

Nifedipinin İnce Bağırsak Histolojisi Üzerine Etkileri

Canan AKGÜL¹

Haluk ÖZPARLAK^{1*}

İlhami ÇELİK²

Yasemin ÖZNURLU²

¹ Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Konya

² Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Konya

*Sorumlu yazar:

E-mail: hozparlak@selcuk.edu.tr

Geliş Tarihi: Ocak 14, 2015

Kabul Tarihi: Şubat 27, 2015

Özet

Nifedipin başlıca L-tipi kalsiyum kanallarını bloke eden bir kalsiyum kanal blokörüdür. Bu çalışmada ratlara 30 gün süreyle verilen yüksek dozda nifedipinin ince bağırsak histolojisi üzerindeki etkileri çalışmanın 30. gününde ve ayrıca ilaç kesildikten sonraki 40. günde değerlendirilmiştir. Çalışma başlangıcında ratlar kontrol (n=16) ve nifedipin (n=16) grubu olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Nifedipin grubuna bir hafta süreyle toz formundaki 125 mg/kg nifedipin her gün standart rat yemine karıştırılarak verilmiştir. İkinci haftadan itibaren üç hafta boyunca her gün 250 mg/kg nifedipin aynı yöntemle verilmiştir. Çalışmanın 30 ve 70. günlerinde ratların ince bağırsak dokusu örneklerinden histolojik kesitler alınarak ince bağırsağın histolojik yapısında meydana gelen değişiklikler ışık mikroskopunda değerlendirilmiş ve histomorfometrik ölçümler yapılmıştır. Periyodik-asit Schiff (PAS) yöntemiyle boyanan kesitlerde goblet hücreleri de değerlendirilmiştir. Nifedipin uygulanan grubun ince bağırsağına ait villus alanında istatistiksel olarak önemli düzeyde ($p<0.05$) azalma tespit edilmiştir. Villus alanında görülen bu azalmanın nifedipinin yan etkilerine bağlı atrofiden kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır. Nifedipin uygulaması kesilen grupta ise atrofide gerileme tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: İnce barsak, Kalsiyum kanal blokörü, Nifedipin, PAS

Effects of Nifedipine on Histology of Small Intestine

Abstract

Nifedipine is a calcium channel blocker that primarily blocks L-type calcium channels. The aim of this study was to evaluate effects on histology of small intestine of high dose nifedipine, which was administered to the rats for 30 days and also effects of the cessation of the administration after 40 days. The rats were divided into control (n=16) and nifedipine (n=16) groups at the beginning of the study. Standard rat feed containing 125 mg/kg powdered nifedipine was given to the nifedipine group everyday for one week. During the following three weeks, 250 mg/kg nifedipine was given to the rats with the same method. On the 30th and 70th days of the study, histologic sections were obtained from the tissue samples of small intestine. The histological changes occurring in the small intestine were evaluated and histomorphometric measurements were performed under the light microscope. Goblet cells were also evaluated in the sections stained with periodic-acid Schiff (PAS) method. A statistically significant ($p<0.05$) decrease was observed in the villus area of the small intestine of the nifedipine-administered group. It was concluded that the decrease of the villus area might have arisen from atrophy depending on the side effects of nifedipine. Regression in atrophy was observed in the nifedipine-ceased group.

Keywords: Calcium channel blocker, Nifedipine, PAS, Small intestine

GİRİŞ

Kalsiyum kanal blokörleri olarak adlandırılan ilaçlar yaklaşık olarak 1960'lı yıllardan beri kullanılmaktadır. Başta hipertansiyon olmak üzere anjina pectoris, atrial fibrilasyon, atrial ritm bozukluğu, supraventriküler taşikardi, subaraknoid hemorajilerin kısa süreli tedavisinde ayrıca migren, raynaud fenomeni, özafagial spazm ve bipolar hastalıkta kullanılmaktadır [1,2,3]. Günümüzde piyasada bulunan bütün kalsiyum kanal blokörleri hücre membranındaki L-tipi voltaja bağımlı kalsiyum kanalları üzerinde bulunan özel bağlanma yerlerine yüksek afiniteli olarak bağlanır ve bu kanalları bloke ederler. Böylece hücre içine kalsiyum girişini azaltarak etki gösterirler. Bu etkileri damar düz kası ve kalp kası hücreleri düzeyinde oluşturmaktadırlar. Kalsiyum girişini azaltarak damarları gevşetirler, kalp kasını ve diğer kalp hücrelerini deprese ederler [2].

Nifedipin, dihidropiridin türevi ilaçların klinik kullanıma ilk gireni ve en fazla denenmiş olanıdır. Bu grup ilaçların prototipi olarak kabul edilmektedir. Nifedipin, kalsiyumun L-tipi veya diğer adıyla “yavaş kalsiyum kanallarından” geçişini inhibe eder. Damar düz kas ve kalp kası hücrelerindeki kalsiyum kanallarını inhibe ederek uyarılabilir membranlarda kalsiyum akışını önleyerek etki gösterir. Periferik arteriyollerde vazodilatasyon sağlar ve kan basıncının düşmesine sebep olur. Kan basıncını düşüren kısa etki süreli bir ilaçtır ve hemen salın şekilleri hipertansiyon tedavisinde tercih edilmez. Nifedipinin kalsiyum blokajının iki önemli karakteristiği, reversibl olması ve ilaç bırakılınca sona ermesidir [3,4,5].

Hem kemirgen hem de insan bağırsak epitel hücreleri (enterositler) geniş alanda ilaçları ve ksenobiyotikleri metabolize etme yeteneği olan enzimler içerdiğinden, yakın zamanda yapılan çok sayıda klinik çalışma ve klinik öncesi çalışma, ilk geçiş metabolizmasında bağırsakların önemini

göstermiştir. İlaçların veya kimyasalların oral biyoyararlanımı, bağırsak emilimi ve onunla ilişkili ilk geçiş metabolizmasıyla alakalıdır [6]. Nifedipinin farelerdeki preoral biyoyararlanımının yaklaşık olarak %45-58 arasında olduğu bilinmektedir ve ilacın sistemik olarak tek sorumlusunun da karaciğer olduğu düşünülmekteyken, Grundy vd. [7] çalışmalarında, farelerde nifedipinin ilk geçişteki eliminasyonunda bağırsak metabolizmasının da katkıda bulunup bulunmadığını incelemişlerdir. Araştırma sonucunda sistemde bulunan nifedipinin temizlenmesinde karaciğerin etkisinin oldukça az olduğunu gözlemlemişler ve hepatic ekstraksiyona ek olarak nifedipinin ilk geçiş eliminasyonun ince bağırsak duvarında meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Takahiro vd. [8], çalışmalarında nifedipinin ince bağırsak mukozasından geçiş esnasında önemli derecede ekstraksiyona maruz kaldığını göstermişler ve bundan da CYP3A2'nin sorumlu olduğu sonucuna varmışlardır. Nifedipinle yapılan bir diğer çalışmada farelere tek doz nifedipin oral olarak uygulanmış ve üç farklı zamanda ilacın farklı dokulardaki dağılımı ve üriner sekresyonunun farmakokinetik değişiklikleri incelenmiştir. Araştırmanın sonucunda, farelere verilen ilacın üç dozaj zamanlarında dokulardaki dağılımına bakılmış ve ilaç konsantrasyonunun çoğunluğunun diğer dokulara kıyasla ince bağırsak, kalın bağırsak ve mide gibi organların yer aldığı gastrointestinal sistemde olduğu tespit edilmiştir [9].

Nifedipin ve bağırsaklarla ilgili yapılan yukarıda bahsedilen araştırmalara ilaveten çeşitli araştırmalar olmakla birlikte [10,11,12] (histolojik düzeyde çalışma yoktur. Bu çalışmayla yüksek dozdaki nifedipinin ince bağırsak üzerindeki etkileri ışık mikroskopik düzeyde histolojik açıdan değerlendirilmiştir. Böylece nifedipin ile yapılan deneysel çalışmalara ve bu maddenin etkileri hakkındaki literatür bilgilerine katkı sağlanması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada, ortalama 50 g ağırlığındaki 20 günlük 32 adet erkek Wistar albino rat kullanılmıştır. Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deneysel Hayvanları Etik Kurulundan alınan onayla (2009/52) gerçekleştirilmiştir. Başlangıçta ratlar kontrol (n=16) ve nifedipin (n=16) grubu olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu ratlar deney süresince sadece standart rat yemi ve su ile beslenmiştir. Nifedipin grubuna, ratlarda büyümenin baskılanmasını engellemek için bir hafta süreyle toz formundaki nifedipin (125 mg/kg) her gün standart rat yemine karıştırılarak verilmiştir. Gerekli dozun alınmasını sağlamak amacıyla ratların öncelikle nifedipin içeren yemi tüketmesi sağlanmıştır ve daha sonra günlük yem ihtiyacının kalanı verilmiştir. Ratların klinik durumları her gün kontrol edilmiştir. İkinci haftadan itibaren üç hafta boyunca her gün nifedipin (250 mg/kg) aynı yöntemle verilmiştir [5].

30. gün sonunda her iki gruptan sekizer rat servikal dislokasyon ile ötanazi edilmiş ve doku örnekleri alınmıştır. Kalan 16 rat deneyin 70. gününe kadar sadece su ve standart rat yemiyle beslenmiş, 70. gün sonunda servikal dislokasyonla ötanazi edilmiş ve doku örnekleri alınarak %10'luk nötr formalin solüsyonunda tespit edilmiş, ardından parafin blokları hazırlanmıştır.

Dokuların genel histolojik yapılarını değerlendirmek ve histomorfometrik analizlerini (villus eni, villus boyu, villus alanı, tunika muskularis tabakasının kalınlığı)

gerçekleştirmek amacıyla, histolojik kesitler alınarak bir kısmına Hematoksilen-Eozin [13] ve bir kısmına Crossman üçlü boyası [13] uygulanmıştır. İnce bağırsaktaki goblet hücrelerinin belirlenmesi için ise diğer kesitlere PAS (Periodic-Acid Schiff) yöntemi uygulanmıştır [14]. PAS yöntemiyle ince bağırsakta nötral musin salgılayan goblet hücreleri demonstre edilmiştir. Boyamalardan önce kesitler deparafinizasyon ve rehidrasyona tabi tutulmuş, boyamaların ardından dehidre edilen tüm kesitler ksilen serilerinden geçirilerek sentetik reçineyle kapatılmıştır.

Tüm preparatlar dijital kameralı ışık mikroskopuyla (Olympus BX-51 Microscope with Olympus DP-71 Digital Camera System) incelenmiş ve gerekli görülen bölgelerin dijital görüntüleri kaydedilmiştir. Görüntüler, dijital görüntü analiz programıyla (DP2-BSW, Olympus Corporation, Ver. 1.2, 2006) değerlendirilmiş ve aşağıda belirtilen parametrelerin sayısal verileri elde edilmiştir.

Hematoksilen-Eozin ve Crossman üçlü boyasıyla hazırlanan bağırsak preparatlarında her örnekteki villus enini (en ince ve en kalın iki bölgenin ortalaması), yüksekliğini ve alanını belirlemek için en az 30 villus değerlendirilmiştir. Tunika muskularis tabakasının kalınlığını belirlemek için ise her örnekte en az 50 farklı yerden ölçüm yapılmıştır. Her örneğin bağırsak epitel katmanında bulunan goblet hücresi sayısı PAS reaksiyonu ile belirlenmiş ve en az 30 villusunda bulunan goblet hücreleri (villusun sağ ve solu) sayılmıştır. Sonuçlar ortalama goblet hücresi sayısı/birim epitel uzunluğu (100 µm) şeklinde hesaplanmıştır.

İstatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for the Social Sciences 13.0 for Windows, SPSS Inc., Chicago 60606, USA) paket programı kullanılmıştır. Elde edilen verilere non-parametrik testler uygulanmıştır. Kontrol 30 grubu ve nifedipin 30 grubu ile kontrol 70 ve nifedipin 70 grupları arasındaki farkların belirlenmesi için Mann-Whitney U testi uygulanmıştır. Kontrol 30 grubu ve kontrol 70 grubu ile nifedipin 30 ve nifedipin 70 grupları arasındaki farkların belirlenmesi için ise bağımlı iki örneklem Wilcoxon testi uygulanmıştır.

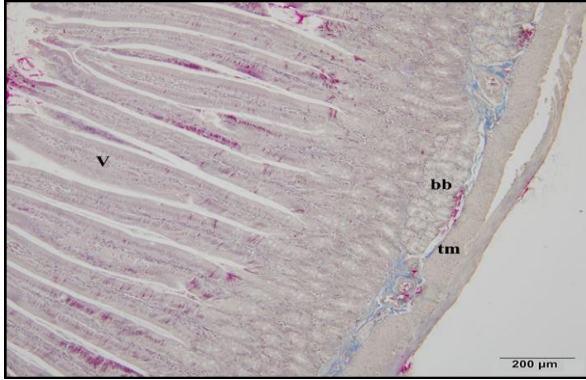
BULGULAR

İnce Bağırsak Dokusundan Elde Edilen Histolojik Bulgular

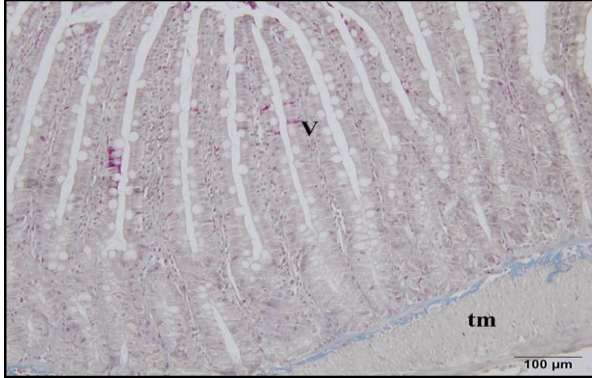
Kontrol gruplarından üçlü boyama uygulanan ince bağırsak dokuları incelendiğinde normal histolojiyle uyumlu olarak bağırsak villus boylarının hemen hemen aynı boyda olduğu, epitelin kesintiye uğramadığı ve tunika muskularis tabakasının da normal yapıda olduğu gözlenmiştir (Şekil 1, 2, 3 ve 4). Kontrol grubu ince bağırsaklarına uygulanan PAS reaksiyonunda epitelde yerleşim gösteren ve mukus salgılayan goblet hücrelerinin genellikle kadeh şeklinde normal yapıda olduğu ve çoğunun salgılama periyodunda olup PAS pozitif reaksiyon gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 5, 6, 7 ve 8).

Kontrol ve nifedipin grupları karşılaştırıldığında ince bağırsağa ait dokularda önemli histolojik farklılık gözlenmemiştir. Üçlü boyamayla boyanan nifedipin gruplarına ait ince bağırsak dokuları incelendiğinde kontrol grubuna kıyasla genellikle villus yapısının korunduğu görülmüştür. Ancak bazı villuslarda kısmen şekil bozukluklarına rastlanmıştır. Bağırsak salgı bez yapısının ise (goblet hücreleri, duodenum bölgesinde bulunan Brunner bezleri) normal olduğu tespit edilmiştir (Şekil 9, 10, 11 ve 12). Ayrıca nifedipin uygulanan gruplarda PAS reaksiyonunda mikrovillus hattının devamlılığı ve goblet

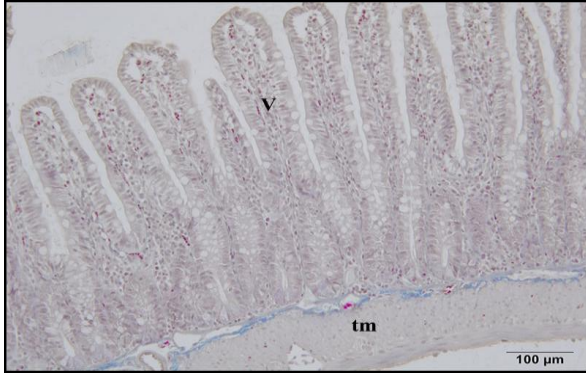
hücrelerinin yapısı ile dağılımının da normal olduğu gözlenmiştir (Şekil 13,14, 15 ve 16).



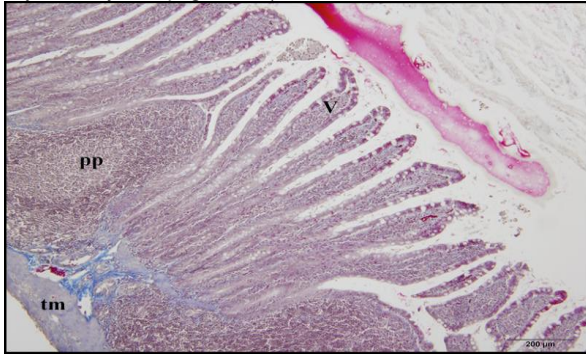
Şekil 1. Kontrol 30 grubuna ait ince bağırsak (duodenum) dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü, tm: tunika muskularis, bb: Bruner bezleri, v: villus. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 200 µm.



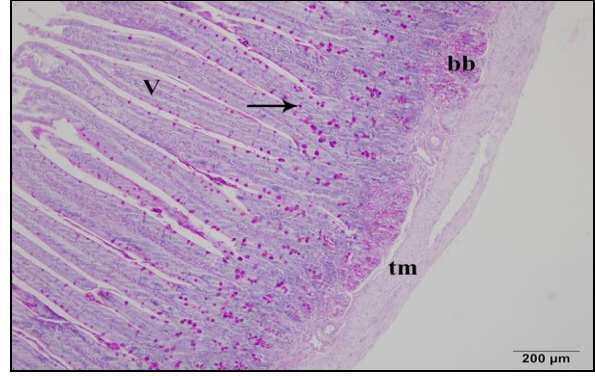
Şekil 2. Kontrol 30 grubuna ait ince bağırsak (jejunum) dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü, tm: tunika muskularis, v: villus. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 100 µm.



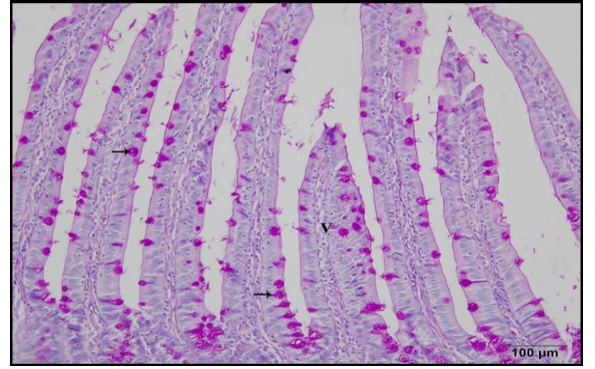
Şekil 3. Kontrol 70 grubuna ait ince bağırsak (jejunum) dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü, tm: tunika muskularis, v: villus. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 100 µm.



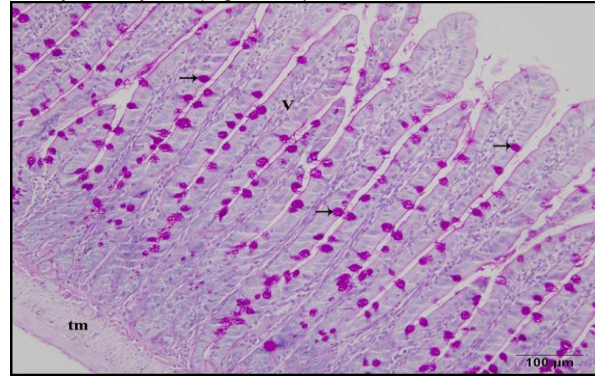
Şekil 4. Kontrol 70 grubuna ait ince bağırsak (ileum) dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü, tm: tunika muskularis, v: villus, pp: Peyer plağı. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 200 µm.



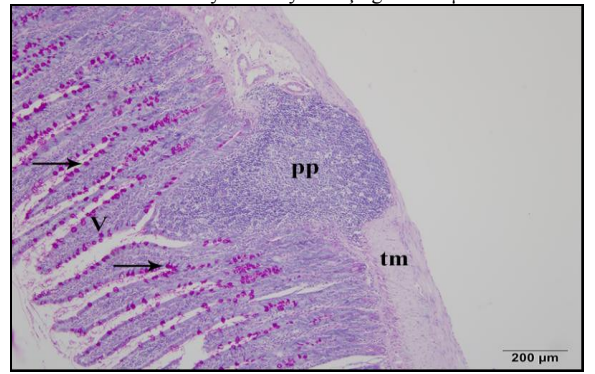
Şekil 5. Kontrol 30 grubuna ait ince bağırsak (duodenum) dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü, tm: tunika muskularis, bb: Brunner bezleri, v: villus, →: goblet hücresi. PAS reaksiyonu. Büyütme çizgisi: 200 µm.



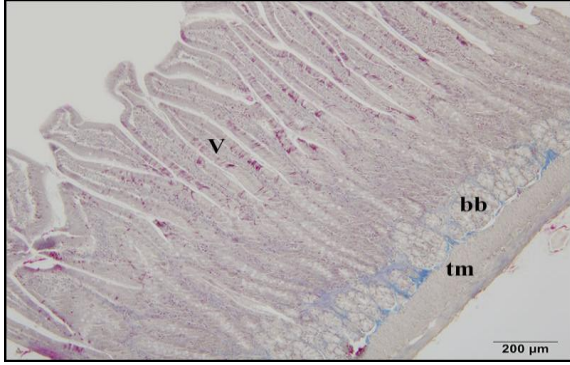
Şekil 6. Kontrol 30 grubuna ait ince bağırsak (jejunum) dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü v: villus, →: goblet hücresi. PAS reaksiyonu. Büyütme çizgisi: 100 µm.



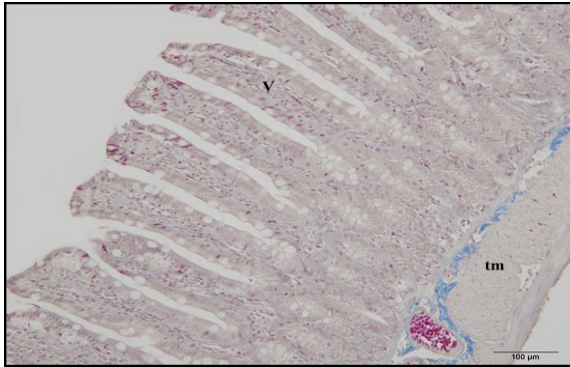
Şekil 7. Kontrol 70 grubuna ait ince bağırsak (jejunum) dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü v: villus, →: goblet hücresi, tm: tunika muskularis. PAS reaksiyonu. Büyütme çizgisi: 100 µm.



Şekil 8. Kontrol 70 grubuna ait ince bağırsak (ileum) dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü, tm: tunika muskularis, v: villus, pp: Peyer plağı, →: goblet hücresi. PAS reaksiyonu. Büyütme çizgisi: 200 µm.



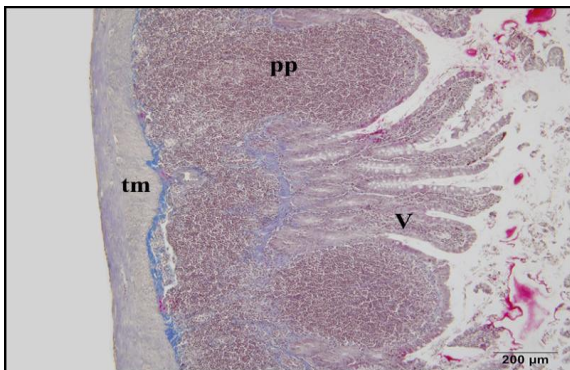
Şekil 9. Nifedipin 30 grubuna ait ince bağırsak (duodenum) dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü, tm: tunika muskularis, bb: Bruner bezleri, v: villus. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 200 µm.



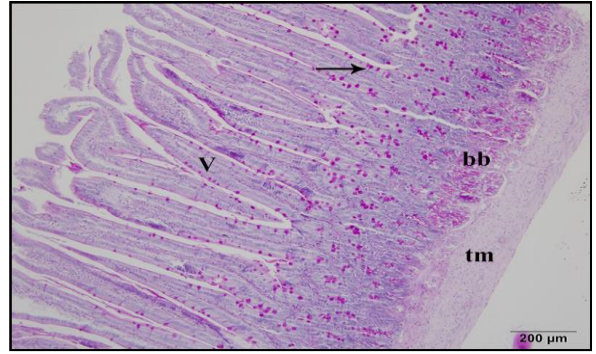
Şekil 10. Nifedipin 30 grubuna ait ince bağırsak (jejunum) dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü, tm: tunika muskularis, v: villus. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 100 µm.



Şekil 11. Nifedipin 70 grubuna ait ince bağırsak (jejunum) dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü, tm: tunika muskularis, v: villus. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 200 µm.



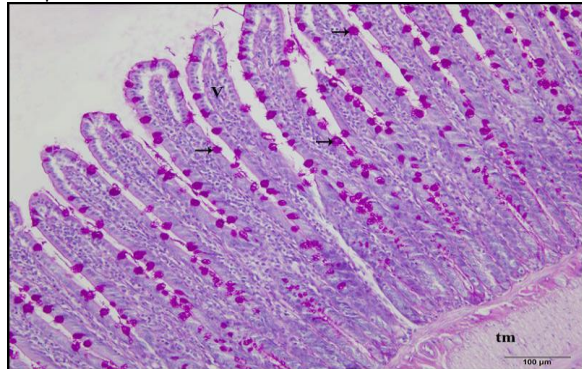
Şekil 12. Nifedipin 70 grubuna ait ince bağırsak (ileum) dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü, tm: tunika muskularis, v: villus, pp: Peyer plağı. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 200 µm.



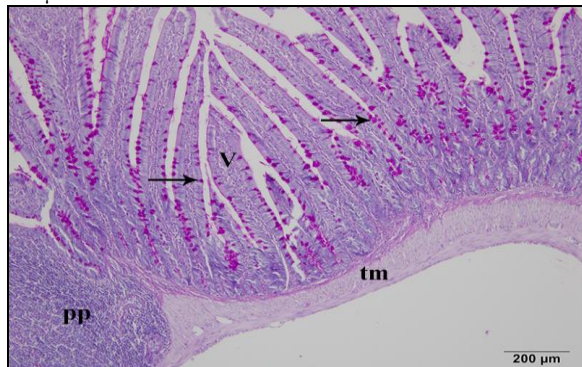
Şekil 13. Nifedipin 30 grubuna ait ince bağırsak (duodenum) dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü, tm: tunika muskularis, bb: Bruner bezleri (bb), v: villus, →: goblet hücresi. PAS reaksiyonu. Büyütme çizgisi: 200 µm.



Şekil 14. Nifedipin 30 grubuna ait ince bağırsak (jejunum) dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü v: villus, →: goblet hücresi, tm: tunika muskularis. PAS reaksiyonu. Büyütme çizgisi: 100 µm.



Şekil 15. Nifedipin 70 grubuna ait ince bağırsak (jejunum) dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü v: villus, →: goblet hücresi, tm: tunika muskularis. PAS reaksiyonu. Büyütme çizgisi: 100 µm.



Şekil 16. Nifedipin 70 grubuna ait ince bağırsak (ileum) dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü, tm: tunika muskularis, v: villus, pp: Peyer plağı, →: goblet hücresi. PAS reaksiyonu. Büyütme çizgisi: 200 µm.

İnce Bağırsak Dokusundan Elde Edilen Histomorfometrik Bulgular

Kontrol 30 ve nifedipin 30 gruplarına ait ince bağırsak doku örneklerinin villus boyu ve villus eni karşılaştırıldığında kontrol 30 grubuna kıyasla nifedipin 30 grubunda azalma görülmüne rağmen istatistiksel olarak önemli bir farklılık ($p>0.05$, Tablo 1) tespit edilmemiştir. Nifedipin 30 grubunun villus alanı ile kontrol 30 grubunun villus alanı karşılaştırıldığında ise nifedipin 30 grubunda istatistiksel olarak önemli düzeyde ($p<0.05$, Tablo 1) azalma tespit edilmiştir. Değerlendirilen bağırsak dokularının birim uzunluktaki goblet hücre sayısı nifedipin 30 grubunda kontrol 30 grubuna kıyasla artış göstermekle birlikte istatistiksel olarak önemli bir farklılık ($p>0.05$, Tablo 1) belirlenmemiştir. Bunların yanı sıra kontrol 30 ve nifedipin 30 gruplarında tunika muskularis tabakası kalınlığının hemen hemen aynı kalınlıkta olduğu tespit edilmiştir ($p>0.05$, Tablo 1).

Tablo 1. Kontrol 30 ve nifedipin 30 gruplarındaki ratların ince bağırsak dokularından elde edilen histomorfometrik veriler

	KONTROL 30 (n=8)	NİFEDİPİN 30 (n=8)
Villus Boyu (µm)	509.36±92.80 ^z	430.41±64.57
Villus Eni (µm)	90.37±22.66	77.40±5.71
Villus Alanı (µm ²)	49877.88±22126.65	35809.23±6790.01*
Goblet Hücresi /100 µm	4.39±0.85	4.65±0.80
Tunika Muskularis Kalınlığı (µm)	108.75±20.52	108.86±11.50

^z $\bar{X} \pm SS$; *Kontrol grubu ile arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$, Mann-Whitney U testi)

Kontrol 70 ve nifedipin 70 gruplarına ait ince bağırsak doku örneklerinin villus boyu, eni ve alanı karşılaştırıldığında kontrol 70 grubuna kıyasla nifedipin 70 grubunda azalma görülmekle birlikte istatistiksel olarak önemli bir farklılık ($p>0.05$, Tablo 2) belirlenmemiştir. Değerlendirilen bağırsak dokularının birim uzunluktaki goblet hücre sayısı ve tunika muskularis tabakasının kalınlığında da nifedipin 70 grubunda kontrol 70 grubuna kıyasla azalma görülmekle birlikte istatistiksel olarak önemli bir farklılık ($p>0.05$, Tablo 2) tespit edilmemiştir.

Tablo 2. Kontrol 70 ve nifedipin 70 gruplarındaki ratların ince bağırsak dokularından elde edilen histomorfometrik veriler

	KONTROL 70 (n=8)	NİFEDİPİN 70 (n=8)
Villus Boyu (µm)	539.17±154.70 ^z	429.67±169.24
Villus Eni (µm)	90.32±11.23	78.34±14.03
Villus Alanı (µm ²)	51756.67±17281.79	38150.41±19826.24
Goblet Hücresi /100 µm	6.01±1.78	5.60±2.05
Tunika Muskularis Kalınlığı (µm)	112.46±15.40	107.30±22.35

^z $\bar{X} \pm SS$; Gruplar arasında istatistiksel olarak önemli fark yoktur ($p>0.05$, Mann-Whitney U testi)

Bu çalışmada ayrıca kontrol 30 ve 70 grupları ile nifedipin 30 ve 70 grupları kendi aralarında bağımlı

örneklem testiyle karşılaştırılmıştır. Böylece 30 gün süreyle nifedipin verilen ve nifedipin kesildikten 40 gün sonraki ratlardan elde edilen veriler karşılaştırılmıştır. Kontrol 70 grubunda kontrol 30 grubuna kıyasla villus boyu, villus alanı, birim uzunluktaki goblet hücre sayısı ve tunika muskularis kalınlığında artış görülmüştür; ancak istatistiksel olarak önemli bir farklılık ($p>0.05$, Tablo 3) tespit edilmemiştir. Kontrol 30 ve 70 gruplarındaki villus eninin ise hemen hemen aynı olduğu gözlenmiştir ($p>0.05$, Tablo 3).

Tablo 3. Kontrol 30 ve kontrol 70 bağımlı gruplarındaki ratların ince bağırsak dokusundaki histomorfometrik verilerin karşılaştırılması

	KONTROL 30 (n=8)	KONTROL 70 (n=8)
Villus Boyu (µm)	509.36±92.80 ^z	539.17±154.70
Villus Eni (µm)	90.37±22.66	90.32±11.23
Villus Alanı (µm ²)	49877.88±22126.65	51756.67±17281.79
Goblet Hücresi /100 µm	4.39±0.85	6.01±1.78
Tunika Muskularis Kalınlığı (µm)	108.75±20.52	112.46±15.40

^z $\bar{X} \pm SS$; Gruplar arasında istatistiksel olarak önemli fark yoktur ($p>0.05$, Wilcoxon testi)

Nifedipin 30 ve 70 gruplarındaki ratların bağırsak dokularından elde edilen histomorfometrik veriler de karşılaştırılmıştır. Nifedipin 70 grubunda villus boyu ve tunika muskularis tabakası kalınlığında azalma gözlenirken, nifedipin 30 grubunda villus eni ve alanı ile goblet hücre sayısında azalma görülmüştür. Ancak bu iki grup arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p>0.05$, Tablo 4) tespit edilmemiştir.

Tablo 4. Nifedipin 30 ve nifedipin 70 bağımlı gruplarındaki ratların ince bağırsak dokusundaki histomorfometrik verilerin karşılaştırılması

	NİFEDİPİN 30 (n=8)	NİFEDİPİN 70 (n=8)
Villus Boyu (µm)	430.41±64.57 ^z	429.67±169.24
Villus Eni (µm)	77.40±5.71	78.34±14.03
Villus Alanı (µm ²)	35809.23±6790.01	38150.41±19826.24
Goblet Hücresi /100 µm	4.65±0.80	5.60±2.05
Tunika Muskularis Kalınlığı (µm)	108.86±11.50	107.30±22.35

^z $\bar{X} \pm SS$; Gruplar arasında istatistiksel olarak önemli fark yoktur ($p>0.05$, Wilcoxon testi)

TARTIŞMA

Sindirim sisteminin bir bölümü olan ince bağırsak vücudun önemli görevlerini üstlenir. İnce bağırsak canlının enerji ve yapı taşı gereksiniminin karşılanmasında etkin rol oynar. Bu nedenle ince bağırsağın morfolojik yapısında oluşabilecek değişiklikler fonksiyonlarını etkileyerek onarılması güç olumsuz etkilere sebebiyet verebilir [15,16].

Bağırsak içeriğinde bulunan mukus çoğu bakterinin agregasyonuna yol açar ve bu sayede patojenik bakterilerin

bağırsak epiteline tutunmasını engeller. Bu nedenle mukus katmanı doğal savunma mekanizmasının önemli öğelerinden birisidir [17,18]. Bağırsak musinleri goblet hücreleri tarafından sentezlenen, depo edilen ve salgılanan büyük, negatif yüklü glikoproteinlerdir [19]. Goblet hücrelerinin ilk olarak kriptlerde olduğu ve ardından olgunlaşarak villuslara göç ettiği kabul edilmektedir [20,21,22]. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda ince bağırsak goblet hücre sayısının ve hacminin diyet, mikrobiyal flora, villus boyu ve çevresel faktörlerle son derece bağlantılı olduğu ortaya konmuştur [21,23,24]. Chang vd. [25] ince bağırsakta yüzeyel iskemi-reperfüzyon (IR) hasarı oluşturmuşlar ardından hızlı mukoza onarımında villus tepelerinde goblet hücre birikimi olduğunu saptamışlar ve yapmış oldukları çalışmayla artan goblet hücrelerinin musin üretimini ve sekresyonunu arttırarak intestinal hasarın onarımında rol oynadığı sonucuna ulaşmışlardır. Bazı araştırmacılar da yaptıkları çalışmalarla IR'den 2-3 gün sonra goblet hücre sayısında artma saptamışlar ve bu veriyi de goblet hücrelerinin tamirinde rol oynadığı şeklinde yorumlamışlardır [26,27,28]. Diğer taraftan yapılan çalışmalar goblet hücrelerinin villus tepelerinde proliferasyonla çoğalmak yerine, kript bazallerinden villuslara göç ettiğini kanıtlamıştır [29,30]. Dağ vd. [31] ise çalışmalarında 15 dk iskemi uygulanan ratların bağırsak dokularındaki epitel devamlılığının bozulması, villusların harabiyete uğramasından bağırsak hücrelerinin lümeneye döküldüğü ve/veya dejenere olduğunu bunların sonucunda da villus goblet hücrelerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Gül vd. [32] açlık gibi fizyolojik bir olayda ince bağırsak goblet hücre sayısında belirgin azalma gözlemlemişler ve bu azalmanın kısmen yüzey epitelinde ve Lieberkühn kriptelerindeki bozulmaya bağlı olduğunu ifade etmişlerdir. Aragona vd. [33] tavşanlarda yaptıkları çalışmada, gebe tavşanların goblet hücresi sayısında kontrol grubuna göre istatistiksel anlamda bir değişimin olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, gebe tavşanların goblet hücrelerinin ortalama çaplarının ve alanlarının kontrol grubuna göre daha yüksek değerlerde olduğunu ifade etmişlerdir. Şensoy [34] farelerde gebeliğin farklı dönemlerinde, duodenumda goblet hücre sayısının gebeliğin birinci ve ikinci haftalarında azalmasına karşın gebeliğin üçüncü haftasında arttığını, jejunum ve ileumda ise goblet hücre sayısının gebelik süresince azaldığını tespit etmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise kuluçkada deneysel olarak oluşturulan ısı stresinin broylerlerde (etçi tavuk) ince bağırsağın embriyonik gelişimi üzerindeki etkileri araştırılmış ve ince bağırsağın goblet hücre yoğunluklarının kontrol grubuyla benzer olduğu saptanmış ve yüksek kuluçka sıcaklığının ince bağırsak goblet hücresi üzerine etkisinin olmadığı tespit edilmiştir [35].

Yukarıda yapılan çalışmalarda açlık, gebelik, IR ve ısı gibi faktörlerin villuslardaki goblet hücrelerinin sayısı üzerindeki etkileri rapor edilmiştir. Bu çalışmada ratlara yüksek doz nifedipin 30 gün süreyle verilmesi ve ardından nifedipin uygulamasının kesilmesi, kontrol grubuna kıyasla nifedipin grubundaki villusların goblet hücre yoğunluğunda artma ve azalmalara sebep olmuştur; ancak bu değişiklikler istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmamıştır. Bu veriler ışığında nifedipinin villus goblet hücresi yoğunluğunda olumsuz bir etkiye sebep olmadığı sonucuna varılmıştır.

Gül vd. [32] açlığın ince bağırsağa etkisi üzerine yaptıkları bir çalışmada deney süresi boyunca ince bağırsak epitel yüzeyinde, bez lümeninde ve goblet hücrelerinin apikal sitoplazmasında yer alan musinin boyanma

özelliğinde bir değişiklik gözlemlememişlerdir. Bunun sonucunda da açlığın musin histokimyasında bir değişiklik oluşturmadığını ifade etmişlerdir. Mevcut bu çalışmada nifedipin grubundaki ratların kontrol grubuna kıyasla PAS boyaması yapılan ince bağırsak dokuları incelendiğinde nifedipinin musin histokimyasında bir değişiklik oluşturmadığı gözlenmiştir.

Lipscomb ve Sharp [36] çalışmalarında uzun süreli yarı açlığın tunika muskularis tabakası kalınlığı üzerine etkili olduğunu ifade etmişlerdir. Bu çalışmada ise kontrol gruplarıyla kıyaslanan nifedipin gruplarındaki tunika muskularis kalınlığında herhangi bir değişiklik tespit edilmemiştir. Etki şekli vasküler düz kaslar üzerine olan nifedipinin yüksek dozda ince bağırsak düz kası üzerine histomorfometrik açıdan bir etkiye sebep olmadığı sonucuna varılmıştır.

Gül vd. [32] çalışmalarında açlığın duodenum villuslarında parçalanmaya ve düzensizliğe sebep olduğunu ifade etmişlerdir. Ross ve Mayhew [37] yapmış oldukları çalışmada açlığa bağlı olarak villuslarda şekil değişikliği gözlemlemişlerdir. Villuslarda gözlenen bu şekil değişikliğini ince bağırsaktaki kan akımı, mukoza epitel hücrelerinin hacim ve sayısal değişimleriyle ilgili olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada çok sık olmamakla birlikte kontrol ve nifedipin gruplarında villuslarda şekil değişiklikleri gözlenmiştir. Her iki grupta da villuslarda şekil değişikliğine rastlanıldığından nifedipinin villus morfolojisi üzerine önemli bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır.

Ross ve Mayhew [37] açlığın ratlar üzerindeki etkisiyle ilgili çalışmalarında ince bağırsak villus boyunda değişme olmazken villus alanında gözlenen azalmayı bağırsak mukozasındaki bir atrofiye işaret ettiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada nifedipin 30 ve kontrol 30 grupları kıyaslandığında nifedipin 30 grubundaki villus boyunda ve eninde önemli olmamakla birlikte azalma görülmüştür. Villus alanında ise istatistiksel olarak önemli düzeyde azalma tespit edilmiştir. Bu bulgular yüksek dozdaki nifedipinin ince bağırsak villuslarında atrofiye sebep olduğuna işaret edebilir. Nifedipin kesildikten sonra ise kontrol 70 ve nifedipin 70 grupları aralarında kıyaslandığında villus eni, boyu ve villus alanında azalma olmakla birlikte istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Bu da nifedipinin kesilmesinden sonra villuslarda görülen atrofinin gerilediğine işaret edebilir. Kontrol 30 ve kontrol 70 grupları arasında istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte kontrol 70 grubunda villus alanında artma görülmüştür. Bu durum kontrol 70 grubundaki ratların kontrol 30 grubuna kıyasla ağırlıklarındaki artış ve büyümeleriyle paraleldir. Ayrıca nifedipin 30 ve nifedipin 70 gruplarında da istatistiksel olarak önemli olmamakla birlikte nifedipin 70 grubunda villus alanında artma tespit edilmesi atrofinin azaldığı şeklinde yorumlanabilir.

Uzun süreli açlık gibi faktörlerin sebep olduğu histolojik değişikliklerden biri de bağ dokusu artışıdır. Gül vd. [32] bağ dokusu artışını doku tamirinin istenmeyen bir sonucu olduğunu ifade etmişler ve çalışmalarında açlığa bağlı olarak bağırsak mukozasında bir bağ dokusu artışı gözlemlemişlerdir. Mangıroğlu [5] yapmış olduğu çalışmada ise nifedipin verilen ratların dişetinden alınan kesitlerde periodontal dokuları incelemiş ve nifedipin verilen gruplarda gingival marjın (dişeti çizgisi) epitel yüksekliğinde, bağ dokusu genişliğinde ve bağ dokusu yüksekliği değerlerinde artış tespit etmiştir. Bu çalışmada ise nifedipin grubundaki ince bağırsak dokularında fark edilebilir bir bağ dokusu artışı gözlenmemiştir.

Teşekkür

Bu çalışma Canan AKGÜL'ün Yüksek Lisans Tezinden üretilmiştir. Deneysel aşamadaki katkılarından dolayı Dr. Cem MANGIROĞLU'na teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

[1] Abernethy, D. R. and Schwartz, J. B. 1999. Calcium-antagonist drugs The New England Journal of Medicine. 341: 1447-1457.

[2] Hedge, M. 2005. Calcium channel blocker toxicology. Journal of Pharmacy Practice. 18 (3): 169-174.

[3] Kayaalp, S. O. 2005. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 11. Baskı, Hacettepe Taş Yayıncılık, Ankara.

[4] Kayaalp, S. O. 2002. Kalsiyum kanal blokörleri ve ACE inhibitörlerinin farmakolojisi. 10. Baskı, Hacettepe Taş Kitabevi, Ankara.

[5] Mangiroğlu, C. 2011. Nifedipine bağlı dişeti büyümesi oluşturulan ratların periodontal dokularında apoptozisin *in situ* olarak incelenmesi. Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.

[6] Poet, T. S., Wu, H., Kousba, A. A. and Timchalk, C. 2003. In Vitro rat hepatic and intestinal metabolism of the organophosphate pesticides chlorpyrifos and diazinon. Toxicology Science. 72: 193-200.

[7] Grundy, J. S., Eliot, L. A. and Foster, R. T. 1997. Extrahepatic first-pass metabolism of nifedipine in the rat. Biopharmaceutics and Drug Disposition. 18 (6): 509-522.

[8] Takahiro, I., Katsuhisa, I., Yayoi, H., Hiroaki, Y. and Jun, W. 2002. Metabolic extraction of nifedipine during absorption from the rat small intestine. Drug Metabolism Pharmacokinetic. 17 (6): 546-553.

[9] Qing-Ri, C., Tae-Wan, K., Jun-Shik, C. and Beom-Jin, L. 2005. Circadian variations in the pharmacokinetics, tissue distribution and urinary excretion of nifedipine after a single oral administration to rats. Biopharmaceutics and Drug Disposition. 26: 427-437.

[10] Sun, S., Greenstein, S. M., Kim, D. Y., Schreiber, T. C., Schechner, R. S. and Tellis, A. V. 1997. Nifedipine protects small intestine from cyclosporine induced hemodynamic and functional impairment. Journal of Surgical Research. 69: 295-299.

[11] Bassotti, G., Calcara, C., Annese, V., Fiorella, S., Roselli, P. and Morelli, A. 1998. Nifedipine and verapamil inhibit the sigmoid colon myoelectric response to eating in healthy volunteers. Diseases of the Colon & Rectum. 41: 377-380.

[12] Uğurlu, L., Turan, M., Canbay, E., Elagöz, S. and Sen, M. 2003. Effect of nifedipine on the healing of left colonic anastomoses in rats. Surgery Today. 33: 902-908.

[13] Culling, C. F. A., Allison, R. T. and Barr, W. T. 1985. Cellular pathology technique, Butterworths and Co Ltd, London.

[14] Bancroft, J. D., Cook, H. C. and Sterling, R. W. 1994. Manual of histological technique and their diagnostic application, Churchill Livingstone, Philadelphia.

[15] Koca, B. Y. 1993. Karbon tetraklorürün fare bağırsak dokusunda oluşturduğu morfolojik farklılaşma. Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas.

[16] Koca, B. Y. 1996. Sıçanlarda deneysel olarak oluşturulan koledok tıkanıklığı ve tıkanıklığın giderilmesi sonrası karaciğerin histolojik yapısı. Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sivas.

[17] Allen, A., Flemstrom, G., Garner, A. and Kivilakso, E. 1993. Gastrointestinal mucosal protection. Physiological Reviews. 73: 823-857.

[18] Gu, X., Li, D. and She, R. 2002. Effect of weaning on small intestinal structure and function in the piglet. Archives of Animal Nutrition. 56: 275-286.

[19] Kemper, A. C. and Specian, R. E. D. 1991. Rat small intestinal mucins. A quantitative analysis. The Anatomical Record. 229: 219-226.

[20] Zecchini, V., Domaschensz, R., Winton, D. and Jones, P. 2005. Notch signaling regulates the differentiation of post mitotic intestinal epithelial cells. Archive of Genes and Development 19 (14): 1686-1691.

[21] Brown, D. C., Maxwell, C. V., Erf, G. F., Davis, M. E., Singh, S. and Johnson, Z. B. 2006. The influence of different management systems and age on intestinal morphology, immune cell numbers and mucin production from goblet cells in post weaning pigs. Veterinary Immunology and Immunopathology. 111 (3-4): 187-198.

[22] Gersemann, M., Becker, S., Kübler, I., Koslowski, M., Wang, G. and Herrlinger, K. R. 2009. Differences in goblet cell differentiation between Crohn's disease and ulcerative colitis. Differentiation. 77 (1): 84-94.

[23] Miller, H. R., Huntley, J. F. and Wallace, G. R. 1981. Immune exclusion and mucus trapping during the rapid expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* from primed rats. Immunology. 44 (2): 419-29.

[24] Yunus, M., Horii, Y., Makimura, S. and Smith, A. L. 2005. Murine goblet cell hypoplasia during *Eimeria pragensis* infection is ameliorated by clindamycin treatment. Journal Veterinary Medical Science. 67 (3): 311-315.

[25] Chang, J. X., Chen, S., Ma, L. P., Jiang, L. Y., Chen, J. W. and Chang, R. M. 2005. Functional and morphological changes of the gut barrier during the restitution process after hemorrhagic shock. World Journal Gastroenterology. 11 (35): 5485-5491.

[26] Cohen, P. S., Rossoll, R., Cabelli, V. J., Yang, S. L. and Laux, D. C. 1983. Relationship between the mouse colonizing ability of a human fecal *Escherichia coli* strain and its ability to bind a specific mouse colonic mucous gel protein. Infection and Immunity. 40 (1): 62-69.

[27] Ikeda, H., Suzuki, Y., Suzuki, M., Koike, M., Tamura, J. and Tong, J. 1998. Apoptosis is a major mode of cell death caused by ischaemia and ischaemia/reperfusion injury to the rat intestinal epithelium. Gut. 42 (4): 530-537.

[28] Chan, K. L., Zhang, X. H., Fung, P. C., Guo, W. H. and Tam, P. K. 1999. Role of nitric oxide in intestinal ischaemia a reperfusion injury studied using electron paramagnetic resonance. British Journal of Surgery. 86 (11): 1427-1432.

[29] Itoh, H., Yagi, M., Fushida, S., Tani, T., Hashimoto, T., Shimizu, K. and Miwa, K. 2000. Activation of immediate early gene, c-fos, and c-jun in the rat small intestine after ischemia/reperfusion. Transplantation 69 (4): 598-604.

[30] Ikeda, H., Yang, C. L., Tong, J., Nishimaki, H., Masuda, K. and Takeo, T. 2002. Rat small intestinal goblet cell kinetics in the process of restitution of surface epithelium subjected to ischemia/reperfusion injury. Digestive Diseases and Sciences. 47 (3): 590-601.

[31] Dağ, M., Kuruş, M., Söğütü, G., Eşrefoğlu, M., Öztürk, F., Yoloğlu, S. ve Otlı, A. 2010. İskemi-reperfüzyon uygulanan sıçan jejunum goblet hücrelerinin morfolojik ve sayısal değişimi. Turkish Clinical Journal of Medical Sciences. 30 (3): 952-961.

[32] Gül, M., Eşrefoğlu, M. ve Uçar, M. 2004. Açlığın sıçan ince bağırsak mukozasında oluşturduğu histolojik ve histokimyasal değişiklikler. Turkish Clinical Journal of Gastroenterohepatology. 15: 9-17.

[33] Aragona, P., Puzzolo, D., Micali, A., Ferrer, G. 1998. Morphological and morphometric analysis on the rabbit conjunctival goblet cells in different hormonal conditions. *Experimental Eye Research*. 66(1): 81-88.

[34] Şensoy, E. 2013. Farelerde, gebeliğin farklı dönemlerinde ince bağırsak dokusundaki değişikliklerin histolojik, enzim histokimyasal ve immunohistokimyasal yöntemlerle belirlenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya.

[35] Özaydın, T. 2009, Kuluçkada deneysel olarak oluşturulan ısı stresinin Broylerlerde ince bağırsağın embriyonik gelişimi üzerindeki etkilerinin histokimyasal, immunohistokimyasal ve histomorfometrik metotlarla belirlenmesi. Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.

[36] Lipscomb, H. L. and Sharp, J. G. 1982. Effects of reduced food intake on morphometry and cell production in the small intestine of the rat. *Virchows Archive B: Cell Pathology Including Molecular Pathology*. 41(3): 285-292.

[37] Ross, G. A. and Mayhew, T. M. 1984. Effects of fasting on villi along the small intestine a stereological approach to the problem of quantifying villus shape. *Experientia*. 40: 856-858.