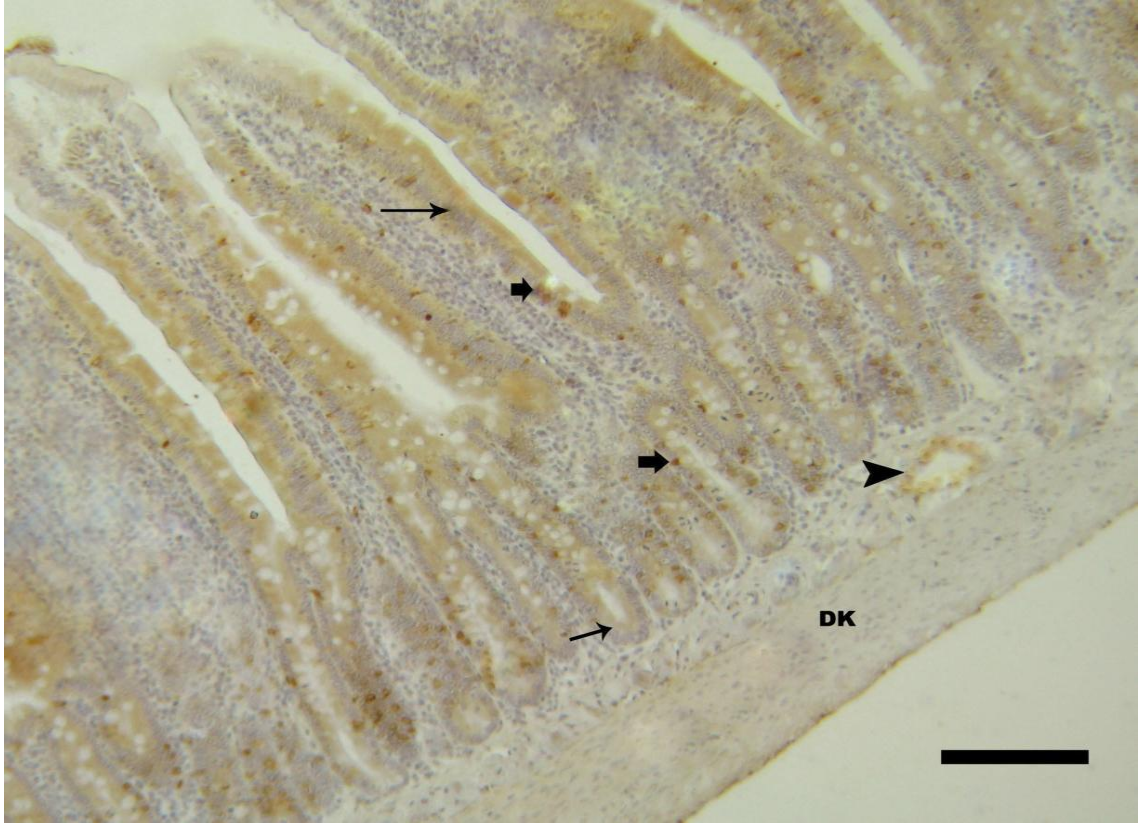
Tüm grupların ince barsak dokularında spesifik PDGF-C ve PDGFR- α reaksiyonu görüldü. Ancak, PDGF-C ve PDGFR- α immunoreaktivite derecesi bakımından gruplar arasında farklılıkların olduğu dikkati çekti.

3. 7. 1. Duodenumda PDGF-C immunoreaktivitesi

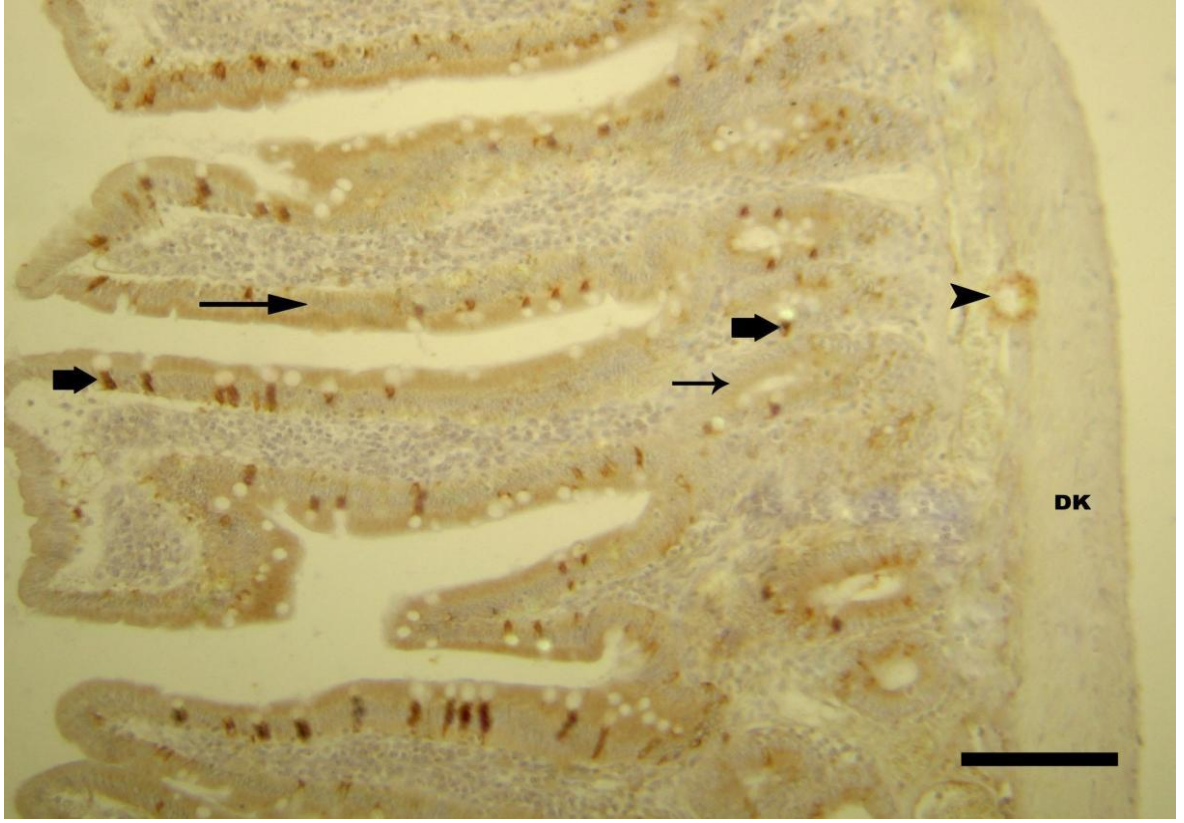
Tüm grupların villus epitel hücrelerinde hafif sitoplazmik reaksiyon görüldü. 1. grup kadeh hücrelerinde orta derecede nüklear özellikte reaksiyon görülürken 2. ve 3. gruplarının kadeh hücrelerinde yoğun nüklear reaksiyon dikkati çekti. Tüm grupların kript epitel hücrelerinde hafif reaksiyon görüldü. Damar endotel hücrelerinde 1. grupta çok hafif, 2. grupta hafif ve 3. grupta ise çok yoğun sitoplazmik reaksiyon görüldü. Düz kas hücrelerinde, 1. ve 3. gruplarda çok hafif, 2. grupta ise reaksiyon olmadığı tespit edildi (Tablo 7, Şekil 4, 5, 6).

Tablo 7. Sıçan duodenumunda PDGF-C immunoreaktivitesinin semikantitatif analiz sonuçları.

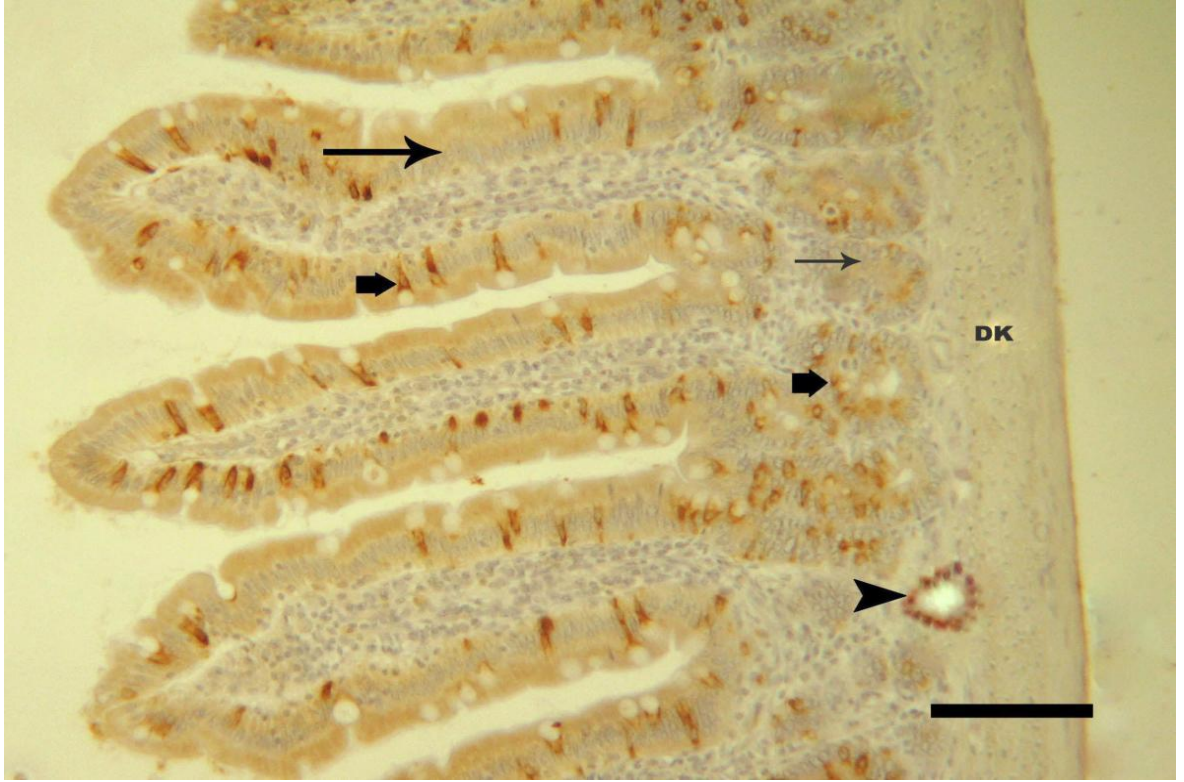
Duodenum (PDGF-C)	1. grup	2. grup	3. grup
Villus epitel hücreleri	++	++	++
Kadeh hücreleri	+++	++++	++++
Kript epitel hücreleri	++	++	++
Damar endotel hücreleri	+	++	+++++
Düz kas hücreleri	+	-	+



Şekil 4. 1. grup. Duodenumda PDGF-C immunoreaktivitesi. Uzun ok: villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başı: endotel hücresi, DK: düz kas hücreleri. (Bar= 200 µm).



Şekil 5. 2. grup. Duodenumda PDGF-C immunoreaktivitesi. Uzun ok: villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başı: damar endotel hücresi, DK: düz kas hücreleri. (Bar= 200 µm).



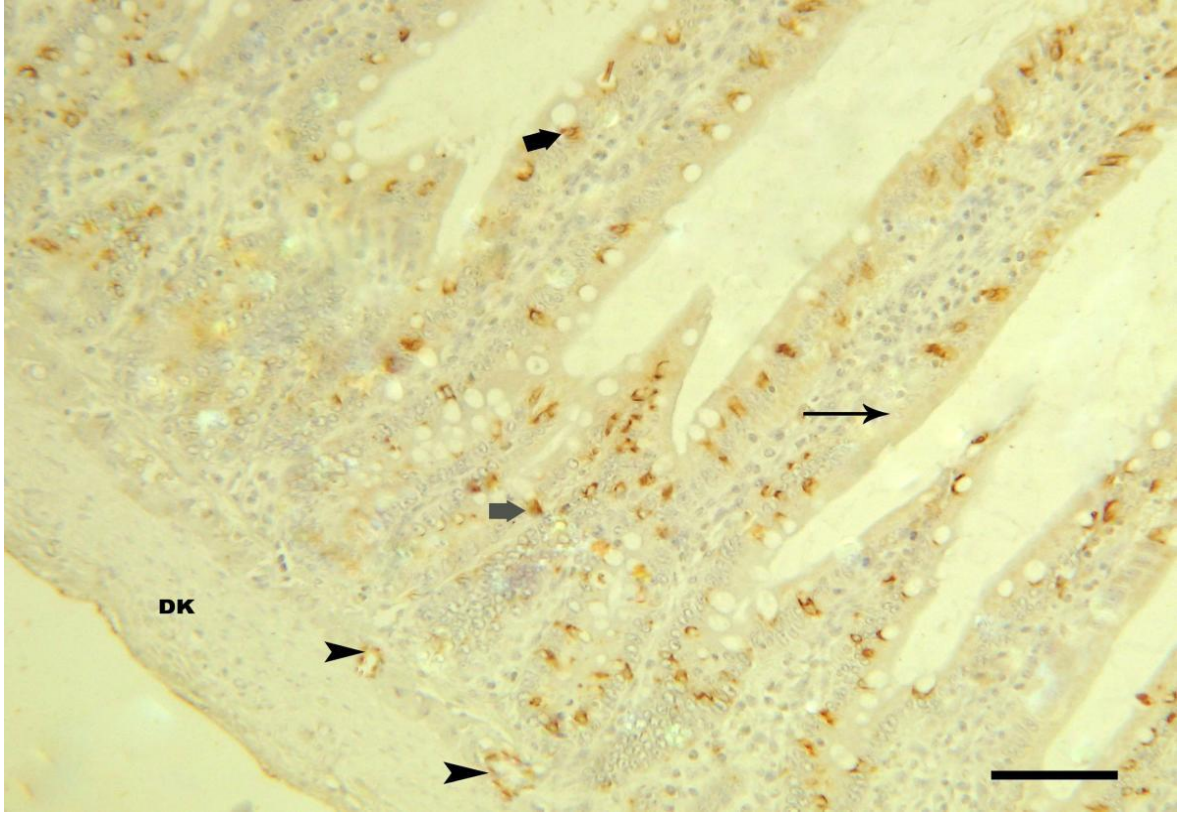
Şekil 6. 3. grup. Duodenumda PDGF-C immunoreaktivitesi. Uzun ok: villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başı: damar endotel hücresi, DK: düz kas hücreleri. (Bar= 200 µm).

3. 7. 2. Jejunumda PDGF-C immunoreaktivitesi

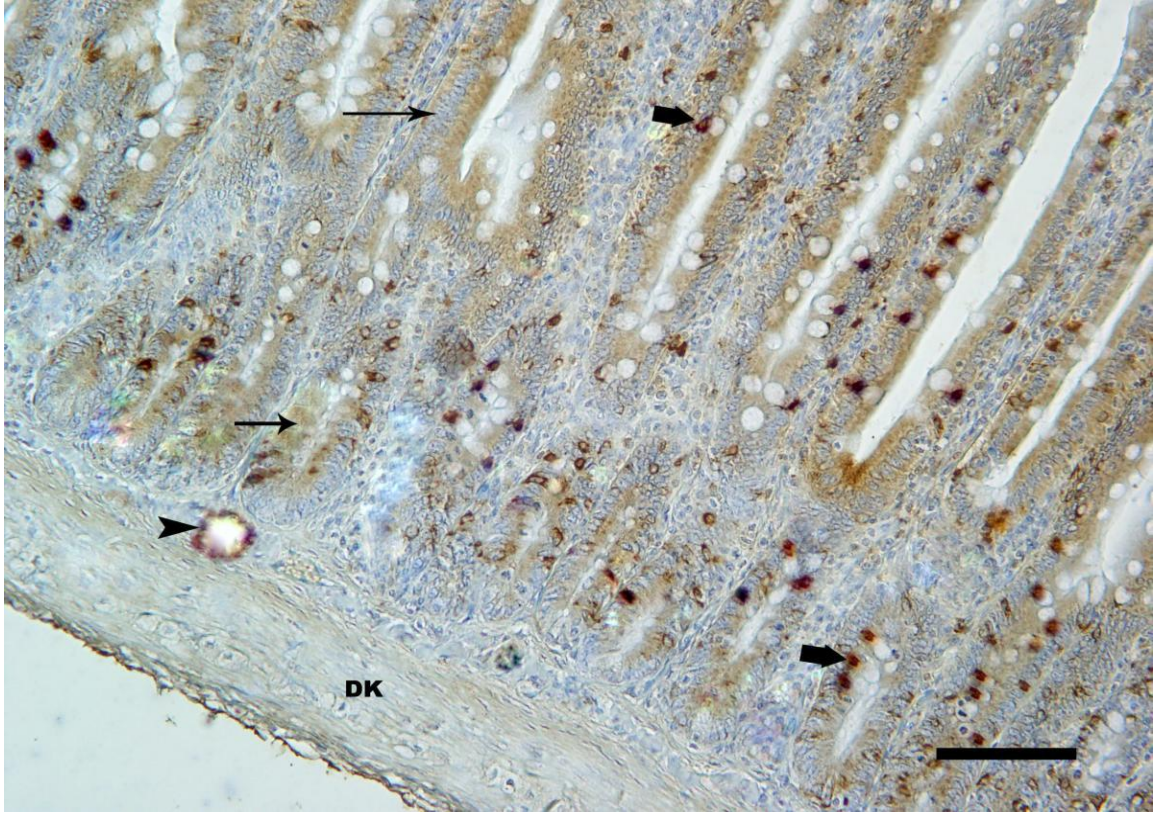
1. grup villus epitel hücrelerinde çok hafif sitoplazmik reaksiyon görülürken 2. ve 3. grupların villus epitel hücrelerinde orta derecede sitoplazmik reaksiyon görüldü. 1. grup kadeh hücrelerinde hafif nükleer, 2. ve 3. gruplarda ise çok yoğun nükleer reaksiyon tespit edildi. Kript epitel hücrelerinde 1. grupta çok hafif sitoplazmik, 2. ve 3. gruplarda orta derecede sitoplazmik reaksiyon görüldü. Damar endotel hücrelerinde 1. grupta hafif sitoplazmik, 2. ve 3. gruplarda ise yoğun sitoplazmik reaksiyon görüldü. 1. grup düz kas hücrelerinde 1. ve 2. gruplarda reaksiyon görülmezken 3. grupta çok hafif reaksiyon dikkati çekti (Tablo 8, Şekil 7, 8, 9).

Tablo 8. Sıçan jejunumunda PDGF-C immunoreaktivitesinin semikantitatif analiz sonuçları.

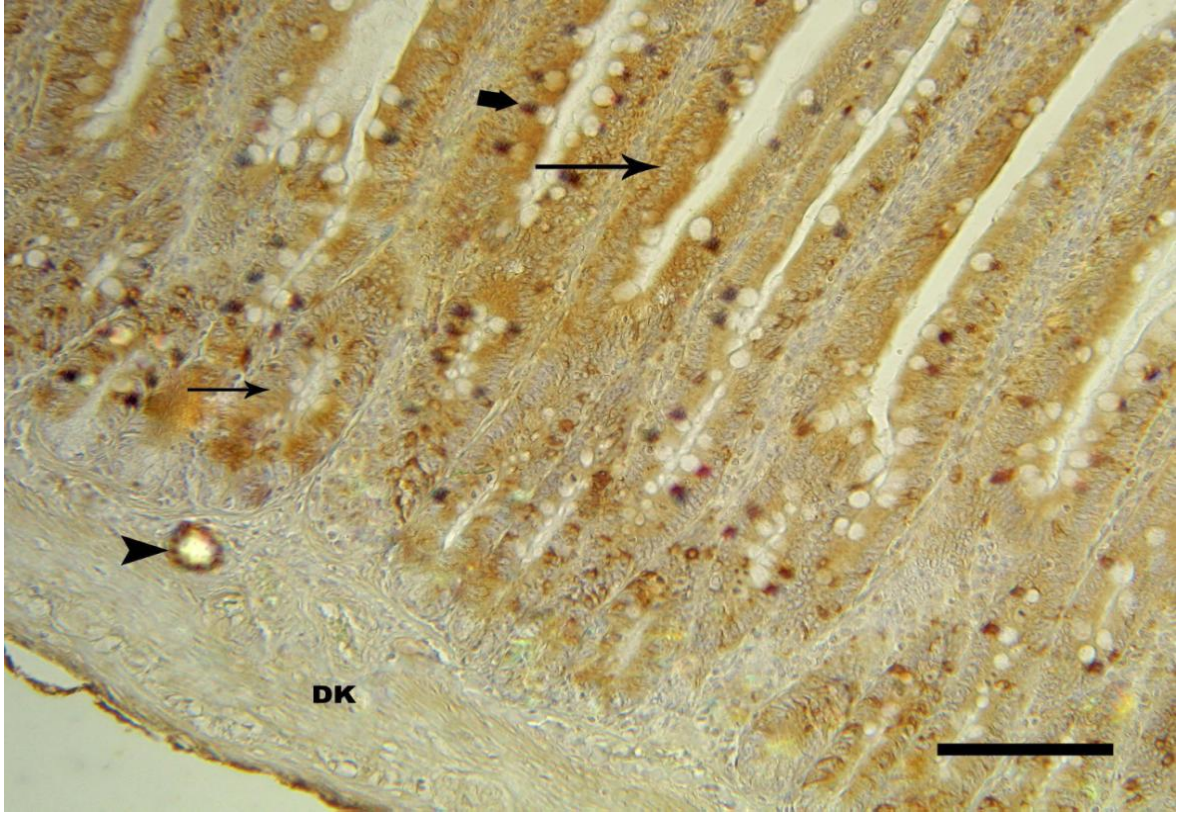
Jejunum (PDGF-C)	1. grup	2. grup	3. grup
Villus epitel hücreleri	+	+++	+++
Kadeh hücreleri	++	+++++	+++++
Kript epitel hücreleri	+	+++	+++
Damar endotel hücreleri	++	++++	++++
Düz kas hücreleri	-	-	+



Şekil 7. 1. grup. Jejunumda PDGF-C immunoreaktivitesi. Uzun ok: villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başları: damar endotel hücreleri, DK: düz kas hücreleri. (Bar=200 µm).



Şekil 8. 2. grup. Jejunumda PDGF-C immunoreaktivitesi. Uzun ok: villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başı: damar endotel hücresi, DK: düz kas hücreleri. (Bar= 200 µm).



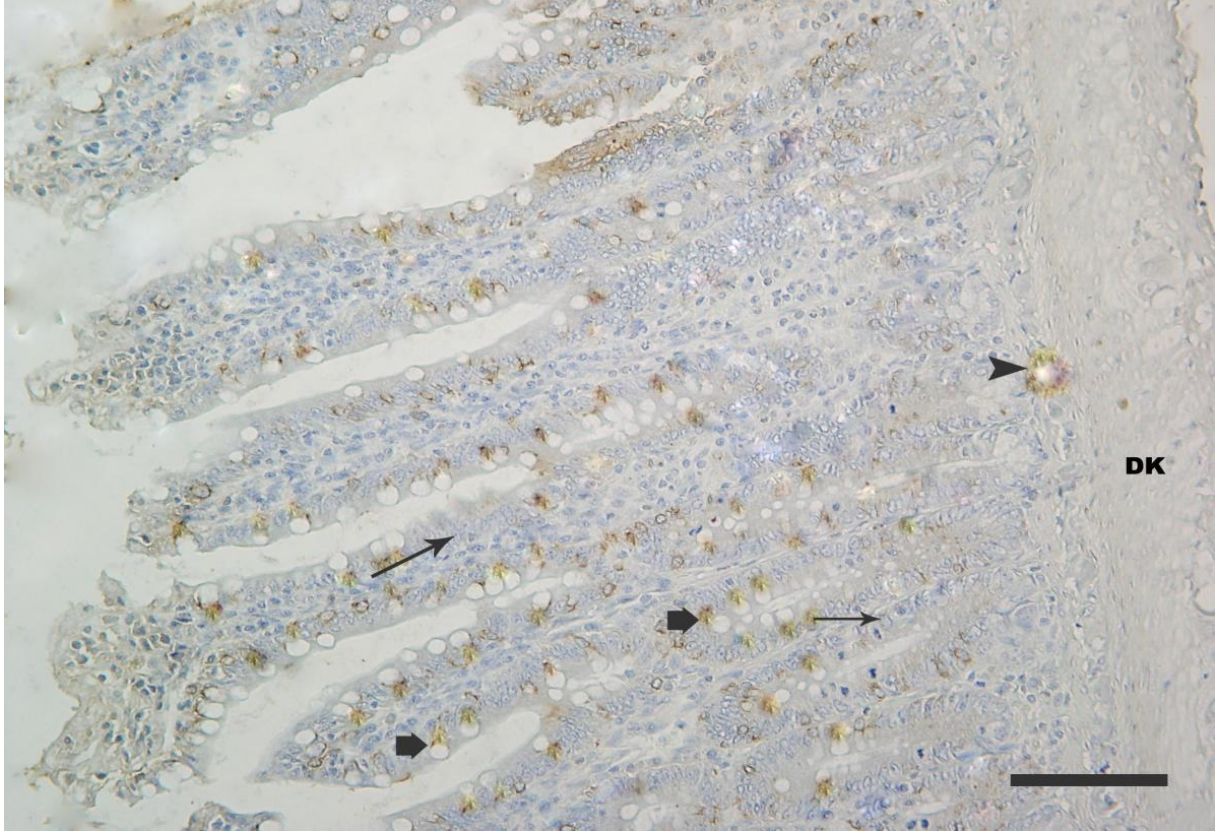
Şekil 9. 3. grup. Jejunumda PDGF-C immunoreaktivitesi. Uzun ok: villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başı: damar endotel hücresi, DK: düz kas hücreleri. (Bar= 200 µm).

3. 7. 3. İleumda PDGF-C immunoreaktivitesi

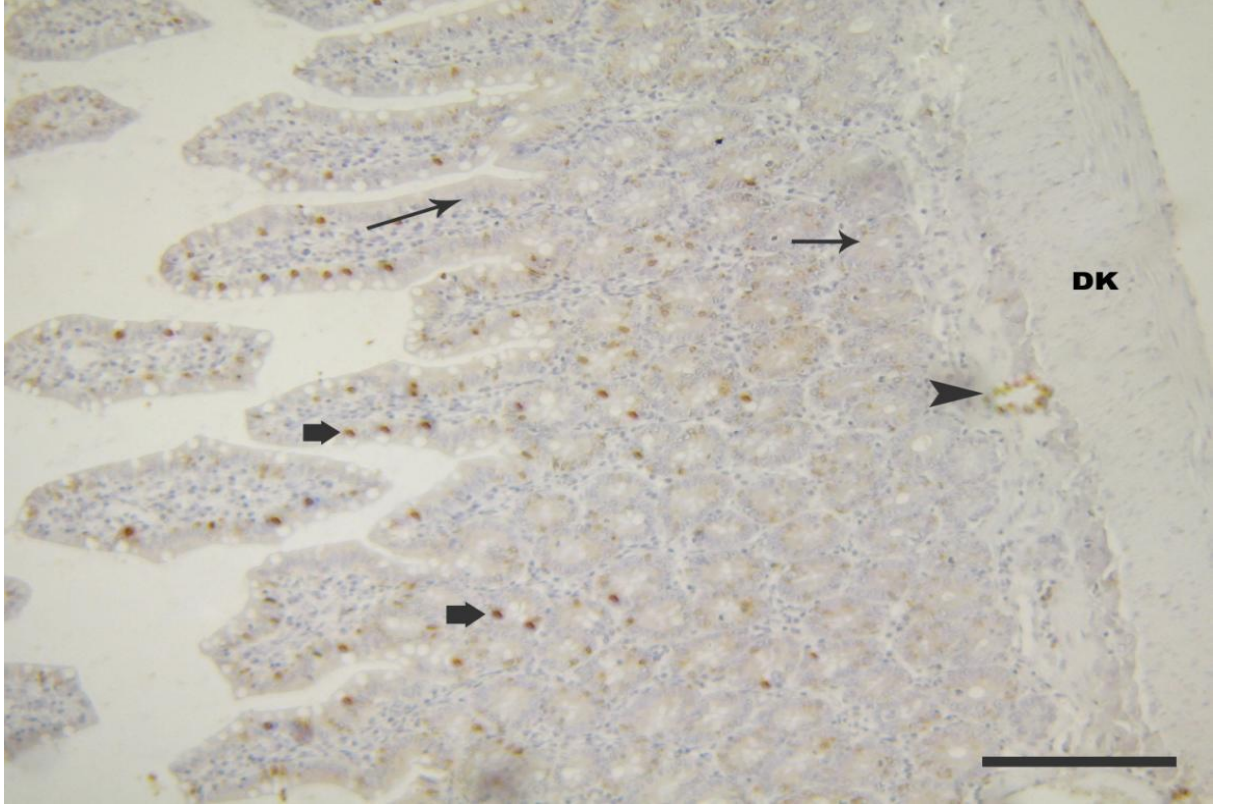
1. ve 2. grupların villus epitel hücrelerinde çok hafif sitoplazmik reaksiyon görülürken, 3. grupta hafif sitoplazmik reaksiyon tespit edildi. 1. grup kadeh hücrelerinin hafif nüklear, 2. grubun yoğun nüklear ve 3. grubun ise çok yoğun nüklear reaksiyona sahip olduğu tespit edildi. Kript epitel hücrelerinde 1. ve 2. grupların çok hafif sitoplazmik, 3. grubun ise hafif sitoplazmik reaksiyonun olduğu görüldü. 1. grup damar endotel hücrelerinde hafif, 2. grupta orta, 3. grupta ise çok yoğun reaksiyon görüldü. Düz kas hücrelerinde ise sadece 3. grupta çok hafif reaksiyonun olduğu dikkati çekti (Tablo 9, Şekil 10, 11, 12).

Tablo 9. Sıçan ileumunda PDGF-C immunoreaktivitesinin semikantitatif analiz sonuçları.

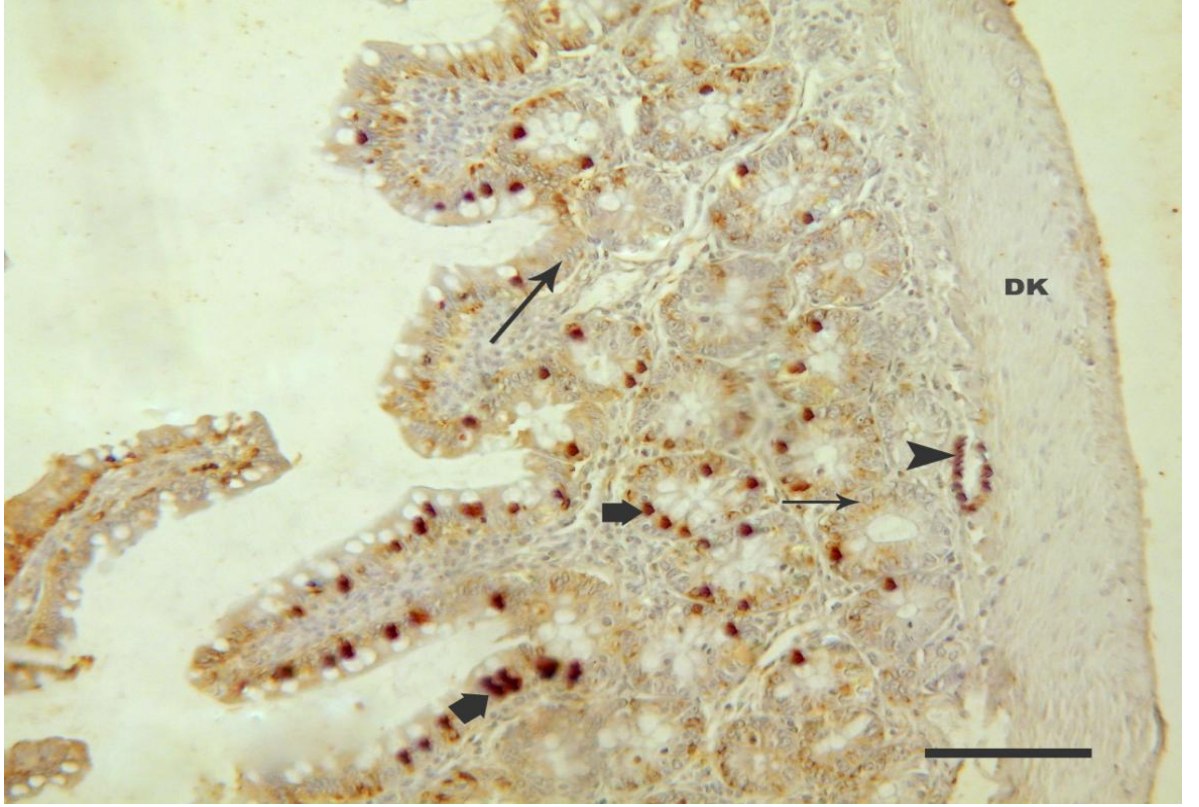
İleum (PDGF-C)	1. grup	2. grup	3. grup
Villus epitel hücreleri	+	+	++
Kadeh hücreleri	++	++++	+++++
Kript epitel hücreleri	+	+	++
Damar endotel hücreleri	++	+++	+++++
Düz kas hücreleri	-	-	+



Şekil 10. 1. grup. İleumda PDGF-C immunoreaktivitesi. Uzun ok. villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başı: damar endotel hücresi, DK: düz kas hücreleri. (Bar=200 µm).



Şekil 11. 2. grup. İleumda PDGF-C immunoreaktivitesi. Uzun ok: villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başı: damar endotel hücresi, DK: düz kas hücreleri. (Bar= 200 µm).



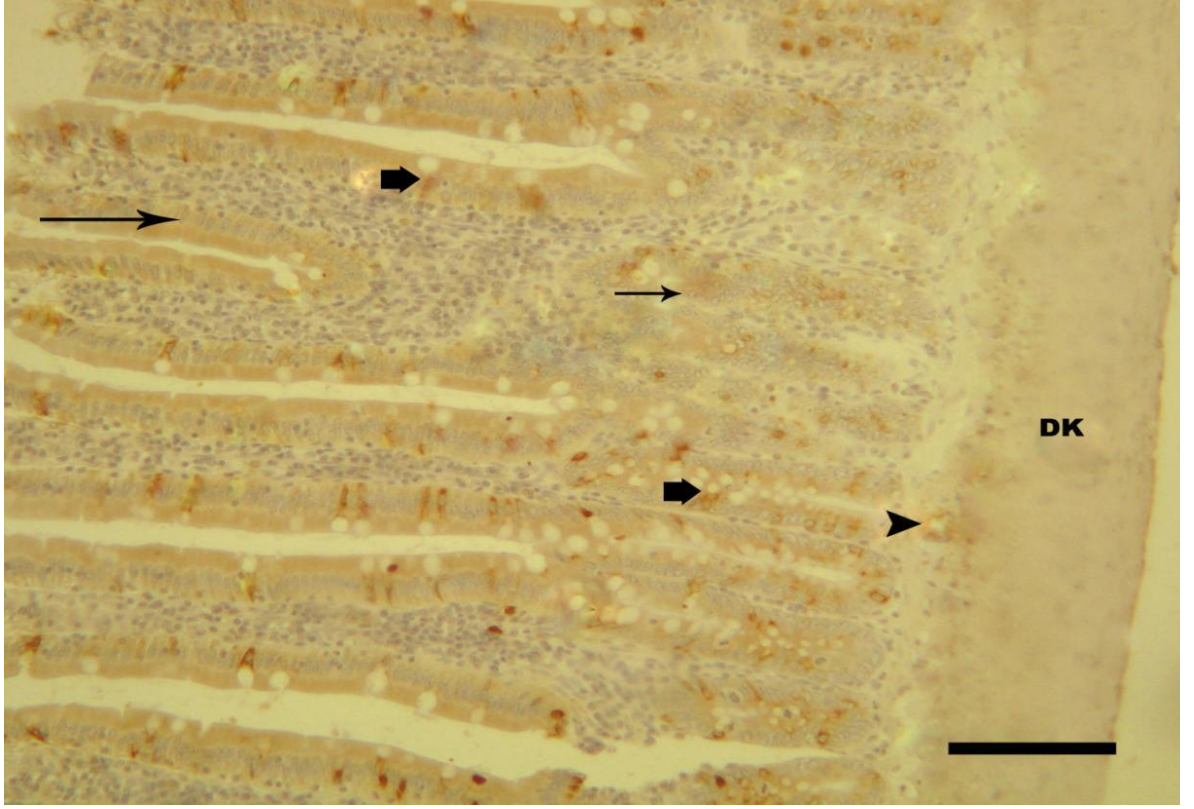
Şekil 12. 3. grup. İleumda PDGF-C immunoreaktivitesi. Uzun ok: villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başı: damar endotel hücresi, DK: düz kas hücreleri. (Bar= 200 µm).

3. 7. 4. Duodenumda PDGFR- α immunoreaktivitesi

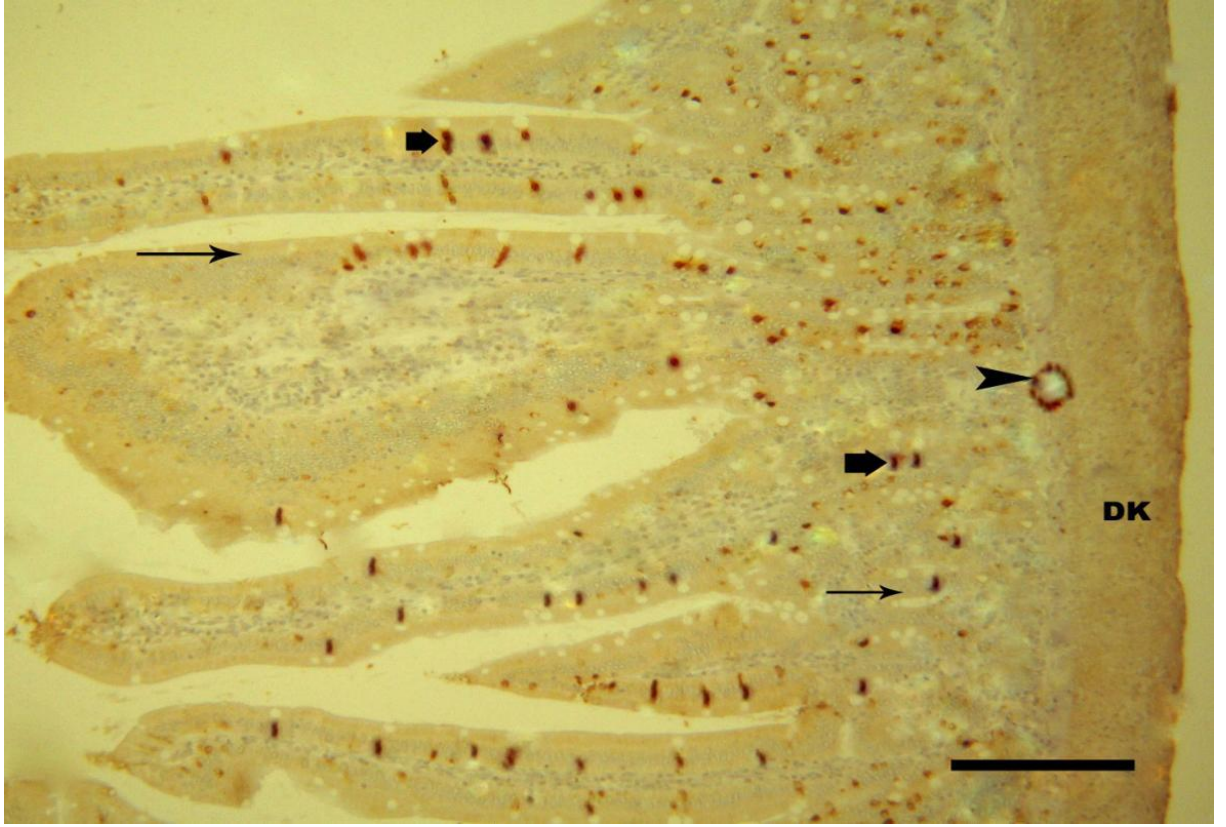
Tüm grupların villus epitel hücrelerinde hafif sitoplazmik reaksiyon tespit edildi. Kadeh hücrelerinde görülen reaksiyonun 1. grupta hafif nüklear, 2. ve 3. gruplarda ise çok yoğun nüklear özellikte olduğu görüldü. Villus epitel hücrelerine benzer şekilde tüm grupların kript epitel hücrelerinde hafif sitoplazmik reaksiyon tespit edildi. 1. grup damar endotel hücrelerinde görülen reaksiyonun hafif, 2. ve 3. gruplarda ise çok yoğun olduğu tespit edildi. Düz kas hücrelerinde 1. grupta çok hafif, 2. grupta orta, 3. grupta ise hafif derecede reaksiyonun olduğu saptandı (Tablo 10, Şekil 13, 14, 15).

Tablo 10. Sıçan Duodenumunda PDGFR- α immunoreaktivitesinin semikantitatif analiz sonuçları.

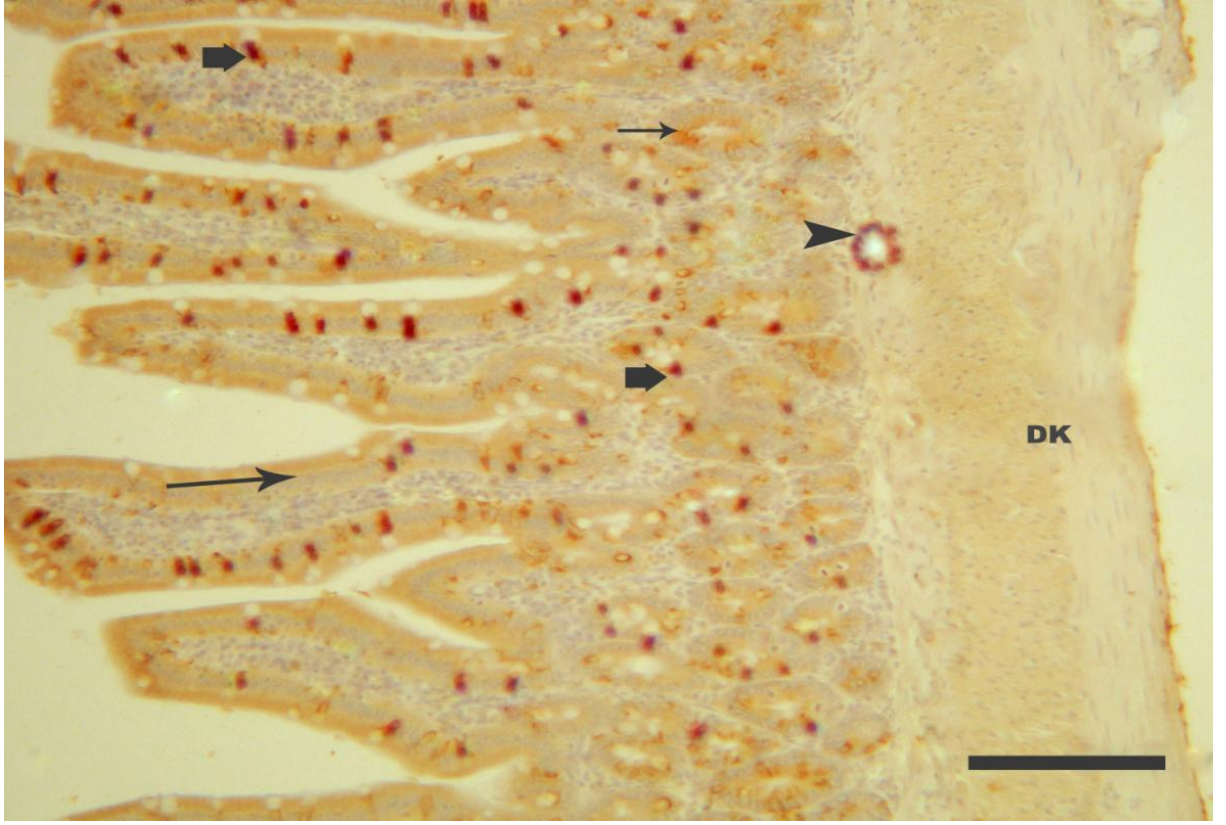
Duodenum (PDGFR- α)	1. grup	2. grup	3. grup
Villus epitel hücreleri	++	++	++
Kadeh hücreleri	++	+++++	+++++
Kript epitel hücreleri	++	++	++
Damar endotel hücreleri	++	+++++	+++++
Düz kas Hücreleri	+	+++	++



Şekil 13. 1. grup. Duodenumda PDGFR- α immunoreaktivitesi. Uzun ok: villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başı: damar endotel hücresi, DK: düz kas hücreleri. (Bar=200 μ m).



Şekil 14. 2. grup. Duodenumda PDGFR- α immunoreaktivitesi. Uzun ok: villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başı: damar endotel hücresi, DK: düz kas hücreleri. (Bar= 200 μ m).



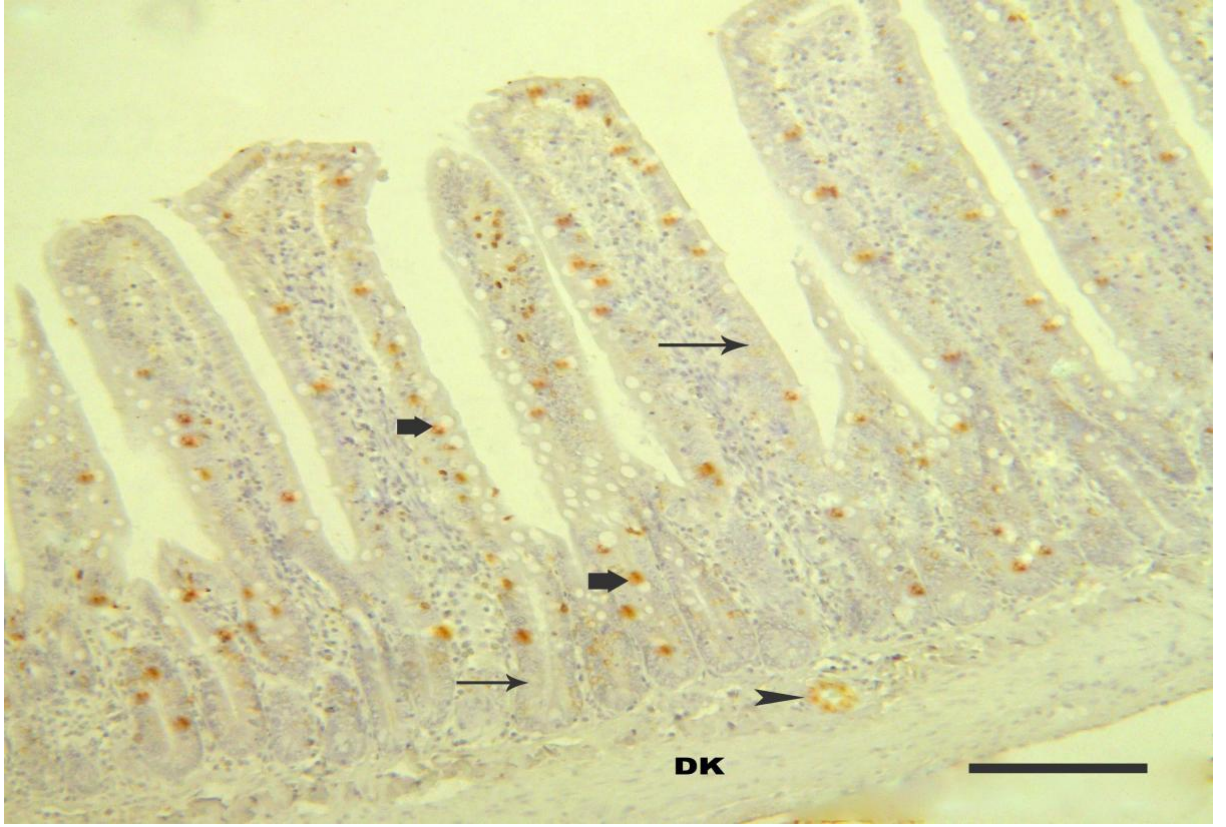
Şekil 15. 3. grup. Duodenumda PDGFR- α immunoreaktivitesi. Uzun oklar: villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başı: damar endotel hücresi, DK: düz kas hücreleri. (Bar= 200 μ m).

3. 7. 5. Jejunumda PDGFR- α immunoreaktivitesi

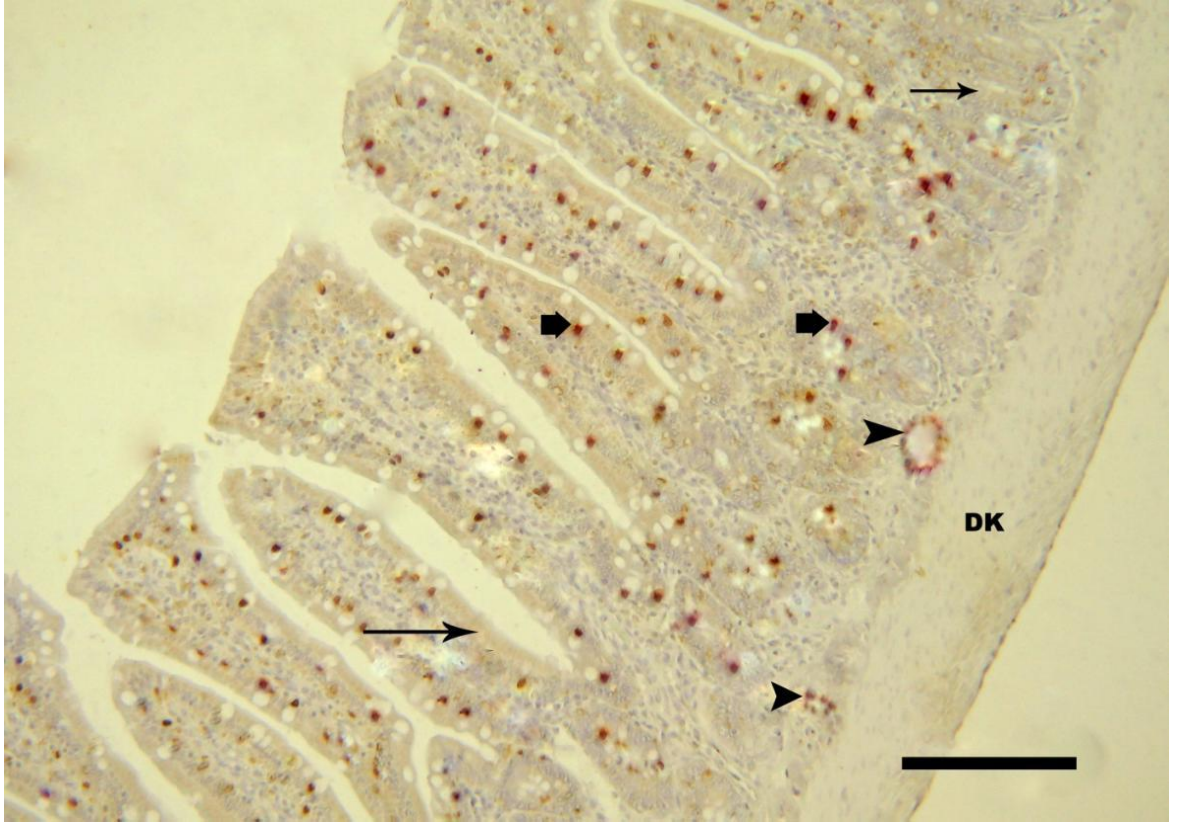
1. ve 2. grupların villus epitel hücrelerinde çok hafif sitoplazmik, 3. grupta ise orta derecede sitoplazmik olduğu tespit edildi. Kadeh hücrelerinde görülen reaksiyonun 1. grupta hafif nükleer, 2. ve 3. gruplarda çok yoğun nükleer özellikte olduğu görüldü. Kript epitel hücrelerinde 1. ve 2. gruplarda çok hafif sitoplazmik reaksiyon görülürken 3. grupta orta derecede sitoplazmik olduğu tespit edildi. 1. grup damar endotel hücrelerde görülen reaksiyonun hafif, 2. grupta orta ve 3. grupta ise yoğun olduğu görüldü. Düz kas hücrelerinde sadece 3. grupta hafif reaksiyonun olduğu görüldü (Tablo 11, Şekil 16, 17, 18)

Tablo 11. Sıçan jejunumunda PDGFR- α immunoreaktivitesinin semikantitatif analiz sonuçları.

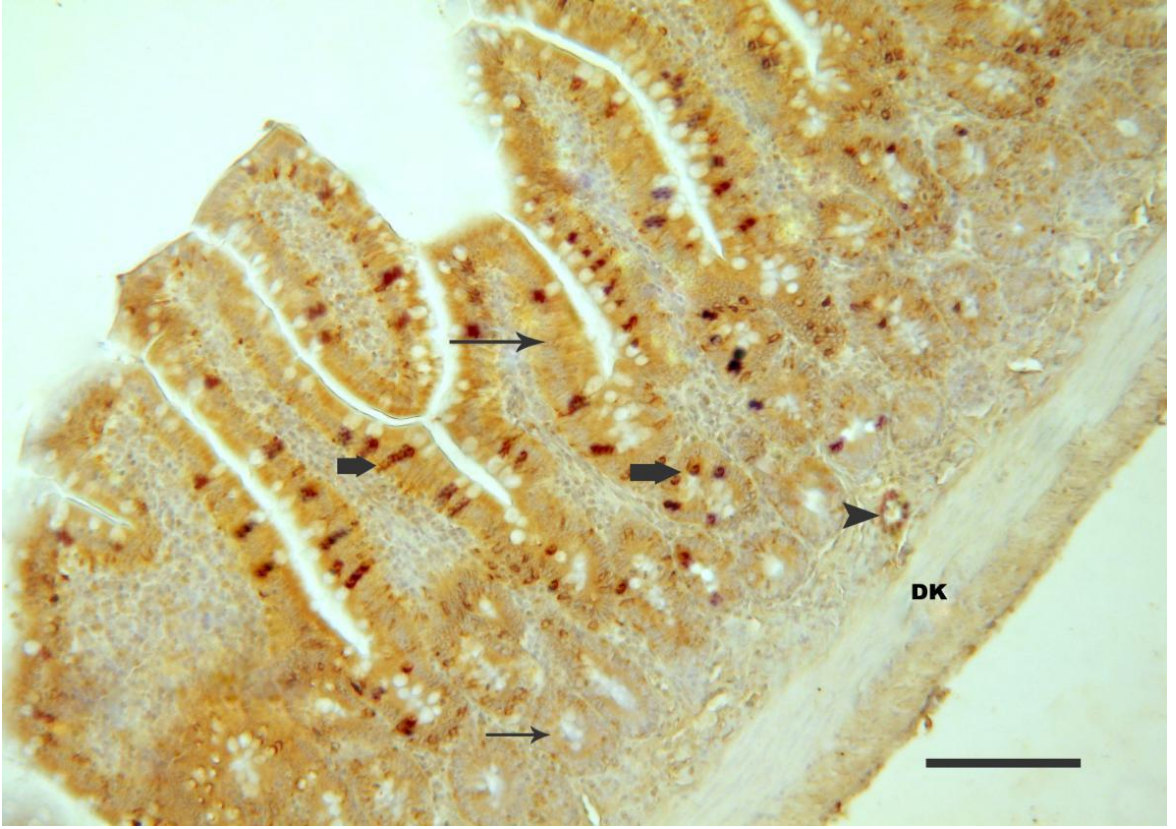
Jejunum (PDGFR- α)	1. grup	2. grup	3. grup
Villus epitel hücreleri	+	+	+++
Kadeh hücreleri	++	+++++	+++++
Kript epitel hücreleri	+	+	+++
Damar endotel hücreleri	++	+++	++++
Düz kas hücreleri	-	-	++



Şekil 16. 1. grup. Jejunumda PDGFR- α immunoreaktivitesi. Uzun ok: villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başı: damar endotel hücresi, DK: düz kas hücreleri. (Bar=200 μ m).



Şekil 17. 2. grup. Sıçan. Jejunumda PDGFR- α immunoreaktivitesi. Uzun ok: villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başları: damar endotel hücreleri, DK: düz kas hücreleri. (Bar= 200 μ m).



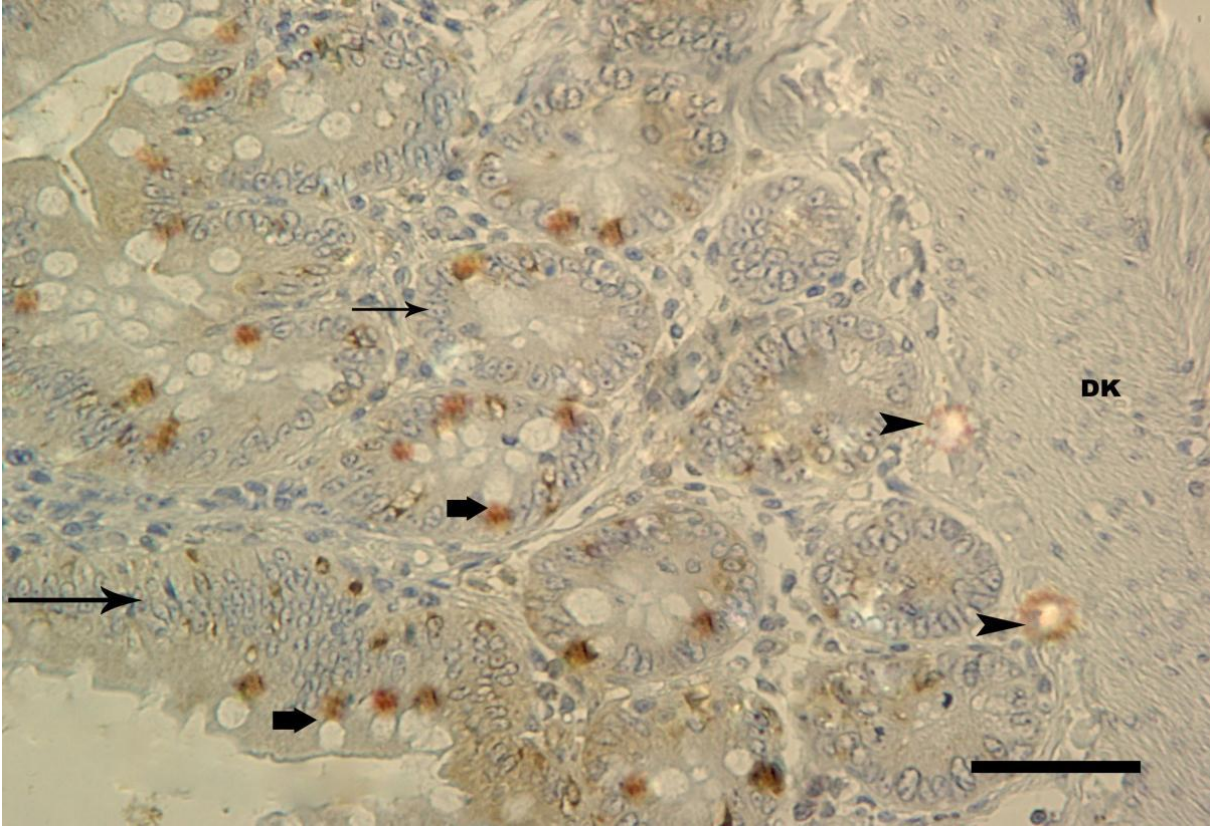
Şekil 18. 3. grup. Jejunumda PDGFR- α immunoreaktivitesi. Uzun ok: villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başı: damar endotel hücresi, DK: düz kas hücreleri. (Bar= 200 μ m).

3. 7. 6. İleumda PDGFR- α immunoreaktivitesi:

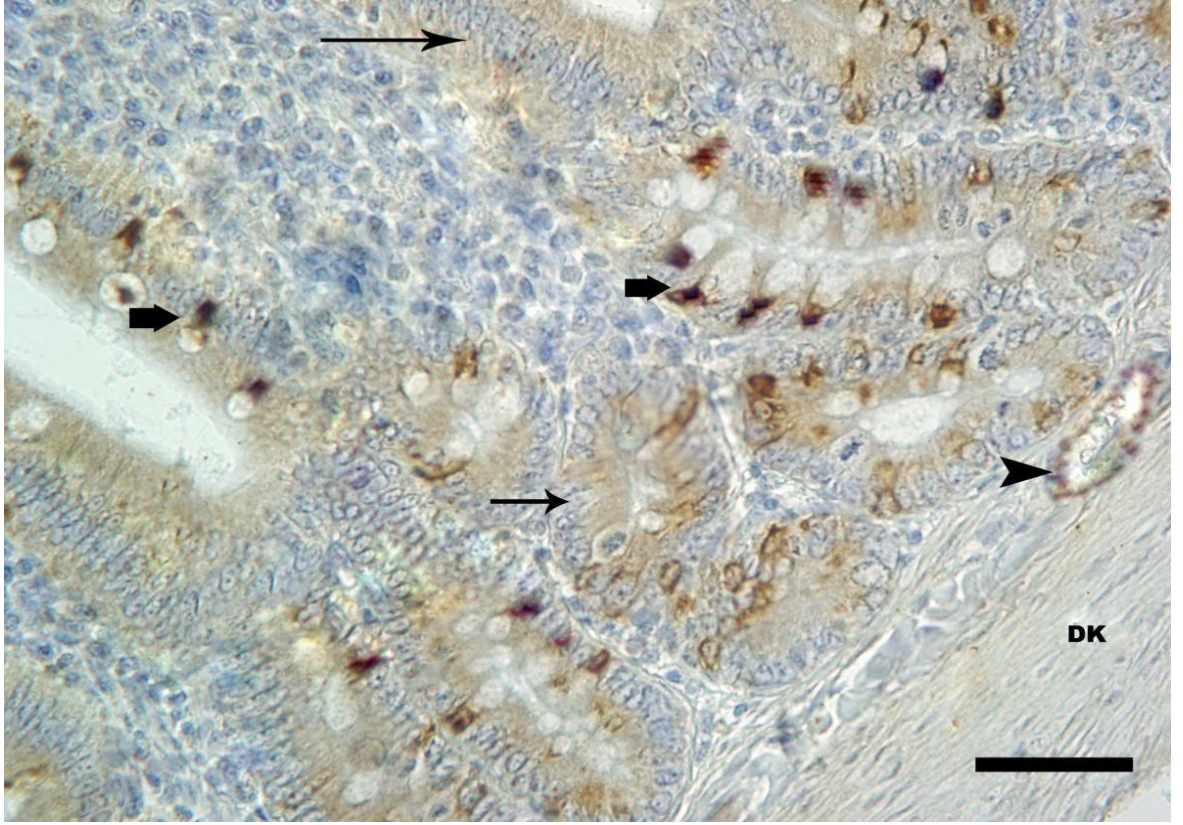
1. grup villus epitel hücrelerinde çok hafif sitoplazmik, 2. grup villus epitel hücrelerinde çok hafif sitoplazmik ve 3. grupta ise orta sitoplazmik reaksiyona sahip olduğu tespit edildi. Kadeh hücrelerinde görülen reaksiyonun 1. grupta hafif nüklear, 2. ve 3. gruplarda ise çok yoğun ve nüklear özellikte olduğu tespit edildi. 1. grup kript epitel hücrelerinin çok hafif sitoplazmik, 2. grupta bulunan kript epitel hücrelerinin hafif sitoplazmik, 3. grupta ise orta derecede sitoplazmik olduğu görüldü. Damar endotel hücrelerinde 1. grupta hafif reaksiyon gözlenirken 2. grupta yoğun, 3. grupta ise çok yoğun reaksiyon verdiği tespit edildi. Düz kas hücrelerinde 1. ve 2. gruplarda reaksiyon görülmezken, 3. gruplarda orta derecede reaksiyon tespit edildi (Tablo 12, Şekil 19, 20, 21).

Tablo 12. Sıçan ileumunda PDGFR- α immunoreaktivitesinin semikantitatif analiz sonuçları.

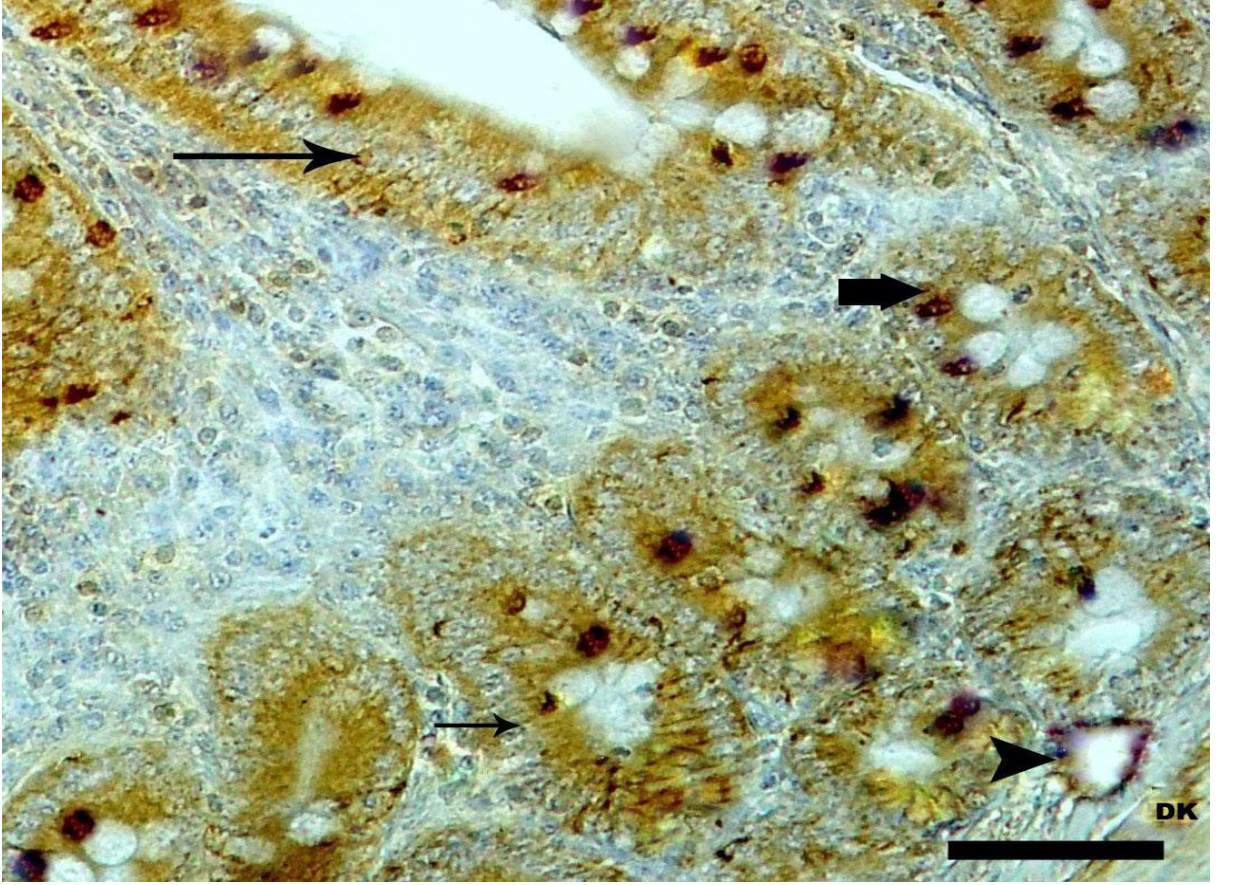
İleum (PDGFR- α)	1. grup	2. grup	3. grup
Villus epitel hücreleri	+	++	+++
Kadeh hücreleri	++	+++++	+++++
Kript epitel hücreleri	+	++	+++
Damar endotel hücreleri	++	++++	+++++
Düz kas hücreleri	-	-	+++



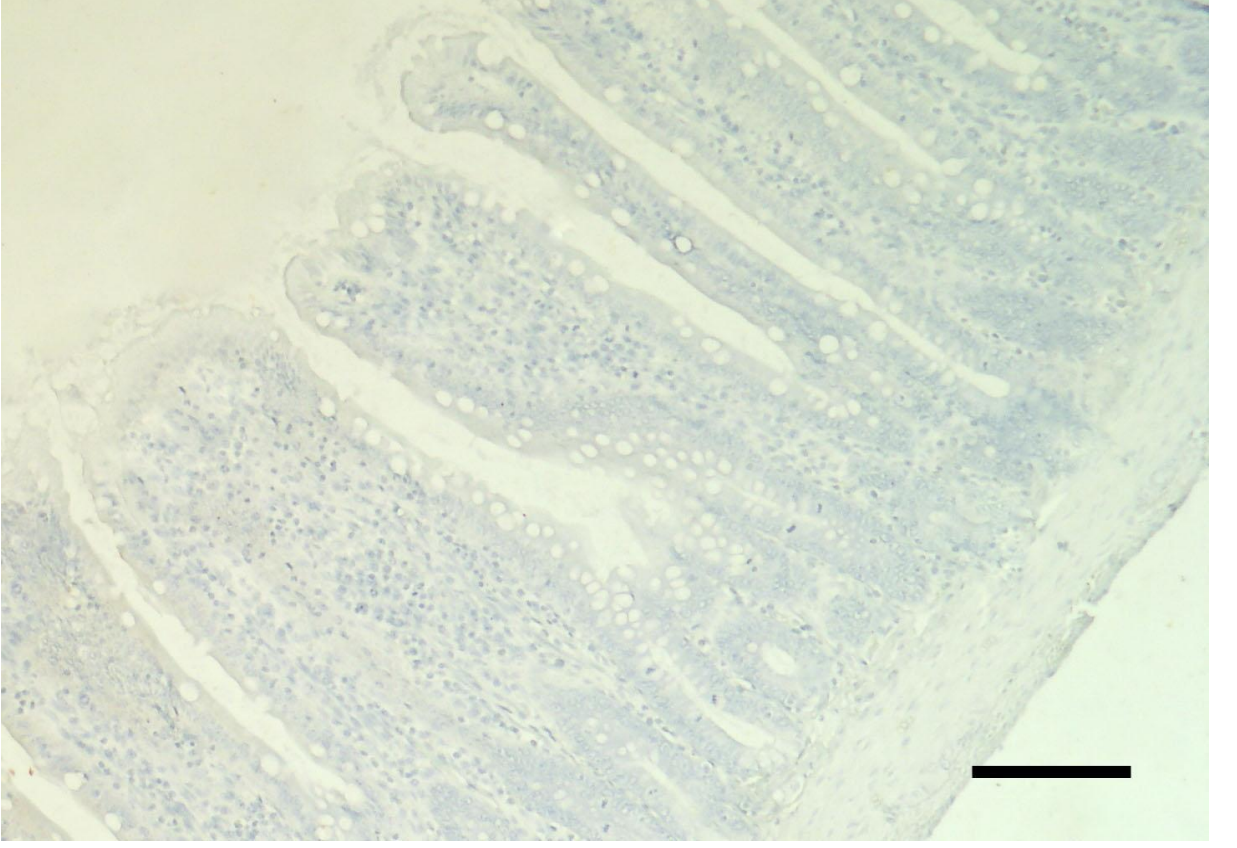
Şekil 19. 1. grup. İleumda PDGFR- α immunoreaktivitesi. Uzun ok: villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başı: damar endotel hücresi, DK: düz kas hücreleri. (Bar=50 μ m).



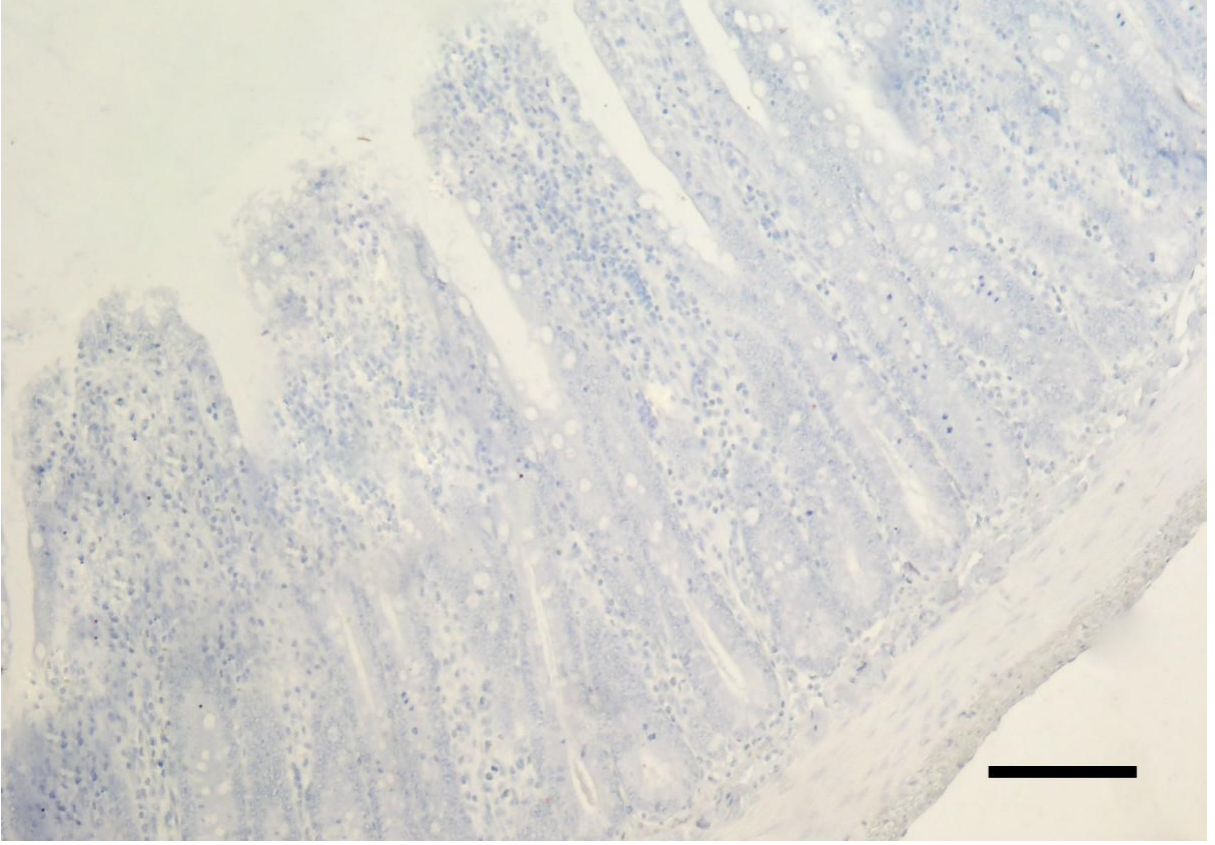
Şekil 20. 2. grup. İleumda PDGFR- α immunoreaktivitesi. uzun ok: villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başı: damar endotel hücresi, DK: düz kas hücreleri. (Bar= 50 μ m).



Şekil 21. 3. grup. İleumda PDGFR- α immunoreaktivitesi. uzun ok: villus epitel hücresi, kalın oklar: kadeh hücreleri, kısa ok: kript epitel hücresi, ok başı: damar endotel hücresi, DK: düz kas hücreleri. (Bar= 50 μ m).



Şekil 22. Enjeksiyon grubu. Duodenumda PDGF-C negatif kontrol. (Bar=200 μm).



Şekil 23. Enjeksiyon grubu. Duodenumda PDGFR- α negatif kontrol. (Bar=200 μ m).

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada tüm gruplarda bulunan sıçanların canlı ağırlıkları, duodenum, jejunum ve ileum villus uzunlukları, kript derinlikleri ile villus ve kriptlerde bulunan kadeh hücre sayıları istatistiksel olarak değerlendirildi. Ayrıca, tüm gruplarda ince barsak dokusunda PDGF-C ve PDGFR- α salınımı immunohistokimyasal yolla ışık mikroskopunda semikantitatif olarak incelendi.

İnsan ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda (20, 49), deneysel olarak oluşturulan mide hasarına karşı capsaicinin koruyucu etkisi olmasına karşın sindirim sisteminde toksik etkilere sahip olabileceği de belirtilmiştir. Capsaicinin etkileri doza ve kullanım süresine bağlı olarak değişmektedir (61). Yüksek doz ve uzun süre capsaicin uygulanmasının özellikle gastrointestinal organlarda tümörlere neden olduğu belirtilmiştir (2). Dişi sıçanlarda %10'luk capsaicin uygulamasının duodenal mukozada morfolojik zararlara neden olduğu bildirilmiştir (62). Toth ve ark.'nın (92), Swiss albino cinsi farelerde yaptıkları çalışmada, fareleri 35 gün süresince 0.0625 mg, 0.125 mg, 0.25 mg, 0.5 mg, 0.01mg miktarlarında capsaicin ile beslemişler ve farelerin sekum dokularında tümörlerin şekillendiğini ancak kontrol gruplarında bahsedilen tümörlere rastlanılmadığını belirtmişlerdir.

Hindistanda yapılan bir araştırmada (8), acıbiberin ağız boşluğu, farinks, yemek borusu ve gırtlak kanserleri insidansını doza bağlı olarak arttırdığı öne sürülmüştür. Yaptığımız çalışmada capsaicin'in literatürlerde (70, 92, 93) belirtilen yarı ölümcül doz (LD50) miktarları dikkate alınarak miktar ayarlaması yapıldı. 2. ve 3. gruplarda patolojik bulgulara ve tümörlere rastlanılmadı. Ayrıca, çalışmada oluşturulan tüm gruplarda makroskopik açıdan bir farklılık görülmediği gibi çalışma süresince herhangi bir nedenle ölüm de gözlenmedi.

Capsaicinin canlı ağırlık değişimi üzerine etkilerinin özellikle lipid metabolizmasına bağlı olduğu bildirilmiştir (58, 61, 72). Capsaicin uygulanan ve uygulanmayan sıçanlar arasında perirenal yağ ağırlığı bakımından fark olduğu ancak canlı ağırlıkları bakımından bir farkın bulunmadığı belirtilmiştir (58, 61). Capsaicinin bu etkiyi barsaklardan yağ emilimini azaltıp, glukoz-6-fosfat ve lipoprotein lipaz işlevlerini arttırarak ve bunun sonucunda da serum

trigliserid değerlerini, yağ doku ağırlığını ve lipid peroksidasyonunu azaltarak yaptığı öne sürölmüştür (57, 58). Capsaicinin lipid miktarının azalmasında adrenin medullasından kateşolaminlerin salınımını sağlaması ve bunların merkezi sinir sistemini uarması sonucu enerji ve lipid metabolizmasının arttırılmasından kaynaklandığı ileri sürölmüştür. Capsaicinin bu etkilerinden dolayı obezitenin tedavisinde kullanılması düşünölmektedir (61). Bizim çalışmamızda, tüm gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında 1. gruptaki sıçanların canlı ağırlığında ilk gün ile son gün arasında artış olduğu, 2. ve 3. gruplarda ise son gün canlı ağırlığının ilk gün canlı ağırlığına oranla azaldığı ve bu azalmanın istatistiki olarak $P<0.05$ 'e göre anlamlı olduğu görölmüştür.

Capsaicinin barsakta büyüme ve gelişimi arttırıcı özelliğinden dolayı günümüzde özellikle etlik piliçlerde yumurta üretimini arttırmak amacıyla kullanılmaktadır. Bu konuyla ilgili yapılan bir çalışmada (18), carvacrol, cinnamaldehyde ve capsaicinden oluşan bitkisel ekstrakt karışımı ile beslenen hayvanların ince barsaklarında villus uzunluklarında artış bildirilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda literatür (18) bilgilerine paralel olarak capsaicin uygulanan 2. ve 3. gruplarda barsaklarda villus uzunluklarının arttığı tespit edildi.

Kadeh hücrelerinin sayıca artması enterositlerde absorbsiyon ve sindirim kapasitesinin bir göstergesi olduğu belirtilmiştir (33, 55). Capsaicinin kadeh hücre sayısını arttırarak barsaklardan madde emilim miktarını arttırmasının yanında, midede mukus üretimini arttırarak sindirim sisteminde koruyucu etki sağladığı öne sürölmüştür (33, 55). Ayrıca, capsaicin ince barsaklarda madde emilimini arttırdığı da belirtilmiştir (94). Yaptığımız çalışmada tüm gruplar karşılaştırıldığında ince barsak dokusunda 2. ve 3. grupların hem villus hem de kriptlerinde bulunan kadeh hücre sayıları arttığı tespit edildi. Bu artışın özellikle 3. grupta daha fazla olduğu saptandı. Bu sonuçlar ışığında capsaicin kadeh hücre sayısını arttırarak hem madde emilimini arttırtabileceği hem de mukus üretimini arttırarak fiziksel ve kimyasal etkilere karşı koruyucu özelliğe sahip olabileceği düşünölmektedir. Ayrıca, 3. grubun kadeh hücre sayısını arttırmada daha etkili olabileceği kanısına varılmıştır.

Embriyonik ve yetişkin dönemde ince barsak gelişimi üzerine büyüme faktörlerinin önemli rolleri vardır. Ancak, bu konuyla ilgili sınırlı bilgi

bulunmaktadır (13). Büyüme faktörlerinden IGF-I, EGF, TGF α ve PDGF'lerin barsak dokusunda gelişim için önemli olduğu belirtilmiştir (13).

İnce barsak dokusunda PDGF'lerden özellikle PDGF-A'nın salınımının fazla olduğu saptanmıştır (25). Karlsson ve ark. (56), gastrointestinal sistem gelişimi için hem PDGF-A'nın hem de PDGFR- α 'nın gerekli olduğunu, bu faktörlerin villus ve kript epitel hücrelerinde, submukoza ve kaslarda salınımının olduğunu belirtmişlerdir. PDGF'lerin özellikle epitel hücrelerinden PDGFR- α 'nın ise epitel hücrelerin yanı sıra kas ve bağ doku hücrelerinde de salınımının olduğu bildirilmiştir (56). Her ne kadar yetişkin gastrointestinal dokuda PDGF/PDGFR- α sinyalinin ekspresyon ayrıntıları tam olarak açıklanamasa da, ergin farelerin ince barsak dokusunda PDGFR- α 'nın yüksek miktarda salındığı öne sürülmüştür (23). Ayrıca, PDGFR- α 'nın vasküler perisitlerde, fibroblastlarda, sirküler kas katmanında, subserozal alanda salınımının olduğu belirtilmiştir (23). İncelememiz sonucunda ince barsak dokusunda PDGF-C ve PDGFR- α immunoreaktivitesinin, villus ve kript epitel hücreleri, kadeh hücreleri, damar endotel hücreleri ve düz kas hücrelerinde bulunduğu tespit edildi.

Capsaicinin PDGF-C ve PDGFR- α salınımı üzerine etkileri ile ilgili herhangi bir bilgiye rastlanılmamıştır. Ancak, IGF-I (43), EGF (77), TGF (3) gibi çeşitli büyüme faktörlerinin salınımını artırıcı etki yaptığı bildirilmiştir. Gastrik mukozal yaralanmalarda, capsaicinin CGRP ve afferent nöronları uyardığı ve bunların arterlerde vazodilatasyona neden olarak gastrik mukozayı iyileştirici etki yaptığı saptanmıştır (55, 77). Deneysel ortamda absolut alkol kullanılarak mide mukoza yaraları oluşturulmuş sıçanlarda capsaicinin CGRP salınımını artırması ve CGRP'nin de EGF salınımını uyarmasıyla gastrik mukozal kan akımının (Gastric Mucosal Blood Flow, GMBF) artmasıyla iyileştirici etki yaptıkları belirtilmiştir (55, 77). Capsaicinin 35 günlük enjeksiyon yapıldığı deney grubunda leydig hücrelerinde TGF- β_1 'in, 75 günlük enjeksiyon yapılan deney gruplarında ise olgun spermatidlerde TGF- β_2 'nin salınımının arttığı, capsaicin uygulanmasının testislerde tubulus seminiferus kontortusların çaplarını büyüttüğü, primer spermatosit, genç ve olgun spermatid sayılarında artış olduğu bildirilmiştir (3). İnsan ve hayvanlarda capsaicin uygulanmasının büyüme ve gelişim üzerinde önemli etkileri olduğu bilinen IGF-I'in deri ve kıl gelişimini arttırdığı bildirilmiştir (3). Capsaicinin bu etkiyi, reseptörü VR-1'in

salınımını uyarmasıyla sağladığı ve VR-1'in de duyu nöronlarından CGRP salınımını sağlayarak IGF-I salınımını arttırması sonucu etki gösterdiği saptanmıştır (3, 53). Çalışmamızda; bahsedilen çalışmalara (3, 53) paralel olarak 2. ve özellikle 3. grubun ince barsaklarında (duodenum, jejunum ve ileum) PDGF-C ve PDGFR- α salınımını arttırdığı görüldü.

Sonuç olarak, bu çalışmada sıçanların ince barsak dokusunda istatistiksel verilerle capsaicinin etki derecesi ile PDGF-C ve PDGFR- α 'nın immunohistokimyasal yöntemle dağılımına bakıldı. Araştırmada istatistiksel değerlendirmeler sonucunda, canlı ağırlığının 1. grupta artarken, 2. ve 3. gruplarında azaldığı, capsaicin uygulanmasının ince barsaklarda villus uzunluğu, kript derinliği ve kadeh hücre sayısını arttırdığı, villus ve kript epitel hücreleri, kadeh hücreleri, damar endotel hücreleri ve düz kas hücreleri gibi birçok hücrede PDGF-C ve PDGFR- α salınımını arttırarak büyümeyi arttırıcı etki gösterdiği tespit edildi. Bu bulgular ışığında ince barsaklar üzerinde 3. grupta capsaicinin enjeksiyon yoluyla uygulanmasının 2. grupta oral yolla uygulanmasına göre daha etkili olduğu kanısına varıldı.

5. ÖZET

Çok eski bir geçmişe sahip olan acı biber, günümüzde de geçmişte olduğu gibi hem baharat olarak hem de tıp alanlarında kullanılmaktadır. Botanikçiler tarafından *Capsicum annuum* olarak adlandırılan capsaicin, renksiz, kokusuz, hidrofobik özellikte olup acı bibere acılığını veren alkaloid ($C_{18}H_{17}NO_3$) yapıda bir maddedir. Günümüzde birçok alanda çalışma konusu olan capsaicin'in etkisinin uygulama dozuna, organa ve kullanım süresine göre değiştiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.

PDGF ailesinin üyelerinden biri olan PDGF-C, büyüme ve gelişimde önemli fonksiyonlara sahiptir. PDGFR- α , PDGF-C'ye bağlanarak bu büyüme faktörünün aktifleşmesini sağlayan PDGF reseptörlerinden biridir.

Çalışmada 50 günlük, 30 adet *Sprague dawley* ırkı dişi sıçan kullanıldı. Hayvanlar 1. grup (sham), 2. grup (oral) ve 3. grup (enjeksiyon) olmak üzere her grupta 10 adet olacak şekilde üç gruba ayrıldı. 1. grupta bulunan sıçanlara 1 mg/kg dozdaki % 10 ethanol, % 1 Tween 20 ve % 80 distile su içeren karışım bir hafta süre ile her gün subkutan yolla enjekte edildi. 2. grupta bulunan sıçanlara içtikleri su miktarı önceden belirlenerek sıçanların ağırlıkları tartılıp, capsaicin 1 mg/kg olacak şekilde her bir deney hayvanının içtiği suya ilave edildi. 3. grupta bulunan sıçanlara ise oral grubunda olduğu gibi her bir hayvanın ağırlığı önceden tartılarak, sıçanlara 1 mg/kg dozdaki capsaicin, % 10 ethanol içinde çözdürüldükten sonra % 1 Tween 20 ve % 80 distile su ilave edilerek günlük olarak hazırlanan capsaicin daha sonra subkutan yolla bir hafta süreyle her gün aynı saatte enjekte edildi. Süre bitiminde hayvanlar ötenazi edilerek ince barsak (duodenum, jejunum ve ileum) dokuları alındı. Capsaicinin PDGF-C ve PDGFR- α dağılımı üzerine etkilerini incelemek amacıyla immunohistokimyasal yöntem kullanıldı. Elde edilen sonuçlar ışık mikroskopunda semikantitatif yöntemle değerlendirildi.

İstatistiksel değerlendirmeler sonucunda canlı ağırlığının 1. grupta artarken, 2. ve 3. gruplarında azaldığı, capsaicin uygulanmasının villus uzunluğu, kript derinliği, villus ve kriptlerde yer alan kadeh hücre sayılarını arttırdığı, immunohistokimyasal incelemeler sonucunda ise capsaicin uygulanan 2. ve 3. gruplar ile 1. grup karşılaştırıldığında, ince barsak

dokusunda villus yüzey epitel hücreleri, kadeh hücreleri, kript hücreleri, endotel hücreleri ve düz kas hücreleri gibi birçok hücrede PDGF-C ve PDGFR- α salınımını arttırdığı tespit edildi. Capsaicinin enjeksiyon yoluyla uygulandığı 3. grubun oral yolla uygulanan 2. gruba göre daha fazla etkilediği tespit edildi.

Sonuç olarak, capsaicinin büyüme faktörlerinden PDGF-C ve PDGFR- α salınımını arttırıcı ve büyüme üzerine olumlu etkilere sahip olduğu kanısına varıldı.

Anahtar sözcükler: Capsaicin, PDGF-C, PDGFR- α , ince barsak

6. SUMMARY

Cayenne pepper which has an old history used spice and medicine today as in the past. Capsaicin is a colorless, odorless, hydrophobic, and alkaloids ($C_{18}H_{17}NO_3$) which called *capsicum annuum* by botanists. Capsaicin's impact are shown that may change with capsaicin's dose, organ, and use of duration.

PDGF-C is e member of PDGF family which has important functions in growth and development. PDGFR- α receptors which binds PDGF-C and provides activation of PDGF-C.

In the present study 30 female *Sprague Dawley* rats on 50th day were used. The animals were divided in three groups which are 1. group (sham), 2. group (orally), and 3. group (injection). 1. group was injected dose of 10% ethanol, 1% Tween 20 and 80% distilled water containing subcutaneously every day for a week. 2. group which 1 mg / kg capsaicin were added in drinking water which were weighed. as well as 1. group, 3. group was injected capsaicin which was dissolved with dose of 10% ethanol, 1% Tween 20 and 80% distilled water containing at the same time every day for a week. The animals were euthanized and the small intestine tissue (duodenum, jejunum and ileum) were removed by the end of one week experimental period. Immunohistochemical technique was applied and PDGF-C and PDGFR- α distribution were evaluated semiquantitatively under light microscopy.

As a result of statistical analysis were detected that the animal weight while 1. group increase and 2. and 3. groups decreased, 2. and 3. groups compared with 1. group which 2. and 3. groups elevated villus length, goblet cells in villi and crypt, and crypt depth. Immunohistochemical analysis revealed that application of capsaicin elevated PDGF-C and PDGFR- α epression levels in surface epithelial cells of villus tissue, goblet cells, crypt cells, endothelial cells and muscle cells in the small intestines compared with 1. group. Also be 3. group was found to affect more than 2. group.

As a result, capsaicin elevated PDGF-C and PDGFR- α secretion which are a growth factor and which has positive effects on growth.

Key Words: capsaicin, PDGF-C, PDGFR- α , small intestine

7. KAYNAKLAR

1. **Aase, K., Lymboussaki, A., Kaippainen, A., Olofson, B., Alitalo, K., Eriksson, U.:** Localization of VEGF- β in the mouse embryo suggest a paracrine role of the growth factor in the developing vascularite. *Dev. DYN.* 215:12-25, 1999.
2. **Agrawal, R. C., Wiester, M., Heckers, E., Bhide, S. V.:** Tumor-promoting effect of chilli extract in balb/c mice. *Int. J. Cancer.* 38:689-695, 1986.
3. **Akkoç, Ö. C. G.:** Postnatal gelişim dönemlerinde capsaicin uygulanan fare testislerinde transforming growth factor β 'nın immunohistokimyasal ekspresyonu. Uludağ Üniversitesi Doktora Tezi, Bursa, 2007.
4. **Amantini, C., Mosca, M., Nabissi, M., Lucaciarini, R., Caprodossi, S.:** Capsaicin-induced apoptosis of glioma cells is mediated by TRPV1 vanilloid receptor and requires P38 MAPK activation. *J. Neurochem,* 102:977-990, 2007.
5. **Anthanasiou, A., Smith, P. A., Vakilpour, S., Kumaran, N. M., Turner, A. E.:** Vanilloid receptor agonists and antagonists are mitochondrial inhibitor: How vanilloids cause non-vanilloid receptor mediated cell death. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 354:50-55, 2007.
6. **Antoniades, H. N., Hunkapiller M. W.:** Human platelet-derived growth factor (PDGF): amino-terminal aminoacid sequence. *Sci.* 220:963-965, 1983.
7. **Arıcan, R. Y.:** Formaldehit inhalasyonunun sıçan burun mukozasındaki hücreler arası bağlantı kompleksleri üzerine etkileri. Akdeniz Üniversitesi Doktora Tezi Antalya, 2005
8. **Bartho, L., Benko, R., Lazar, Z., Illengi, L., Horvath, O. P.:** Nitrikoxide is involved in the relaxant effect of capsaicin in the human sigmoid colon circular muscle. *Naunyn. Schmiederbergs Arc. Pharmacol.* 366:496-500, 2002.
9. **Barto, L., Holzer, P.:** The inhibitory modulation guinea-pig intestinal peristalsis caused by capsaicin involves calcitonin gene-related peptide and nitricoxide. *Naunyn. Schmiederbergs Arc. Pharmacol.* 353:102-109, 1995.
10. **Başak, S., Dikicioğlu, E., Turkutanit, S., Sarierler, M.:** Early and late effects of capsaicin pretreatment in otitis media with effusion. *Otol. Neurotol.* 26(3):344-350, 2005.

11. **Bevan, S. J., Docherty, R. J.:** Cellular mechanisms of the action of capsaicin. In wood: J, Ed., Capsaicin in the study of pain. Acad. Press. 27-44, 1993.
12. **Bonthron, D. T., Morton, C. C., Orkin, S. H., Collins, T.:** Platelet-derived growth factor A chain: Gene structure, chromosomal location and basis for alternative mRNA splicing. Prog. Natl. Acad. Sci. 85:1492-1499, 1988.
13. **Booth, C., Evans, G. S., Potten, C. S.:** Growth factor regulation of proliferation in primary culture of small intestinal epithelium. Cell Dev. Biol. 31:234-243, 1995.
14. **Bowen-Pope, D. F., Malpass, T. W., Foster, D. M., Ross, R.:** Platelet-derived growth factor in vivo: Levels activity and rate of clearance. Blood. 64:458-469, 1984.
15. **Bozkurt, M., Sandıkçı, M.:** Farklı yaşlardaki civcivlerin barsak villus boyu ve çapı ile kadeh hücresi ve mitotik hücre sayılarındaki değişimler. Y. Y. U. Vet. Fak. Derg. 20(1)5-9, 2009.
16. **Brennan, J., Tilmann, C., Capel, B.:** PDGFR- α mediates testis cord organization and fetal leyding cell development in the xy gonad. Gen. Dev. 17:800-810, 2003.
17. **Brown, K. C., Witte, T. R., Hardman, E., Luo, H., Chen, Y. C., Carpenter, B., Lau, J. K., Dasgupta, P.:** Capsaicin displays anti-proliferative activity against human small cell lung cancer in cell culture and nude mice models via the E2F pathway. Plos. One. 5(4):1243, 2010.
18. **Catala, P., Garcia, V., Orengo, J., Madrid, J., Hernandez, F., Corpa, J., Ortega, J.:** Effect of plant extracts and chickens location on intestine mucosal morphology and ileal apparent digestibility of broilers. XXII. World's Poultry Congress. Book of Abstract, İstanbul-Turkey, p:456, 2004.
19. Capsaicin. En. Wikipedia. Org /wiki/capsaicin.
20. **Caterina, M. J.:** Vanilloid receptor expression suggest a sensory role for urinary bladder epithelial cells. Proc. Natl. Acad. Sci. 98:13396-13401, 2001.
21. **Caterina, M. J., Leffler, A., Malmberg, A. B., Martin, W. J., Trafton, J., Petersen-Zeitz, K. R., Kdtzenburg, M., Basbaum, A. I., Julius, D.:** Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor. Sci. 288:306-313, 2000.
22. **Chahl, L. A., Lynch, A.:** The acute effects of capsaicin on the cardiovascular system. Acta. Physiol. Hung. 69:413-419, 1987.

- 23. Chan, F., Liu, Y., Sun, H., Li, X., Shang, H., Fan, D, An, J., Zhou, D.:** Distribution and possible role of PDGF-AA and PDGFR- α in the gastrointestinal tract of adult guinea pigs. *Virchows. Arch.* 457:381-388, 2010.
- 24. Claesson-Welsh, L., Ericsson, A., Moren, A., severinsson, I., Ek, B., Östman, S., Betsholtz, C., Heldin, C. H.:** cDNA cloning and expression of a human platelet-derived growth factor (PDGF) receptor specific for β -chain containing PGF molecules. *Mol. Cell. Biol.* 8:3476-3486, 1988.
- 25. Crosnier, C., Stametaki, D., Lewis, J.:** Organizing cell renewal in the intestine: Stem cells, signals and combinatorial control. *Genetic.* 7:349-359, 2006.
- 26. Czaja, M. J.:** Induction and regulation of hepatocyte apoptosis by oxidative stres. *Antioxid. Redox. Signal.* 4:759-767, 2002.
- 27. Dasgupta, P., Fowler, C. J.:** Chillies: From antiquity to urology. *Br. J. Urol.* 80:845-852, 1997.
- 28. Deuel, T. F.:** Polypeptide growth factors: Roles in normal. *Annu. Rev. Cell. Bio.* 3:443-492, 1987.
- 29. Dijkmans, j., Xu, J., Harris, S., Dhanaraj, S., Gosiewska, A., Geesin, J., Spregel, J., Harris, S., Verhasselt, P., Gorden, R., Yon, J.:** Characterization of platelet-derived growth factor-c (PDGF-C) expression in normal and tumor cells, biological activity and chromosomal localization. *Int. Jour. Biochem. Cell. Bio.* 34:414-426, 2002.
- 30. Ding, H., Wu, X., Kim, I., Tam, P. P., Koh, G. Y., Nagy A.:** The Mouse pdgfc gene: Dynamic expression in embriyonic tissues during organogenesis. *Mech. Dev.* 96:209-213, 2000.
- 31. Ek, B., Westermark, B., Wasteson, A., heldin, C. H.:** Stimulation of tyrosine-specific phosphorylation by platelet-derived growth factor. *Nature.* 295:419-420, 1982.
- 32. Ekinci, N., Kırkpınar, K., Acer, N.:** Vagotomi ve sempatektomi uygulanan ratlarda duodenumda gözlenen morfolojik değişikliklerin incelenmesi. *E. Ü. Jour. Health Sci.*, 13(3):8-17, 2004.
- 33. Erdoğan, D., Hatiboğlu, M. T., Görgün, M., Ilgaz, C.:** Özel Histoloji. Hatiboğlu Yayınları, 1996, Ankara.
- 34. Eroschenko, V. P.:** Histoloji Atlası (Türkçe Çeviri). 9. Baskı, Palme Yayıncılık, 2001.
- 35. Eshbaugh, W. H.:** A nomenclatural note on the genus capsicum. *Taxo.* 17:51-52, 1968.

- 36. Faussonne-Pellegrini, M. S., Taddei, A., Bizzoco, E., Lazzeni, M., Vannucchi, M. G., Bechi, P.:** Distribution of the vanilloid (capsaicin) receptor type 1 in the human stomach. *Histochem. Cell. Biol.* 124:61-68, 20005.
- 37. Geppetti, P., Trevisani, M.:** Activation and sensitization of the vanilloid receptor: Role in gastrointestinal inflammation and function. *Br. J. Pharmacol.* 141:1313-1320, 2004.
- 38. Gilbertson, D. G., Duff, M. E., West J. W., Kelly, J. D., Sheppard, P. O., Hofstrand, P. D., Garo, Z., Shoemaker, K., Bukowski, T. R., Moore, M., Feldhaus, A. L., Humes, J. M., Palmer, T. E., Hart, C. E.:** Platelet-derived growth factor C (PDGF-C), a novel growth factor that binds to PDGFR- α and β receptor. *J. Biol. Chem.* 276:27406-14, 2001.
- 39. Girgin, A., Alabay, B., Liman, N., Özfiliz, N., Gülmez, N., Özcan, Z., Yörük, M., Erdost, H., Aslan, Ş., Ergün, L., Zık, B.:** Veteriner Özel Histoloji. Editör: Aytekin Özer, Nobel Yayınları, 1. Baskı, 2008, Ankara.
- 40. Govindrajn, V. S.:** Capsicum-production, technology, chemistry, and quality-part II. Processed products, standarts, world production and trade. *Food sci. Nutr.* 23:207-288, 1986.
- 41. Govindrajn, V. S., Sathyanarayana, M. V.:** Capsicum-production technology, chemistry, and quality. Part V.Impact on physiology, pharmacology, nutrition and metabolism: Structure, pungency, pain and desensitization sequences. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 29(6):435-473, 1991.
- 42. Gökmen, F. G.:** Sistematik Anatomi, Güven Kitapevi, İzmir, 2003.
- 43. Harada, N., Okajima, K., Arai, M., Kurihara, h., Nagata, N.:** Growth hormone and IGF research. 17:408-415, 2007.
- 44. Hart, C. E., Fostrom, J. W., Kelly, J. D., Seiferd, R. A., Smith, R. A., Ross, R., Murray, M. J., Bowen-Pope, D. F.:** Two classes of PDGF receptor recognize different isoform of PDGF. *Sci.* 240:1529-31, 1988.
- 45. Heldin, C. H., Westermark, B.:** Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. *Phs. Rew.* 79:1283-1316, 1999.
- 46. Heldin, C. H., Westermark, B., Wasteson, A.:** Spesific receptors for platelet-derived growth growth factor on cells derived from connective tissue and glia. *Prog. Natl. Acad. Sci.* 78:3664-3668, 1981.

- 47. Hellstrom, M., Kahen, M., Lindahl, P., Abramsson, A., Betsholtz, C.:** Role of PDGF-B and PDGFR- β in recruitment of vascular smooth muscle cell and pericytes during Embryonic Blood vessel formation in the mouse. *Dev.* 126:304, 1999.
- 48. Hetan, L., Kazlauskas, A.:** Focus on molecules: Platelet-derived growth factor C. *Geog. Nat.* 86:711-712, 2008.
- 49. Holzer, P.:** Capsaicin: cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for sensory neurons. *Pharmacol. Rev.* 43:143-201, 1991.
- 48. Holzer, P., Lippe, I. T.:** Stimulation of afferent nerve ending by intragastric capsaicin protection against ethanol-induced damage of gastric mucosa. *Neurosci.* 27:981-987, 1988.
- 51. Holzer, P., Pabst, M. A., Lippe, I. T. Peskar, B. M.: Livingstone, P., Guth, P. H.:** Afferent nerve-mediated protection against deep mucosal damage in the rat stomach. *Gastroenterology.* 98:838-848, 1990.
- 52. Imatake, K., Matsui, T., Moriyama, M.:** The effect and mechanism of action of capsaicin on gastric acid output. *J. Gastroenterol.* 44:396-404, 2009.
- 53. Inoue, K., Kouzumi, S., Fuziwara, S., Denda, S., Denda, M.:** Functional vanilloid receptors in cultured normal human epidermal keratinocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 291:124-129, 2002.
- 54. Jang, J. J., Kim, S. H., Yun, T. K.:** Inhibitory effect of capsaicin on mouse lung tumor development. *In vivo.* 3:49-53, 1989.
- 55. Kang, J. Y., Teng, C. H., Wee, A., Chen, F. C.:** Effect of capsaicin and chilli on ethanol induced gastric mucosal injury in rat. *Gut.* 36:664-669, 1995.
- 56. Karlsson, L., Lindahl, P., Heath, J. K., Betsholtz, C.:** Abnormal gastrointestinal development in PDGF-AA and PDGFR- α deficient mice implicates a novel mesenchymal structure with pupative instructive properties in villus morphogenesis. *Dev.* 127:3457-3466, 2000.
- 57. Kawada, T., Hagihara, K. I., Iwai, Kazuo.:** Effects of capsaicin on lipid metabolism in rats fed a high fat diet. *Journal. Nutr.* 116(7):1272-1280, 1986.
- 58. Kawada, T., Sakabe, S., Watanabe, T., Yamamoto, M., Iwai, K.:** Some pungent principle of spices causes the adrenal medulla to secrete catecholamine in anesthetized rats. *Prog. Oc. Exp. Biol. Med.* 188:229-233, 1988.
- 59. Kawada, T., Suzuki, T., Takahashi, M., Iwai, K.:** Gastrointestinal absorption and metabolism of capsaicin and dihydrocapsaicin in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 72:449-456, 1984.

- 60. Kido, M. A., Muroya, H., Yamaza, T., Terada, Y., Tanaka, T.:** Vanilloid receptor expression in the rat tongue and palate. *J. Dent. Res.* 82:393-397, 2003.
- 61. Kim, C., Robert, A. M., Joshua, I. G.:** Differences in the capsaicin-induced dilation of arterioles and venules in rat striated muscle. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 273(2):605-610, 1995.
- 62. Kim, J. D., Kim, J. M., Pyo, J. O., Kim, S. Y., Kim, B. S., Yu, R., Han, I. S.:** Capsaicin can alter the expression of tumor forming-related genes which might be followed by induction of apoptosis of a Korean stomach cancer cell line SNU-1. *Cancer Lett.* 120:235-241, 1997.
- 63. Kohler, N., Lipton, A.:** Platelets as a source of fibroblast growth, Promoting activity. *Exp. Cell. Res.* 87:273-307, 1974.
- 64. Lawson, T., Gannet, P.:** The mutagenicity and mutagenicity studies with capsaicin of hot peppers. *Anticancer. Res.* 4:117-120, 1984.
- 65. Lei, H., Houland, P., Velez, G., Haran, A., Gilbertson, D., Hirose, T., Kazlauskas, A.:** Potential role for PDGF-C in ophthalmol. *Vis. Sci.*, 48:2335-2342, 2007.
- 66. Liu, L., Simon, S. A.:** Acidic stimuli activates two distinct pathways in taste receptor cell from rat fungiform papillae. *Brain Res.* 923:58-70, 2001.
- 67. Luna, L. G.:** Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. Third ed. Mc Graw-Hill Book Comp. London, 1968.
- 68. Mcvey, D. C., Vigra, S. R.:** The capsaicin VR1 receptor mediates substance P release intoxicin A induced enteritis in rats. *Peptides.* 22:1439-1446, 2001.
- 69. Mezey, E., Toth, Z. E., Cortright, D. N., Arzubi, M. K., Krause, J. E., Elde, R., Guo, A., Blumberg, P. M., Szallasi A.:** Distribution of mRNA for vanilloid receptor subtype 1 (VR1) and VR1-like immunoreactivity in the central nervous system of the rat and human. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97:3655-3660, 2000.
- 70. Moran C., Morales L., Razo R. S., Apolonio J., Quiroz U., Chavira R., Dominguez R.:** Effects of sensorial denervation induced by capsaicin injection at birth or on day three of life, on puberty, induced ovulation and pregnancy. *Life Sciences.* 73 (2003) 2113-2125.
- 71. Mori, A., Lehmann, S., Kelly, J., Kumagai, T., Desmond, J. C., Pervan, M., McBride, W. H., Kizaki, M., Koeffler, H. P.:** Capsaicin, a Component of Red Peppers, Inhibits the Growth of Androgen-Independent, p53 Mutant Prostate Cancer. *Cancer. Res.* 66(6):3222-9, 2006.

- 72. Naponitaya, W.:** Long term effects of capsaicin on fat absorption and the growth of the rat. *Growth*. 37:269-279, 1973.
- 73. Nathan, J. D., Patel, A. A., Ncvey, D. C., Thomas, J. E., Prpic, V., Vigna, S. R., Liddle, R. .:** Capsaicin vanilloid receptor-1 mediates substance P release in experimental pancreatitis. *Am. Jour. Phy.* 281:1322-1328, 2001.
- 72. Nelson, E. K.:** The constitution of capsaicin the pungent principle of capsicum. *J. Am. Chem. Soc.* 41:1115-1121, 1919.
- 73. Nozawa, Y., Nishihara, K., Yamamoto, A., Nakano, M., Ajioka, H., Matsuura, N.:** Distribution and characterization of vanilloid receptors in the rat stomach. *Neurosci. Lett.* 309:33-36, 2001.
- 76. Park, K. K., Surh, Y. J.:** Effects of capsaicin on chemically-induced two-stage mouse skin carcinogenesis. *Cancer. Lett.* 114:183-184, 1997.
- 77. Raybould, H. E.:** Capsaicin sensitivity and epidermal growth factor. *Gut.* 42:314-315, 1998.
- 78. Reigstad, L. J., Varhay, J. E., Lillehang, J. R.:** Structural and functional specificities of PDGF-C and PDGF-D the novel members of the platelet-derived growth factor family. *FEBS. J.* 272:5723-5741, 2005.
- 79. Renzi, D., Mantellini, P., Maggi, C. A., Fucini, C., Surranti, C.:** Ruthenium red selectively antagonizes capsaicin-induced release of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) from the human colon. *Neurosci. Lett.* 126(2):134-136, 1991.
- 80. Roberts, J. C., Davis, J. B., Benham, C. D.:** Resiniferatoxin autoradiography in the CNS of wild-type and TRPV1 null mice defines TRPV1 (VR-1) protein distribution. *Brain. Res.* 995:176-183, 2004.
- 81. Sanchez, J. F., Krause, J. E., Cortright, D. N.:** The distribution and regulation of vanilloid receptor VR1 and VR1 5' splice variant RNA expression in rat. *Neurosci.* 107:373-381, 2001.
- 82. Shure, D., Senior, R. M., Griffin, G. L., Deuel, T. F.:** PDGF-AA homodimers are potent chemoattractants for fibroblast and neutrophils, and for monocytes activated by lymphocytes or cytokines. *Biochem. Biophys. Res.* 186:1510-1514, 1994.
- 83. Singh, S., Natarajan, K., Aggarwal, B. B.:** Capsaicin (C8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide) is potent inhibitor of nuclear transcription factor-kappa activation by diverse agents. *J. Immunol.* 157:4412-20, 1996.
- 84. SPSS 15.0 Command Syntax Reference 2006, SPSS Inc., Chicago Ill.**
- 85. Story, G. M., Crus-Oregano, L.:** Feel the burn. *Am. Sci.* 95(4):326-333, 2007.

- 86. Surh, Y. J., Lee, S. S.:** Capsaicin, double-edge sword: Toxicity, metabolism, and chemopreventive potential. *Life. Sci.* 56(22):1845-1855, 1995.
- 87. Szolcsanyi, J., Bartho, L.:** Capsaicin-sensitive afferents and their role in gastro protection: an update. *J. Phy.* 95:181-188, 2001.
- 88. Tanaka, T., Kohno, H., Sakata, K., Yamada, Y., Hirose, Y.:** Modifying effects of dietary capsaicin and rotenone on 4-nitroquinoline 1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis. *Carcinogenesis.* 23:1361-1367, 2002.
- 89. Tanyolaç, A.:** Özel Histoloji. Yorum basın Yayın. Ankara. 1999.
- 90. True, L. D.:** Principles of immunohistochemistry. Editör: True L.D. Atlas of diagnostic immunohistopathology. New York Press, 1-31, USA, 1990.
- 91. Tsou, M. F., Lu, H. F., Chen, S. C., Wu, L. T., Chen, Y. S.:** Involvement of Bax, Bcl-2 Ca²⁺ and caspase-3 in capsaicin-induced apoptosis of human leukemia HL-60 cells. *Anticancer. Res.* 26:1965-1971, 2006.
- 92. Toth, B., Rogan, E., Walker, B.:** Tumorigenicity and mutagenicity studies with capsaicin of hot peppers. *Anticancer. Res.* 4:117-119, 1984.
- 93. Tütüncü, Ş., Özfiliz, N.:** Gelişme sürecinde capsaicin uygulanmış rat ovaryumlarında vanilloid reseptör 1'in immunohistokimyasal ekspresyonu. Uludağ Üniversitesi Doktora Tezi, Bursa, 2009.
- 94. Udupihille, M.:** The effect of capsaicin on the small intestinal absorption of glukose and alanine in the rat. *J. Phy. Pharmacol.* 37(1):59-62, 1993.
- 95. UNI, Z., GAL-GARBER, O., GEYRA, A., SKLAN, D., YAHAVT, S.:** Changes in growth and function of chick small intestine epithelium due to early thermal conditioning. *Poult. Sci.* 80: 438-445, 2001.
- 96. WWW. Ensymm.com/pdf/ensymm.capsaicin_extraction_abstract.pdf.**
- 97. Yarden, Y., Escobedo, J. A., Kuang, W. J., Yang-ferg, T. C., Daniel, T. O., Tremble, P. M., Chen, E. Y., Ando, M. E., Harkins, R. N., Francke, U.:** Structure of the receptor for platelet-derived growth factor helps define a family of closely related growth factor receptor. *Natu.* 323:226-234, 1986.
- 98. Yeh, H. J., Ruit, K. G., Wang, Y. X., Parks, W. C., Snider W. B., Deuel, T. F.:** PDGF-A chain gene is expressed by mammalian neurons during development and in maturity. *Cell.* 64:209-216, 1991.

8. ÖZGEÇMİŞ

1982 Ardahan doğumluyum. İlk, orta ve lise eğitimimi Kars'ta tamamladım. 2000 yılında başladığım İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat fakültesi Biyoloji bölümünden 2004 yılında mezun oldum. 2004 yılında Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa, 2006 yılında ise aynı anabilim dalında doktora eğitimime başladım ve aynı anabilim Dalı'nda doktora devam etmekteyim. 2011 yılında Kırklareli Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu'nda öğretim görevlisi olarak göreve başladım ve hala görevime devam etmekteyim. Evliyim.