

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANA BİLİM DALI

**SIÇAN KALIN BAĞIRSAĞINDA YAŞA BAĞLI DEĞİŞİMLERİN IŞIK VE
ELEKTRON MİKROSKOBU DÜZEYİNDE DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Çağla Zübeyde GÜR

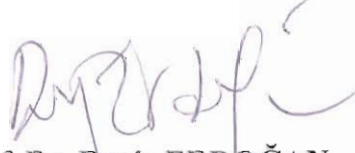
Tez Danışmanı
Prof. Dr. Deniz ERDOĞAN

ANKARA
Ocak 2009

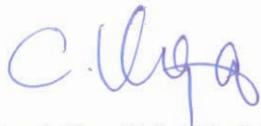
T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütölmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:11/02/2009



Prof. Dr. Deniz ERDOĞAN
Gazi Üniversitesi
Jüri başkanı



Prof. Dr. Celal ILGAZ
Gazi Üniversitesi



Prof. Dr. Engin ÇALGÜNER
Gazi Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	I
İçindekiler	II
Tablolar, Grafikler, Resimler	IV
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2. 1. Kalın Bağırsakların Gelişimi	3
2. 2. Kalın Bağırsak Anatomisi	6
2.2.a Caecum Anatomisi	7
2.2.b Colon Anatomisi	8
2.2.c Rectum Anatomisi	13
2.2.d Canalis analis Anatomisi	14
2. 3. Kalın Bağırsak Histolojisi	15
2. 4. Kalın Bağırsak Fizyolojisi	22
2. 5. Kalın Bağırsaklarda Hücre Yenilenmesi	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	35
3. 1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma	35
3. 2. Histokimyasal Yöntem	36
3. 3. İmmünohistokimyasal Yöntem	38
3. 4. Elektron Mikroskopik Yöntem	40
3.5. İstatistiksel Yöntem	43
4. BULGULAR	45
4.1. Işık Mikroskobu Bulguları	45
4.2. Elektron Mikroskobu Bulguları	50

4.3. İstatistiksel Bulgular	52
5. TARTIŞMA	101
6. SONUÇ	116
7. ÖZET	117
8. SUMMARY	119
9. KAYNAKLAR	121
10. ÖZGEÇMİŞ	130
11. TEŞEKKÜR	131

Tablolar, Grafikler, Resimler

A) Tablolar:

Tablo 1: Farklı yaş gruplarında goblet hücresi sayısının karşılaştırılması.

Tablo 2: Farklı yaş gruplarında kripta uzunluğunun karşılaştırılması.

Tablo 3: Farklı yaş gruplarında kas uzunluğunun karşılaştırılması.

Tablo 4: Farklı yaş gruplarında PCNA pozitif hücre sayısının değerlendirilmesi.

Tablo 5: Farklı yaş gruplarında Kaspaz 9 pozitif hücre sayısının değerlendirilmesi.

Tablo 6: Farklı yaş gruplarında Kaspaz 8 pozitif hücre sayısının değerlendirilmesi.

Tablo 7: Farklı yaş gruplarında Kaspaz 3 pozitif hücre sayısının değerlendirilmesi.

B) Grafikler:

Grafik 1 : Goblet hücre sayısının yaşa koşut değerlendirilmesi.

Grafik 2: Kripta uzunluğunun yaşa koşut değerlendirilmesi.

Grafik 3: Kas uzunluğunun yaşa koşut değerlendirilmesi.

Grafik 4: PCNA antikoru tutulumunun yaşa koşut değerlendirilmesi.

Grafik 5: Kaspaz 9 antikoru tutulumunun yaşa koşut değerlendirilmesi.

Grafik 6: Kaspaz 8 antikoru tutulumunun yaşa koşut değerlendirilmesi.

Grafik 7: Kaspaz 3 antikoru tutulumunun yaşa koşut değerlendirilmesi.

C) Resimler:

Resim 1 : 1 günlük sıçan kalın bağırsağında Alsian mavisi- PAS boyaması.

Resim 2A, 2B: 22 günlük sıçan kalın bağırsağında Alsian mavisi- PAS boyaması.

Resim 3A, 3B: Büyük büyültmeli resimlerde 4 haftalık sıçan kalın bağırsağında Alsian mavisi- PAS boyaması.

Resim 3C: Küçük büyültmeli resimde 4 haftalık sıçan kalın bağırsağında Alsian mavisi- PAS boyaması.

Resim 4A, 4B: Büyük büyültmeli resimlerde 10 haftalık sıçan kalın bağırsağında Alsian mavisi- PAS boyaması.

Resim 4C: Küçük büyültmeli resimde 10 haftalık sıçan kalın bağırsağında Alsian mavisi- PAS boyaması.

Resim 5A, 5B: Büyük büyültmeli resimlerde 8 aylık sıçan kalın bağırsağında Alsian mavisi- PAS boyaması.

Resim 5C: Küçük büyültmeli resimde 8 aylık sıçan kalın bağırsağında Alsian mavisi- PAS boyaması.

Resim 6A, 6B: Büyük büyültmeli resimlerde 22 aylık sıçan kalın bağırsağında Alsian mavisi- PAS boyaması.

Resim 6C: Küçük büyültmeli resimde 22 aylık sıçan kalın bağırsağında Alsian mavisi- PAS boyaması.

Resim 7: 1 günlük sıçan kalın bağırsağında PCNA antikoru tutulumu.

Resim 8A, 8B: Büyük büyültmeli resimlerde 22 günlük sıçan kalın bağırsağında PCNA antikoru tutulumu.

Resim 8C: Küçük büyültmeli resimde 22 günlük sıçan kalın bağırsağında PCNA antikoru tutulumu.

Resim 9A: Büyük büyültmeli resimde 4 haftalık sıçan kalın bağırsağında PCNA antikoru tutulumu.

Resim 9B: Küçük büyültmeli resimde 4 haftalık sıçan kalın bağırsağında PCNA antikoru tutulumu.

Resim 10A: Büyük büyültmeli resimde 10 haftalık sıçan kalın bağırsağında PCNA antikoru tutulumu.

Resim 10B: Küçük büyültmeli resimde 10 haftalık sıçan kalın bağırsağında PCNA antikoru tutulumu.

Resim 11A: Büyük büyültmeli resimde 8 aylık sıçan kalın bağırsağında PCNA antikoru tutulumu.

Resim 11B: Küçük büyültmeli resimde 8 aylık sıçan kalın bağırsağında PCNA antikoru tutulumu.

Resim 12A : Büyük büyültmeli resimde 22 aylık sıçan kalın bağırsağında PCNA antikoru tutulumu.

Resim 12B: Küçük büyültmeli resimde 22 aylık sıçan kalın bağırsağında PCNA antikoru tutulumu.

Resim 13A: Büyük büyültmeli resimde 1 günlük sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 9 antikoru tutulumu.

Resim 13B: Küçük büyültmeli resimde 1 günlük sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 9 antikoru tutulumu.

Resim 14A: Büyük büyültmeli resimde 22 günlük sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 9 antikoru tutulumu.

Resim 14B: Küçük büyültmeli resimde 22 günlük sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 9 antikoru tutulumu.

Resim 15A: Büyük büyültmeli resimde 4 haftalık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 9 antikoru tutulumu.

Resim 15B: Küçük büyültmeli resimde 4 haftalık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 9 antikoru tutulumu.

Resim 16A: Büyük büyültmeli resimde 10 haftalık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 9 antikoru tutulumu.

Resim 16B: Küçük büyültmeli resimde 10 haftalık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 9 antikoru tutulumu.

Resim 17A, 17B: Büyük büyültmeli resimlerde 8 aylık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 9 antikoru tutulumu.

Resim 17C: Küçük büyültmeli resimde 8 aylık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 9 antikoru tutulumu.

Resim 18A, 18B: Büyük büyültmeli resimlerde 22 aylık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 9 antikoru tutulumu.

Resim 18C: Küçük büyültmeli resimde 22 aylık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 9 antikoru tutulumu.

Resim 19: 1 günlük sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 8 antikoru tutulumu.

Resim 20: 22 günlük sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 8 antikoru tutulumu.

Resim 21: 4 haftalık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 8 antikoru tutulumu.

Resim 22: 10 haftalık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 8 antikoru tutulumu.

Resim 23: 8 aylık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 8 antikoru tutulumu.

Resim 24: 22 aylık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 8 antikoru tutulumu.

Resim 25: 1 günlük sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 3 antikoru tutulumu.

Resim 26A, 26B: Büyük büyötmeli resimlerde 22 günlük sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 3 antikoru tutulumu.

Resim 26C: Küçük büyötmeli resimde 22 günlük sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 3 antikoru tutulumu.

Resim 27A, 27B: Büyük büyötmeli resimlerde 4 haftalık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 3 antikoru tutulumu.

Resim 27C: Küçük büyötmeli resimde 4 haftalık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 3 antikoru tutulumu.

Resim 28A, 28B: Büyük büyötmeli resimlerde 10 haftalık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 3 antikoru tutulumu.

Resim 28C: Küçük büyötmeli resimde 10 haftalık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 3 antikoru tutulumu.

Resim 29A: Büyük büyötmeli resimde 8 aylık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 3 antikoru tutulumu.

Resim 29B: Küçük büyütme resiminde 8 aylık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 3 antikoru tutulumu.

Resim 30A, 30B: Büyük büyütme resimlerde 22 aylık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 3 antikoru tutulumu.

Resim 30C: Küçük büyütme resiminde 22 aylık sıçan kalın bağırsağında Kaspaz 3 antikoru tutulumu.

Resim 31: 1 günlük sıçan kalın bağırsağının elektron mikroskopik görüntüsü.

Resim 32: 22 günlük sıçan kalın bağırsağının elektron mikroskopik görüntüsü.

Resim 33: 4 haftalık sıçan kalın bağırsağının elektron mikroskopik görüntüsü.

Resim 34A, 34B: 10 haftalık sıçan kalın bağırsağının elektron mikroskopik görüntüleri.

Resim 35, 36: 8 aylık sıçan kalın bağırsağının elektron mikroskopik görüntüleri.

Resim 37A, 37B: 22 aylık sıçan kalın bağırsağının elektron mikroskopik görüntüleri.

I.GİRİŞ

Bağırsak kanalı erken gelişim evrelerinde, embriyonun baş-kuyruk ve lateral yönlerde katlanmasıyla vitellus kesesinin bir kısmına embriyonun içine alınmasıyla oluşur. İlkel bağırsak; ön (baş) bağırsak, vitellus kesesi ile ilişkisini sürdüren orta bağırsak ve kloakal membran ile ilişkide olan son bağırsaktan yapılmıştır. Çekum, çıkan kolon ve enine kolon orta bağırsaktan farklılaşırken, distal kolon, rektum ve anal kanal' ın üst kısmı son bağırsaktan gelişir. ^{1,2} Kalın bağırsak distal kısmı dışında yapısal olarak katlanma ve villus yapısı içermez. Lamina propria katmanında çok sayıda tübüler bağırsak bezleri kapsar. Ayrıca bu katmanda bol lenfatik hücreleri ve follikülleri bulunur. ^{3,4,5,6,7,8}

Son yıllarda yaşın ilerlemesine koşut kolon kanseri görülme sıklığında büyük bir artış olduğu belirlenmiş, kalın bağırsak hücre topluluğu ve yaşlanma birçok araştırmaya konu olmuştur. Kalın bağırsak epitel çoğalması çok sayıda ajanlar, büyüme faktörleri ve beslenme alışkanlıklarıyla da yakın ilişkilidir. Büyüme faktörlerinden özellikle IGF- 1 bağırsak kanalının gelişmesi ve hücre çoğalmasında anahtar rol oynar. Transgenik deney hayvanlarında IGF- 1 'in fazla eksprese edilmesi bağırsak uzunluğu ve kalınlığının artmasıyla sonuçlanmıştır. ^{9,10,11,12,13,14,15}

Normal gelişim sürecinde mide-bağırsak kanalını örten epitel hücrelerinde hücre çoğalması ve apoptozis dengededir.^{16,17,18,19,20} Kalın bağırsakta epitel, goblet hücresi ve enteroendokrin hücrelerin oluşmasını sağlayan kök hücreler kriptaların taban kısmında bulunurlar. Lümen yüzeyinde ise hücreler apoptozis denilen programlanmış hücre ölümüne girerler.^{16,21} Apoptozis düzeneğinde olaylanan değişiklikler gelişimde, normal hücre döngüsünde, hormon etkili doku atrofisinde ve kanser gibi birçok patolojik olguda önemli rol oynar.^{16,22,23,24}

Literatürlerde kalın bağırsak ile ilgili olarak yaşlanmaya koşut değişen hücre çoğalması ve apoptozis konusunda çelişkili veriler bulunmaktadır. Bir grup araştırmacı yaşla birlikte çoğalma erkinin arttığını, apoptozisin azaldığını öne sürerken, diğer bir grup araştırmacı da tüm yaşam süresince hücrelerde proliferasyon ve apoptozisin dengeli bir şekilde süreklilik gösterdiğini bildirmişlerdir.^{9,16,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34}

Bu nedenle çalışmamızda kalın bağırsak duvarını oluşturan yapısal katmanlarda yaşa koşut olası değişikliklerin immünohistokimyasal ve elektron mikroskopik düzeyde incelenmesi amaçlandı. Veriler literatür bulgularıyla karşılaştırılmalı olarak değerlendirildi.

II. GENEL BİLGİLER

1. Kalın Bağırsakların Gelişimi

Bağırsaklar, embriyolojik gelişimin 4. haftasının başında embriyonun baş- kuyruk ve lateral yönde katlanmasıyla endoderm ile döşeli vitellus kesesinin bir bölümünün embriyonun içine alınarak, ilkel bağırsak kanalını oluşturmasıyla gelişmeye başlar. İlkel bağırsak kanalının sefalik bölümü ön bağırsağı, kaudal bölümü ise son bağırsağı yapar. Bu iki bölüm arasında kalan kısım ise orta bağırsaktır. Gelişimin bu evresinde orta bağırsak vitellin kanal (omfalomezenterik kanal) aracılığı ile vitellus kesesi ile olan bağlantısını geçici olarak sürdürür. İlkel bağırsak kanalı; kranial uçta bukkofaringeal zar (orofaringeal zar) ile kaudalde ise kloaka zarı ile kapatılmıştır. Bukkofaringeal zar gelişimin yaklaşık 4.haftadasında yırtılır. Böylece ilkel bağırsak ve amniyon boşluğu arasında açık bir ilişki kurulur. Kloaka zarının da 7. haftada yırtılmasıyla anüs oluşur. Gelişimin ilerleyen evrelerinde vitellin kanalın kapanmasıyla ilkel bağırsağın orta bölümü vitellus kesesi ile ilişkisini yitirir ve karın boşluğu içinde yer alır. Bağırsak kanalı epiteli endodermden; bağırsak duvarının kas, bağ dokusu ve peritoneal yapıları ise splanknik mezodermden gelişir. ^{1,2,35}

İlkel bağırsaktan gelişen yapılar 4 kısımda incelenir:

1. Bukkofaringeal zardan trakeobronşial divertiküle kadar uzanan farinks
2. Farinks' in kaudalinden karaciğer tomurcuğuna uzanan ön bağırsak
3. Karaciğer tomurcuğunun kaudalinden başlayan ve transvers kolon' un 2/3 proksimal ve distal parçasının birleşim yerine kadar süren orta bağırsak
4. Transvers kolon' un 1/3 distal parçasından kloakal zara değin uzanan son bağırsak. ³⁵

Gelişimin ilerleyen evrelerinde ön bağırsaktan; özefagus, mide, duodenum' un 1/3' lük proksimal bölümü, karaciğer, safra kesesi ve pankreas oluşur. Orta bağırsaktan ise duodenum' un 2/3' lük distal kısmı ve transvers (enine) kolon' un 2/3' lük proksimali gelişir. Son bağırsaktan ise transvers kolon' un 1/3' lük distalinden başlayarak inen kolon, sigmoid, rektum ve anal kanal' ın üst bölümü oluşur. ^{1,2}

Bağırsağın gelişimle birlikte hızla uzaması primer bağırsak halkasının oluşumuna neden olur. Primer bağırsak halkası tam tepe noktasından vitellin kanal yoluyla vitellus kesesi ile bağlantıdadır. Bağırsak halkasının sefalik bölümünden jejunum ve ileum' un proksimali, kaudalinden ileum' un distali, çekum, appendiks, çıkan kolon ve transvers kolonun 2/3' lük proksimal kısmı gelişir. ¹

Gelişimin 6. haftasının başında; primer bağırsak halkasının sefalik bölgesindeki hızlı uzama ve karaciğerdeki hızlı büyüme nedeniyle bağırsaklar karın boşluğuna sığamaz. Bunun sonucunda da bağırsak halkaları geçici bir süre için göbek kordonu içerisindeki ekstraembriyonik kölom boşluğuna girerler. Bu olaya fizyolojik göbek fıtığı (umbilikal herniasyon) denir. İlkel bağırsak halkası gelişimini burada da sürdürür. Aynı zamanda orta bağırsak; kanlanmasını sağlayan superior mezenterik arter çevresinde saat yönünün aksine 90°'lik bir dönüş yapar ve bunun sonucunda da jejunum ve ileum kıvrıntılı bir görünüm alırken, kalın bağırsaklarda kıvrıntılı bir yapı gözlenmez. ^{1,2}

Gelişimin 10.haftasından başlayarak; karaciğer' in büyüme hızı azalır, mezonefrik böbrekler geriler ve karın boşluğu yeterli büyüklüğe eriştiğinden; bağırsaklar karın boşluğuna geri dönmeye başlarlar. Bu geri dönüş sırasında da superior mezenterik arter çevresinde 180°'lik bir dönüş daha yaparlar. Böylece bağırsaklar toplamda 270°'lik bir dönüş yapmış olurlar. Karın boşluğuna ilk olarak jejunum'un proksimal parçası, son olarak da çekum döner. ^{1,2}

Çıkan kolon ve transvers kolon'un 2/3'lük proksimal kısmı orta bağırsaktan gelişirken; transvers kolon'un 1/3'lük distal kısmı ve inen kolon son bağırsaktan gelişir. ^{1,2}

2. Kalın Bağırsak Anatomisi

Sindirim kanalının valva ileocaecalis ile anus arasındaki bölümü olan kalın bağırsaklar ortalama 1,5 m uzunluğundadır. En geniş yeri başlangıcındaki caecum bölümüdür. Buradan başlayarak çapı anüs' e doğru gittikçe azalır. Sadece rectum' un son kısımlarında canalis analis' ten önce ampulla recti denilen bir genişleme gösterir. ^{36,37}

Sağ fossa iliaca'dan başlayan kalın bağırsaklar, ince bağırsakların etrafında bir çerçeve yaparak, pelvis boşluğu içinde rectum'un çıkış deliği olan anus'te sonlanır. Kalın bağırsaklar fossa iliaca dextra'dan başlar ve karın boşluğunun sağ yanında yukarıya doğru çıkarak, karaciğer' in altına gelir. Burada flexura coli dextra denilen kıvrım yaparak sol tarafa döner. Konveksliği aşağı ve öne bakan bir kavis çizerek regio hypocondrica sinistra'ya gelir. Burada yeniden yön değiştirerek aşağı iner. Bu kıvrım yerine de flexura coli sinistra denilir. Bu inen bölüm, yükselen bölüme karşın, daha derinde olduğundan ince bağırsak kıvrımları ile örtülüdür. ³⁷

Sol fossa iliaca'ya gelince pelvis içine S harfi şeklinde kıvrılır. Pelvis boşluğunda sacrum'un ön yüzü ile komşuluk yaparak, os coccygis'in 2-3 cm önünde anus'le sonlanır. Böylece kalın bağırsak

bölümleri, karın boşluğunda sağ yan, üst, sol yan ve pelvis boşluğunda yerleşim gösterirler.³⁷

Kalın bağırsakların görevi; bağırsak içeriğinin suyunu emerek su ve elektrolit dengesinde rol oynamaktır. Ayrıca feçes olarak vücut dışına atılana değin besin maddelerini depolar.³⁷

Kalın bağırsak; caecum, colon, rectum ve canalis analis olarak dört bölüme ayrılır.³⁶

a) Caecum Anatomisi

Kalın bağırsağın başlangıç kısmı olan caecum, sağ fossa iliaca' da bulunur. Caecum kalın bağırsağın en geniş bölümü olup, yaklaşık 6 cm boyunda, 7. 5 cm genişliğindedir. Kör bir kese şeklinde olan caecum, yukarıda colon ascendens ile devam eder. Caecum ile colon ascendens' in sınırında ve medial duvarında, ileum' un açıldığı ostium ileale bulunur. Bu deliğin ağzında da valva ileocaecalis (valva ilealis, Bauhin kapağı) denilen kapaklar vardır.^{8,36,37,38}

Caecum: ön yüzünden; doluyken karın ön duvarı, boşken ince bağırsak kıvrımları ile, arka yüzünden; recessus retrocaecalis çıkamazında bağ dokusu, m. iliacus ve m. psoas major ile, dış yan

yüzünden; m. iliacus' un ön bölümü ve lig. inguinale' nin dış yarısı ile, iç yan yüzünden; ince bağırsak kıvrımları, sağ m. psoas major ve sağ vasa iliaca ile komşuluk yapar. Caecum' un iç yan yüzünden appendix vermiformis çıkar. ³⁷

b) Colon Anatomisi

Colon; colon ascendens, colon transversum, colon descendens ve colon sigmoideum olarak 4 bölüme ayrılır. ^{7,8,36,37}

1) Colon ascendens

Caecum'dan daha dar olan colon ascendens, yaklaşık 15 cm uzunluğunda, 5-6 cm çapındadır. Aşağıda caecum'un üst kenarından başlar, yukarıda karaciğer'in sağ lobunun alt yüzünde regio lateralis (lumbalis) dextra'da sola ve öne doğru kıvrılarak colon transversum olarak devam eder. ^{36,37}

Colon ascendens'in ön ve yan yüzlerini peritoneum örter. Arka yüzü peritonsuz olup karın arka duvarına yapışıkıtır. Retroperitoneal bir organdır. Dış yüzünde taeniae coli ve haustra coli yapıları görülür. ³⁷

Colon ascendens; dış yan yüzden karın yan duvarı ile, ön yüzden organ doluyken karın ön duvarı, boşken omentum majus ve ince bağırsak kıvrımları ile, iç yan yüzden ince bağırsak kıvrımları ve m. psoas major ile, arka yüzden fascia iliaca, m. iliacus, m. quadratus lumborum ve sağ böbreğin ön yüzünün alt dış kısmı ile komşudur.³⁷

Colon ascendens a. mesenterica superior' un dalları olan a. colica dextra ve a. ileocolica' dan beslenir. Venleri arterlerle aynı ismi alıp arterlerle birlikte seyreder ve v. mesenterica superior' a dökülürler.³⁷

Lenfleri a. colica dextra boyunca sıralanan nodi lymphatici colici dextri' ye daha sonra da nodi lymphatici mesenterica superiores' e boşalır.

Ggl. coeliacum ve ggl. mesentericum superior'dan lifler alarak sinirsel innervasyonu sağlanır.³⁷

2) Colon transversum

Karaciğerin sağ lobunun altında flexura coli dextra' dan başlayıp sola doğru uzanarak dalağın alt yüzüne gelen colon transversum, flexura coli sinistra' yı oluşturur. Aşağıya kıvrılarak colon descendens olarak

devam eder. Colon transversum 40- 60 cm uzunluğunda, 4 cm çapındadır.

37

Colon transversum' un her yanı peritoneum ile örtülü olup intraperitonealdır. Mesocolon transversum denilen bir periton uzantısı sağda pankreas' ın ön yüzüne ve pars descendens duodeni' ye tutunur.

37,38

Colon transversum; üst yüzünden karaciğer, safra kesesi, mide' nin curvatura major' u ve dalağın dış kenarı ile, alt yüzünden ince bağırsak kıvrımları ile, ön yüzünden omentum majus ve karın ön duvarı ile, arka yüzünden pars descendens duodeni, caput pancreatis ve ince bağırsak kıvrımları ile komşuluk yapar. ³⁷

Başlıca a. colica media'dan beslenir. Ancak her iki ucu da a. colica dextra ve a. colica sinistra' dan dallar alır. A. colica sinistra, a. mesenterica inferior' un, diğer ikisi a. mesenterica superior' un dallarıdır. Venleri arterlerle aynı ismi alırlar ve birlikte seyreder. ^{35,37}

Colon transversum' un lenf drenajı: a. colica media boyunca sıralanan nodi lymphatici colici midi' ye, buradan da nodi lymphatici mesenterici superioris' e açılırlar. ³⁶

Colon transversum; a. mesenterica superior'un beslediği alan plexus mesentericus superior'dan, a. mesenterica inferior'un dalı olan a. colica sinistra'nın beslediği soldaki küçük bölümü de plexus mesentericus inferior'dan innerve olur. Plexus mesentericus superior'a parasempatikleri n. vagus'tan, plexus mesentericus inferior'a ise sakral parasempatikustan lifler gelir. ³⁶

3) Colon descendens

Flexura coli sinistra' dan başlayıp regio sinistra' dan aşağı doğru uzanan colon descendens; yaklaşık 25 cm uzunluğundadır. Colon descendens dış yan, ön ve iç yandan peritoneum ile örtülü olup arka yüzü peritonsuzdur ve karın arka duvarına yapışıkır. Colon descendens, colon ascendens' ten daha ince çaplıdır ve daha derinde bulunur. ³⁷

Colon descendens; dış yan yüzünden karın arka duvarı ile, ön yüzünden ince bağırsak kıvrımları ile, iç yan yüzünden M. psoas major' un dış yüzü ve ince bağırsak kıvrımları ile komşudur. ³⁷

Colon descendens' in beslenmesi a. mesenterica inferior' un dallarınca sağlanır. Organın büyük bölümü a. colica sinistra' dan, aşağıda kalan son kısım ise a. sigmoidea' dan kanlanır. Venleri aynı isimle arterleri izler ve v. mesenterica inferior' a dökülürler. ^{36,37}

Colon descendens' in lenfatik akımı; a. colica sinistra boyunca sıralanan nodi lymphatici colici sinistri' ye, daha sonra da nodi lymphatici mesenterici inferiores'e dir. ³⁷

Colon descendens, plexus mesentericus inferior' dan innerve olur. Sempatikleri lumbal bölgeden, parasempatikleri ise sakral parasempatikus' tan gelir. ³⁵

4) Colon sigmoideum

Uzunluğu 30- 40 cm, çapı 5- 6 cm olan colon sigmoideum S harfi şeklinde kıvrım gösterir. Küçük pelvis girişinde colon descendens' in devamı olarak başlar, bir iki kıvrım yaptıktan sonra 3. sakral omur düzeyinde rektum ile birleşir. Colon sigmoideum intraperitoneal yerleşimli olduğundan hareketlidir. ^{35,36,37}

Colon sigmoideum; dış tarafta a. iliaca externa ve v. iliaca externa, n. obturatorius, kadınlarda ovaryum, erkeklerde ductus deferens ve pelvis' in lateral duvarı ile, arkada a. iliaca interna ve v. iliaca interna, üreter, m. piriformis ve plexus sacralis ile komşudur, aşağıda kadında uterus ve mesane, erkekte ise mesane üzerine oturmuş durumdadır. ³⁶

Colon sigmoideum a. mesenterica inferior' un dalı a. sigmoidea tarafından beslenir. Venleri aynı isimle arterleri izleyerek portal ven sistemine dökülürler. ³⁷

Lenfleri a. sigmoidea boyunca dizilen nodi lymphatici sigmoideai' ye oradan da nodi lymphatici mesenterici inferiores' e akar. ³⁷

Colon sigmoideum plexus mesentericus inferior' dan innerve olur. Sempatikleri lumbal bölgeden, parasempatikleri ise sakral parasempatikus' dan (S2- 4) gelir. ³⁵

c) Rectum Anatomisi

Rektum, 3. sakral omur düzeyinde başlar, os coccygis' in 3- 4 cm aşağısında sonlanır. Uzunluğu 15- 16 cm olup çapı dolu veya boş oluşuna göre değişir. Rektum' un üst kısmı boş olduğu zaman, colon sigmoideum'un çapı kadardır (4 cm). Geniş olan alt kısmına ampulla recti denir. ^{36,37}

Rektum üst 1/3' lük bölümünde ön ve yan yüzler peritoneum ile örtülü iken, orta 1/3' lük bölümde sadece ön duvarı peritoneum ile örtülüdür. Alt 1/3' lük kısmı ise tümüyle peritonsuzdur. ³⁷

Rektum arkada ve orta planda, alt 3 sakral omur, os coccygis, a.-v. sacralis mediana, ggl. impar ve a.-v. rectalis superior'un dalları ile komşuluk yapar. Orta hattın her iki yanında m. piriformis, alt 3 sakral ve koksigeal spinal sinirlerin ön dalları, m. levator ani ve m. coccygeus ile komşudur.³⁶

d) Canalis analis Anatomisi

Ampulla recti' nin alt kısmında sindirim kanalının lümeninin birdenbire daralmasıyla oluşan canalis analis, yaklaşık olarak 4cm uzunluğunda, 3cm çapındadır. Sindirim kanalının son bölümü olan bu kısım anüs' te sonlanır ve tümüyle peritonsuzdur.³⁶

Anüs çevresinde canalis analis' in kapanmasını sağlayan sfinkter kaslar (m. sphincter ani internus ve externus) vardır. İç sfinkter kas, dairesel uzanır ve istemsiz çalışır. Dışkılama dışında anüs' ü kapalı tutar. Dış sfinkter kas ise istemli çalışır.⁷

3. Kalın Bağırsak Histolojisi

Kalın bağırsak duvarı sindirim kanalının diğer bölümleri gibi dört katmandan oluşmuştur. Bu katmanlar içten dışa doğru:

- 1) Tunika mukoza
- 2) Tunika submukoza
- 3) Tunika muskularis
- 4) Tunika seroza (adventisya)

1) Tunika mukoza

Kalın bağırsak distal (rektal) kısmı dışında katlanma ve villus yapısı içermez. Bu katmanda çok sayıda tübüler bağırsak bezleri (Lieberkühn kriptaları, gl. intestinalis) vardır ^{3,4,35}. Bunun dışında dağınık halde lenf follikülleri gözlenir (noduli lymphoidei solitarii). Kalın bağırsakta lenf follikülleri sadece appendix vermiformis' te toplu halde bulunurlar. Paneth hücreleri gözlenmez. ³⁷

Tunika mukoza; epitel, lamina propria ve lamina muskularis mukoza olarak 3 kısımda incelenir;

a) Epitel

Yüzey epiteli ve tübüler bezlerde 4 tip hücre bulunur;

1. Tek katlı prizmatik emilim yapan hücreler (enterositler)
2. Goblet hücreleri (kadeh, kalisiform hücre)
3. Kök hücreler
4. Enteroendokrin hücreler³⁹

Yüzey epitelinde ilk gözlenen hücreler olan enterositler, tek katlı prizmatik dizilim gösterirler. 22- 26 μm uzunluğundadırlar. Epiteldeki hücrelerin çoğunluğunu oluştururlar.⁴⁰ Enterositlerin apikal yüzlerinde çizgili kenar oluşturan kısa mikrovillusları vardır. Bu hücreler su ve iyonların taşınmasına katkıda bulunurlar. Kalın bağırsağın tüm bölgeleri, mineralokortikoidlerin düzenlediği plazma membran kanallarının aracılığı ile Na ve Cl iyonunu emer. Aldosteron, sodyum kanallarının sayısını ve emilimini artırır. Emici enterositlere girmiş olan sodyum, sodyum pompası ile dışarı atılır.³⁹ Mikrovillusların hemen altındaki sitoplazmada inklüzyonlar ve terminal ağ vardır. Hücre çekirdeği oval şekilli olup bazal sitoplazmada yerleşmiştir. Hücre sitoplazmasında çok sayıda küçük mitokondriyonlar, granüllü ve granülsüz endoplazmik retikulum tubulusları, serbest ribozom ve lizozomlar bulunur. Epitel hücrelerinin yan yüzlerinde sıkı, ara bağlantılar ile desmozom ve nekzuslar gözlemlenir. Hücreler arasındaki sıkı bağlantı birimleri lümenden lamina propria' ya geçişi

engeller. Epitel hücrelerin yan yüzlerinde komşu hücreler ile birlikte parmaklı uzantılar şeklinde yan yüz katlantıları da izlenir. Bu katlantılar taşıyıcı enzim miktarının artırılabilmesini sağlar. Emilim yapan hücrelerde hücre zarı özelleşmelerinin yanı sıra sitoplazmada da emilim için özel yapısal düzenlemeler görülür. Çekirdek ve terminal ağ arasına yerleşik çok sayıda uzun, oval yapılı mitokondriyonlar bulunur. Epitel hücreleri aynı zamanda terminal sindirim için enzim sentezler ve salgı yaparlar.⁴⁰

Enterositler arasında mukus salgı yapan tek hücreli endoepitelyal goblet (kalisiform, kadeh) hücreleri bulunur.^{39,40} Bu hücrelerin sayıları aşağıya doğru giderek artar. Goblet hücreleri; epitel yüzeyine salınan büyük mukus granülleri içeren kupa ya da kadeh şeklindeki apikal bölge ve bazal laminaya oturan, mukus' un protein kısmının olduğu granüllü endoplazmik retikulum tubuluslarını içeren dar bir bazal bölge' den oluşur. Mukus' a oligosakkaritleri ekleyen Golgi kompleksi, belirgin olup, bazalde yerleşmiş olan çekirdeğin üst kısmında yer alır. Goblet hücrelerinin salgı ürünü ekzositoz ile salınan glikoproteinleri içerir (%80 karbonhidrat ve %20 protein). Epitelin yüzeyinde mukus, epiteli mekanik aşınmaya ve bakterilere karşı kalkan olarak koruyan koruyucu jeli oluşturmak için su ile karışır.³⁹ Hücrenin apikal yüzünde az sayıda düzensiz mikrovilluslar görülür. Goblet hücrelerinin lümene yakın bölümde komşu hücreler ile arasında sıkı bağlantı birimleri bulunur. Goblet hücrelerinin yaşam süreleri kısadır.⁴⁰

Sürekli olarak dökülen mide- bağırsak kanalının mitoz bölünme ile yenilenmesini sağlayan kök hücreler kalın bağırsakta kriptaların 1/3' lük bölümüne yerleşmiştir. Hücreler bu yenileyici bölgelerden olgunlaşma alanına doğru hareket ederler. Burada yapısal ve enzimatik olgunlaşma sonucunda işlevsel hücreleri oluştururlar. Bu hücreler, emici hücreler ile goblet hücrelerinin kaynağıdır. ⁴

Enteroendokrin hücreler epitel hücreleri arasında bazalda yerleşiktirler. ³ Sitoplazmalarındaki granülleri ve şekilleri ile epitel hücrelerden ayrılırlar. Gümüş tuzları ile boyandıkları için argentaffin ya da arjirofilik hücreler olarak da adlandırılırlar. Amin öncüllerini dekarboksile ettikleri için APUD hücreler olarak tanımlanırlar. Parakrin ve endokrin hormonlar üretirler. Hormon salgıladıkları için DNES hücreleri olarak kabul edilirler. (Yaygın nöroendokrin sistem). Salgıladıkları hormonlar doku hormonu olarak bilinir. Salgılarını kana ya da yakınlarındaki hedef hücreye verirler. Salgılarını kana verdikleri için salgı granülleri bazal sitoplazmada yerleşiktir. Enteroendokrin hücreler salgıladıkları hormona göre şekil alırlar. Bu hücreler genelde tek bir hormon salgılar. Ancak iki farklı hormon salgılayan enteroendokrin hücrelerin varlığı da saptanmıştır.

^{3,40,41} Kalın bağırsakta gözlenen enteroendokrin hücre tipleri şunlardır;

- 1) Enteroendokrin hücrelerin salgılarını baskılayan Somatostatin
- 2) Peristaltik hareketleri baskılayan Serotonin (yalnızca kolonda)
- 3) Hepatositte glikojen yıkımını uyaran Glisentin
- 4) Kalın bağırsakta hareketlenmeyi arttıran, su ve iyonların uzaklaştırılmasını sağlayan Vazoaktif intestinal peptit
- 5) Pankreatik polipeptid (görevi bilinmemektedir).⁴⁰

b) Lamina propria

Gevşek bağ dokusu yapısındadır. Muskularis mukoza' ya kadar uzanır. Damar ağlarından zengindir. Bol retiküler lifler içerir. Lamina propria' da zengin retiküler ağların arasında çok sayıda serbest bağ dokusu hücreleri bulunur. Makrofajlar, fibroblastlar, eozinofiller, lenfositler, farklı gelişim aşamasında plazma hücreleri yoğun olarak izlenir. Bağ doku içinde çok sayıda tübüler bağırsak bezleri (Lieberkühn bezleri) bulunur. Bezler uzun ve kıvrımlıdır, mukoza kalınlığınca uzanırlar. Bezlerin çevresi gevşek bağ dokusu ile kuşatılmıştır. Bezlerin epitelinde emilim yapan prizmatik hücreler, enteroendokrin hücreler, kök hücreler ve sayıları daha fazla olan goblet hücreleri bulunur. Bezler yüzey epitelinin çökmesiyle oluşurlar.^{6,40}

Bu katmanda bol miktarda bulunan lenfatik hücreler ve lenf follikülleri; çoğunlukla submukozanın içine dek uzanır. Lenfatik dokunun

oldukça fazla olması kalın bağırsakta aşırı derecede yüksek bir bakteri topluluğunun bulunmasına bağlıdır. ⁴

Lamina propriada diğer kısımlardan ayrıcalı olarak epitelin bazal laminasıyla kapillerler arasında kollajenden ve proteoglikanlardan zengin bir kat bulunur. Bu kat, epitelden damarlara su ve elektrolitlerin taşınmasını düzenler. ⁴²

c) Lamina muskularis mukoza

Tunika mukoza' nın en dıştaki katmanıdır. 38 µm kalınlığındadır. Mukoza katmanını submukozadan ayıran iyi gelişmiş bir düz kas katıdır. Kas liflerinin yönleri içte dairesel, dışta uzunlamasınadır. Kaslar sindirim sırasında düzenli olarak kasılırlar. ^{6,40}

2) Tunika submukoza

Tunika muskularis mukoza' dan tunika muskularis' e değin uzanır. Az gelişmiştir, elastik liflerden zengin düzensiz sıkı bağ dokusu yapısındadır. Kan ve lenf damarları içerir. Tunika submukoza' nın intrinsik sinir desteği parasempatik submukozal (Meissner) sinir ağından sağlanır.

^{6,40}

3) Tunika muskularis

Uzunlamasına ve dairesel düz kas demetlerinden oluşan muskularis katmanının dış uzunlamasına demetleri birbirleri ile birleşerek tenia coli adı verilen yapıyı oluştururlar. Tenia coli, kurdeleye benzeyen, her biri 1cm eninde olan, üç adet, uzunlamasına düzenlenmiş banttandır. Tenia kolilerin ve dairesel kas katmanının kasılmaları, kolonda haustra olarak adlandırılan cepçiklerin oluşmasına neden olur.³⁹ İçteki dairesel, dıştaki uzunlamasına kas demetinin arasında yer alan gevşek bağ dokuda myenterik (Auerbach' s) sinir pleksus 'u bulunur.³⁵

4) Tunika seroza (adventisya)

Kolonda bazı bölümler intraperitoneal bazı bölümler retroperitoneal (colon ascendens, colon descendens)' dir. Peritonla kaplı olan yerlerde dış kat tek katlı yassı epiteldir (mezotel). Burası tunika seroza, diğer yerlerde adventisya adını alır. Epitel altı doku gevşek bağ dokudur. İçinde damar ve sinirler görülür.⁶

4. Kalın Bağırsak Fizyolojisi

Kalın Bağırsak Hareketleri

Kalın bağırsağın başlıca işlevi kimustan su ve elektrolitlerin emilimi ve fekal maddenin dışarı atılncaya değin depolanmasını sağlamaktır.⁴³

Esas olarak kolon' un proksimal yarısı emilim ile, distal yarısı ise depolama ile ilgilidir. Bu fonksiyonlar için şiddetli hareketler gerekmediğinden kolon hareketleri ileri derecede yavaştır. Hareketler yavaş olmasına karşın ince bağırsaktakilere benzer özelliklere sahiptir ve bunlar da karıştırıcı hareketler ve ilerletici hareketler olarak ikiye ayrılır:

a) Karıştırıcı Hareketler- Haustrasyonlar

Karıştırıcı hareketler (haustrasyonlar) artık maddelerin kalın bağırsak yüzeyi ile ilişkiye geçmesini ve böylece su ve elektrolit emiliminin yapılabilmesini sağlar.⁴⁴

Haustrasyon sırasında kasılma bölgeleri oluşur ve yaklaşık 2, 5 cm' lik dairesel kas kasılır. Aynı zamanda boyuna kaslar da tenia coli' de üç farklı şerit içerisinde kasılırlar. Kasların dairesel ve boyuna şeritlerinin

bu birlikte kasılmaları kalın bağırsağın uyarılmamış kısımlarının haustrasyon adı verilen kese şeklinde çıkıntılar yapmasına neden olur. Haustrasyon sırasında bağırsak içeriği çekum' dan anal kanal' a doğru ilerler.⁴³

b) İlerletici Hareketler- Kitle Hareketleri

İlerletici yönde hareketler peristaltik hareketlere benzerler. Kimusun ileoçekal kapakçıktan enine kolon' a ilerlemesi için yaklaşık 8-15 saatlik bir süreye gereksinim vardır. Bu süre içinde kimus fekal nitelik kazanır ve yarı sıvı halden yarı katı hale geçer.⁴³

Kalın Bağırsakta Salgılama

Kalın bağırsakta Lieberkühn kriptalarındaki epitel hücrelerinden enzim sentezi yapılmadığından, salgının çok büyük bir bölümünü bol miktarda bikarbonat iyonu içeren mukus oluşturur. Salgılamanın hızı; salgı yapan hücrelerin doğrudan dokunma yoluyla uyarılması ya da hücrelerin bölgesel sinir refleksleriyle uyarılmasıyla denetlenir. Kalın bağırsağın distal yarısı ile 2/3' ünün parasempatik innervasyonunu sağlayan pelvik sinirlerin uyarılması mukus salgısında belirgin bir artışa neden olmaktadır. Kalın bağırsak hareketlerindeki artış; mukus salgılanmasındaki artışı da beraberinde getirir. Kalın bağırsak

duvarındaki mukus bikarbonat iyonlarının varlığı nedeniyle alkalidir (pH: 8.0) ve bu da bağırsak duvarını feçesteki bakteriyel topluluktan korur. ^{35,43}

Kalın Bağırsakta Emilim

İnce bağırsakta gerekli emilim yapıldıktan sonra besinler kalın bağırsağa gelir. Günde yaklaşık 1500 ml kimus ileoçekal kapakçıktan kalın bağırsağa geçer. Kimustaki su ve elektrolitlerin büyük bir kısmı kolon'da emilir ve feçesle atılan sıvı miktarı çoğu zaman 100 ml' yi geçmez. Bunun yanında iyonların yaklaşık tümü yine kalın bağırsakta emilir. Emilim büyük ölçüde kolon'un proksimal kısmında gerçekleştiğinden buraya emilim kolon' u da denir. Distal kolon esas olarak depolamayla yükümlüdür ve depo kolon' u olarak da adlandırılır. ^{35,43}

Kalın bağırsak mukozasında da tıpkı ince bağırsakta olduğu gibi sodyum emilimi ve buna bağlı olarak da klor emilimi yapılır. Kalın bağırsak epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar daha kuvvetlidir ve bu nedenle emilen sodyum'un lümene geriye difüzyonu engellendiğinden; sodyum iyonları kalın bağırsakta ince bağırsağa karşın daha iyi emilir. Bu, özellikle fazla miktarlarda aldosteron varlığında geçerlidir. Aldosteron sodyum' un taşınmasını büyük oranda artırır.

Sodyum ve klor iyonlarının emilimi osmotik yasaya bağı olarak suyun emilimini de beraberinde getirir. ^{35,43}

Bunun dışında kalın bağırsak mukozasından salgılanan bikarbonat, bakteriyel etkinin asidik son ürünlerini nötralize etmeye yardımcı eder. ⁴³

Kalın bağırsaktan günde yaklaşık 5- 7 litrelik sıvı ve elektrolit emilmektedir. Kalın bağırsağı giren besin miktarı bunu aştığında fazlalık, feçeste diyare olarak ortaya çıkar. ⁴³

5. Kalın Bağırsaklarda Hücre Yenilenmesi- Proliferasyon ve Apoptozis

Kalın bağırsaklarda kriptalar 4 bölüme ayrılır:

1. Epitel hücrelerinin döküldüğü kısım olan yüzey epiteli
2. Farklanma bölgesi
3. Yüksek mitotik erkin olduğı proliferasyon bölgesi
4. Bazal kısımda bulunan ve bölünme sonucunda epitel hücrelerini yukarı doğru iten kök hücreler⁹

Proliferasyon bölgesinde gerçekleşen bölünmeler ile hücreler sürekli bir yenilenme geçirirler. Bağırsak hücrelerinde bu yenilenme 2- 3 günde bir gerçekleşir. Yaşam boyu süren bu yenilenmeler proliferasyon (hücre çoğalması) ve apoptozis (programlanmış hücre ölümü) denilen iki düzeneğin denge halinde olması ile gerçekleşir. Aradaki denge bozulduğunda kanser gibi önemli patolojik olgular oluşur.^{16,26,32}

Proliferasyon, hücre bölünmesi ile gerçekleşir. İki yavru hücre oluşturmak için birbirini izleyen, iki mitoz bölünme arasındaki aralık 'hücre döngüsü' olarak tanımlanır. Hücre döngüsü genelde iki aşamada olaylanır;

1. Mitoz

2. İnterfaz

Mitoz; çekirdeğin bölünmesidir ve sonuçta hücrenin bölünmesiyle (sitokinez) yavru hücreler oluşur. Mitoz ve sitokinez 1 saatlik bir süreçtir. Hücre döngüsünün yaklaşık %95' lik kısmı mitozlar arası evre olan interfazda geçer. Bu evrede kromozomlar gevşek haldedir ve çekirdek içinde dağınık dururlar. Çekirdek yapısal olarak değişiklik göstermez. İnterfazda moleküler düzeyde hücre büyür ve DNA kopyalanır. Bölünen hücrelerin çoğunda bu evrede hücre boyutu neredeyse iki katına çıkar. Hücre döngüsü DNA sentezinin zamanlamasına koşut olarak 4 aşamaya ayrılır;

1. M Fazı: Bölünme evresidir. Sitokinez denilen hücre bölünmesi bu fazı izler.

2. G1 Fazı: DNA kopyalanmasının başlangıcı ile mitoz bölünme arası evredir. Hücre metabolik olarak aktif olup büyümeyi sürdürür, ancak DNA henüz replike olmamıştır.

3. S Fazı: DNA kopyalanır.

4. G2 Fazı: Hücre büyümeyi ve mitoz bölünme için protein sentezlemeyi sürdürür.⁴⁵

G1 ve G2 fazlarının önemi mitoz bölünme öncesi ve sonrası hücreye büyüme zamanı kazandırmalarıdır. G1 aşamasındaki hücreler ya DNA çoğalması için S fazına girerler ya da girmezler. Bir hücre eğer S fazına girmezse, G0 (G sıfır) fazı adı verilen ve yeniden hücre döngüsüne dönmeden önce günlerce, aylarca, hatta yıllarca kalabileceği bir dinlenme evresine girer.³⁹

Hücre döngüsünde pek çok denetim noktası vardır. G2 fazında yer alan bir denetim noktası eşleşmemiş DNA' ya özgüdür. DNA tam olarak eşleşmemişse, hücre M fazına geçemez. Radyasyon gibi nedenlerle DNA hasara uğradığında tamir oluncaya değin G2 fazında kalır. DNA hasarı G2 gibi G1' de de hücrenin ilerleyişini durdurur. Bu aşamada çok iyi bilinen bir denetim noktası p53 proteindir. DNA hasarına yanıt olarak salınır ve hücre döngüsü durur. DNA hasarı gibi olaylar sonrası hücrenin; hücre döngüsünde duraklamaya ya da apoptoziye gitmesine karar verilmesinde rol oynayan önemli bir proteindir. Yapılan çalışmalarda bazı kanser tiplerinde bu genin mutasyona uğradığı saptanmıştır.⁴⁵

Bir başka denetim noktası ise mitoz bölünme sonundadır. İğ iplikçikleri üzerinde bir ya da daha fazla kromozomun düzgün olarak dizilmemesi, metafazda mitozun durmasına neden olur. Kromozomlar tam olarak dağılmak üzere düzenleninceye değin bölünme gerçekleşmez.⁴⁵

Hücre döngüsünü iki tür protein denetler. Bunlar; siklinler ve siklin bağımlı protein kinazlardır (Cdk). Siklinler, Cdk' a bağlanırlar ve seçilmiş proteinleri fosforile ederler. Bunlar hücre bölünme döngüsünün kısaltması olarak Cdc2 şeklinde isimlendirilir. Cdc2' nin fosforilasyonu onun protein kinaz aktivitesi açısından gereklidir. Fosforilasyonu olduğunda Cdc2' deki bir konum değişikliği, Cdc' nin sikline bağlanmasını ya da bağlı olanının aktivite kazanmasını sağlar. Bu ilişki, substratın bağlandığı yüzeyin açığa çıkmasına neden olur.

Hücre döngüsünün en önemli iki siklin- Cdc2 kompleksi:

1. G1 siklin-Cdc2 kompleksi; hücrenin S fazına geçmesini tetikler.
2. Mitotik siklin B-Cdc2 kompleksi; hücreyi mitoz bölünmenin hemen öncesindeki ikinci denetim noktasını geçmesi için zorlar.³⁹

Hücre döngüsü üzerinde hücre dışı proteinler de etkili olabilir. Hücresel düzenleyici proteinler olan sitokinlerin bazıları hücre döngüsünün ilerlemesinde artı rol oynarken, bazıları hücre bölünmesini engelleyici etki gösterirler. Sitolinler başlıca şu ana gruplara ayrılır:

1. Büyüme faktörleri (Epidermal büyüme faktörü; EGF, Platelet kökenli büyüme faktörü; PDGF, insülin benzeri büyüme faktörü-1; IGF1, insülin benzeri büyüme faktörü-2; IGF2, Sinir büyüme faktörü; NGF, Asidik

fibroblast büyüme faktörü; aFGF, Bazik fibroblast büyüme faktörü; bFGF, Nörolökin, Amfiregulin, Hepatosit büyüme faktörü; HGF vb.)

2. Lenfokinler (interlökin- 1 alfa, interlökin-1 beta, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15)

3. Koloni uyarıcı faktörler (Granülosit/Makrofaj koloni uyarıcı faktör; GM-CSF, Granülosit-CSF, Multi-CSF, Eritropoietin; EPO, Lösemi inhibitör faktör; LIF

4. Transforme edici büyüme faktörleri (TGF-alfa, TGF-beta)

5. Tümör nekroz faktörleri (TNF-alfa, TNF-beta)

6. İnterferonlar (IFN-alfa, IFN-beta, IFN-gama) ⁴⁶

Büyüme faktörlerinin hücre döngüsünün ilerlemesinde artı rol oynadığı bilinmektedir. Büyüme faktörü sinyalleri ve hücre döngüsünün ilerleyişi arasındaki bağlantı D tip siklinlerce sağlanır. Siklin D sentezi büyüme faktörü uyarısına yanıt olarak başlatılır ve büyüme faktörü oldukça D tip siklin yapımı sürer. Ancak D tip siklinler aynı zamanda hızlıca yıkılırlar. Dolayısıyla hücre içi düzeyleri büyüme faktörleri yokluğunda hızla düşer. Büyüme faktörleri G1 fazında bulundukça siklin D-Cdk4 kompleksi hücreleri denetim noktasına doğru yönlendirir. Ancak büyüme faktörleri bu noktadan önce ortadan kalkarsa siklin D düzeyi hızla düşer ve hücreler G1 fazından S fazına geçemeyerek G0 fazına dönerler. ⁴⁵

Hücre proliferasyonu yalnızca büyüme faktörlerince değil, aynı zamanda hücre döngüsünü engelleyen sinyallerce de düzenlenir. Hücre döngüsünün durdurulması; DNA' nın hasara uğratılması, hücreler arası ilişki ve bazı hücre dışı faktörler yoluyla olabilir. Bu tip baskılayıcı sinyaller genellikle cdk inhibisyonuyla düzenleyici etki gösterirler. Cdk inhibitörlerinin aktivasyonuna verilebilecek en iyi örnek DNA hasarına yanıt olarak p53 proteinince yönlendirilen hücre döngüsünün durdurulmasıdır. P53 proteini, cdk inhibitörü p21' in ekspresyonunu uyarak etki gösteren bir transkripsiyonel düzenleyicidir. P21 proteini birçok cdk/ siklin bileşimini baskılar ve p21' in p53' ce indüksiyonu, DNA hasarı oluştuğunda p53' e bağımlı hücre döngüsünün durdurulmasının en azından bir mekanizması olarak bildirilmektedir.

P21 doğrudan da DNA replikasyonunu engelleyebilir. Özellikle p21, proliferde olmakta olan hücrede DNA polimeraz gamma'nın alt birimi olan hücre çekirdeği antijenine (PCNA) bağlanır. Dolayısıyla p21 hem cdk' yı önler hem de S dönemindeki hücrelerde DNA eşleşmesini doğrudan engeller ve hücre döngüsünü durdurur.⁴⁵

TGF- beta (transforme edici büyüme faktörü beta), TNF gibi hücre bölünmesini engelleyen sitokinler, büyüme faktörlerinin hücre bölünmesi için aktive ettiği düzenekleri baskırlar. Büyüme faktörü reseptörlerinin ekspresyonunun azalmasına, reseptörlerin inaktive

edilmesine yol açarlar ya da hücre bölünmesini sağlayacak sinyallerin iletilmesini engellerler.⁴⁶

PCNA; proliferasyonu gösteren hücre çekirdek antijenidir ve DNA polimeraz gammanın alt birimi olarak hücre döngüsünde rol oynar.⁴⁵ Geç G1 fazında, DNA eşleşmesinden hemen önce, bu proteinin miktarında artış gözlenir. Artış S fazına değin sürer. G2 ve M fazında ise PCNA miktarı düşer. PCNA bu özellikleri nedeniyle bir proliferasyon işaretleyicisi olarak kullanılır. G1 fazından S fazına geçen hücrelerde PCNA ekspresyonu çekirdekte belirlenerek bir hücrenin mitotik erki izlenebilir.⁴⁷

Apoptozis; normal fizyolojik koşullarda, hasarlı ya da yaşlı hücrelerin, genetik olarak düzenlenen bir hücre ölüm programıyla kendi kendilerini öldürmeleri şeklinde tanımlanabilir. Apoptozis, gelişim ve hücrel homeostazinin korunması için gereklidir. Apoptozise giden hücreler büzüşür, hücreler arası bağlantılarını yitirir, yoğunlaşır, kromatin parçalanır ve hücre küçük apoptotik cisimler oluşturmak için yıkılır. Apoptotik cisimler makrofajlarca fagosit edilir.³⁹

Apoptoziste birbirini izleyen dört aşama vardır:

1. Hücre dışı ve hücre içi faktörlerin uyardığı hücre ölümü için hücrenin programlanması.
2. Kaspazlar (sistein aspartik asit-özgün proteaz) olarak adlandırılan hücre içi proteazların aktivasyonu ile hücre ölümü.
3. Makrofajlarca apoptotik cisimlerin fagositozu.
4. Apoptotik cisimlerin lizozomal yıkımı.³⁹

Apoptozis birbiriyle ilişkili iki yolağın başlattığı aktif bir olaydır. Bunlar Fas ve Bax yolaklarıdır. İki yolağın da son noktası kaspazların hücreyi parçalara ayırmak için aktivasyonudur. Fas yolağında komşu hücrelerde ya da ölecek hücrede üretilen bir Fas ligand, TNF reseptör ailesinin bir üyesi olan Fas reseptörüne bağlanır. Ligand bağlandığında Fas reseptörünün hücre içinde kalan kısmı adaptör proteinlerin birbiriyle eşleşmesini sağlar. Bax yolağında ise Bax proteini sitokrom c' nin salınımına yardımcı olmak için mitokondriyon zarına girer. Adaptör proteinler ve sitokrom c kaspaz aktivatörleridir.³⁹

Kaspazlar, zimojen (inaktif öncü) olarak sitoplazmada bulunan ve aktif merkezlerinde sistein yer aldığından sistein proteazlar olarak adlandırılan bir grup enzimdir. Bugüne değin 14 tanesi tanımlanmıştır. Kaspazlar birbirlerini aktifleştirerek preteolitik bir kaskada

neden olurlar. Bazıları (2, 8, 9, 10) başlatıcı kaspazlar olarak bilinirken bazıları da (3, 6, 7) efektör kaspazlar olarak anılırlar. Başlatıcı kaspazlar apoptotik uyarıyla başlayan ölüm sinyallerini efektör kaspazlara iletirler. Efektör kaspazlar ise ilgili proteinleri parçalayarak apoptotik hücre yapısının oluşmasına neden olurlar. Kaspaz 1, 4, 5, 11, 12, 13 ve 14 ise sitokin üretimine katkıda bulunan kaspazlardır.^{39,48}

Kaspaz aktivasyonunun denetimi 3 grup proteinle olur:

1. Bcl- 2 ailesi proteinleri; apoptozisin önemli düzenleyicileridir. Bu proteinler; Bcl- 2 alt ailesi (anti apoptotik proteinler), Bax ve BH3 (apoptozisi tetikleyen proteinler) olarak 3 gruba ayrılırlar.
2. IAP (apoptozis baskılayıcıları); efektör kaspazları inhibe ederler.
3. Smac/DIABLO ve Omi/HtrA2; kaspaz aktivasyonunu kolaylaştırırlar.

Kaspazlar apoptozisin işaretleyicileri olarak da kullanılırlar.

Kaspaz ekspresyonu sitozolde belirlenerek hücrelerin apoptotik yetileri izlenebilir.⁴⁸

III. GEREÇ VE YÖNTEM

1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Çalışmamızda kalın bağırsakta yaşa koşut yapısal değişimlerin ışık ve elektron mikroskopik olarak incelenmesi ereğiyle Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi ile Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden sağlanan 1 günlük, 22 günlük, 4 haftalık, 10 haftalık, 8 aylık ve 22 aylık yaş gruplarının her birinden altışar adet olarak toplam 36 adet Wistar Albino cinsi dişi sıçan kullanıldı.

Sıçanlar 44 mg/kg intraperitoneal ketamin enjeksiyonu ile uyutularak ötenazi gerçekleştirildi. Ötenazi sonrası deneklerin karın bölgeleri orta hat boyunca açılarak kalın bağırsakları alındı. Dokular temizlendikten sonra ışık mikroskopunda incelenmek için %10'luk nötral formalinde 72 saat süreyle, elektron mikroskopunda incelenmek için de %2. 5' luk gluteraldehit içerisinde 2 saat süreyle tespit edildiler.

2. Histokimyasal Yöntem

Tespit edilen dokular alışıl gelmiş ışık mikroskop izleme yönteminden geçirilerek parafin bloklar elde edildi. Hazırlanan parafin bloklardan normal lamlara 4- 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Parafin kesitler etüvde 1 saat 60° C'de deparafinize edildi. Kesitlere kalın bağırsakta asit ve nötral mukopolisakkaritleri belirlemek ereğiyle Alsian mavisi-PAS (Periodic Acid-Schiff) boyama yöntemi uygulandı.

- Ksilol 10'
- Absolu alkol 10'
- %96 alkol 10'
- Distile su 10'
- Periyodik asit 2'
 - Periyodik asit 0.5 gr
 - Distile su 100 ml
- Akarsu 5'
- Distile su 2'
- Schiff ayıracı..... 15'

- Bazik fuksin 1g
- Sodyum metabisülfid 1.9g
- N/1 hidroklorik asit 15ml
- Distile su 85 ml
- Aktiv kömür 0.5g
- Bazik fuksin ve sodyum metabisülfid asit suda çözüldü. 2 saat süresince karıştırıldı. Aktiv kömür eklendi ve 1-2 dakika çalkalandı. Süzüldü ve 0- 4 derecede karanlıkta saklandı.
- Sülfüröz asit 2' (3 kez)
 - %10 sulu sodyum metabisülfid çözeltisi 6ml
 - N/1 hidroklorik asit 5 ml
 - Distile su 100ml
- Akarsu 5-10'
- Alsian mavisi 10'
 - %3 glasiyal asetik asit 100ml
 - Alsian mavisi 8GX 1g
- Alsian mavisi glasiyal asetik asitte çözüldü. Asetik asit kullanarak PH'ı 2.5' a getirildi. Süzüldü ve birkaç küçük timol kristali eklendi. Karıştırıldı.

- Akarsu 5-10'
- %96 alkol 5'
- Absolu alkol 5'
- Ksilol 10'
- Ksilol 1 gece bekletildi ve lam ile kapatıldı.

3. İmmünohistokimyasal Yöntem

Hazırlanan parafin bloklardan polilizinli camlara 4-5 µm kalınlığında kesitler alınarak immunohistokimyasal yöntem uygulandı. Kesitlere primer antikor aşamasında kalın bağırsaklarda proliferasyonun izlenmesi için Thermo PCNA (PC10) fare monoklonal antikor (Cat: MS-106-P1ABX, Lot: 106P602A), apoptozisin izlenmesi amacıyla Neomarkers Caspase- 9 (LAB6/Ab- 4) tavşan poliklonal antikor (Cat: RB- 1205-P, Lot:1205P306), Neomarkers Caspase- 3 tavşan poliklonal antikor (Cat: RB-1197- P, Lot: 1197P209), Neomarkers Caspase- 8 tavşan poliklonal antikor (Cat: RB-1200-P, Lot: 1200P708C) uygulandı. Sekonder kit olarak Ultravision Detection System Anti-Rabbit HRP (RTU) (Cat: TP- 125 HL, Lot: PBN70509, Lab Vision, Fremont, USA) ve HRP/AEC (Cat:TA-007-HAC, Lot: 007HAC13565) kullanıldı.

Kesitler 37°C'deki etüvde bir gece tutulduktan sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak amacıyla etüv ısısı 57°C'ye çıkarılarak 1

saat daha bekletildi. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 15'er dakika ksilolde bırakıldıktan sonra sırasıyla %100'lük, %96'lık ve %80'lik alkol serilerinden 10'ar dakika geçirilerek sudan, 2 kez 5'er dakika distile sudan geçirilerek alkolden kurtarıldı.

Kesitler doku içerisinde formaldehitin kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak amacıyla mikrodalga fırında 1 M sitrat tamponuna (pH: 6. 0) (Cat: AP- 9003- 500, Lot: 9003LT13610, Lab Vision, Fremont, USA) etkin bırakıldı. Oda ısısında 20 dakika soğutulduktan sonra 15 dakika süreyle hidrojen peroksit (Cat: TA-125-HP, Lot: 125HP14119, Lab Vision, Fremont, USA) uygulandı ve endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Camlar 3 kez 3'er dakika PBS (Phosphate Buffer Saline) (pH: 7.4) ile yıkandıktan sonra özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi amacıyla 5 dakika Ultra V Block (Cat: TA-125-UB, Lot: AUB70803, Lab Vision, Fremont, USA) uygulandı. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan Caspase- 3 (Cat: RB-1197-P, Lot: 1197P209), Caspase- 8 (Cat: RB-1200-P, Lot: 1200P708C), Caspase- 9 (Cat: RB-1205-P, Lot: 1205P306) primer antikörlerine etkin bırakılarak 60 dakika bekletildi. Camlar 60 dakikanın sonunda 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandıktan sonra 20 dakika biyotinli sekonder antikör (Cat:TR-125-BN, Lot: RBN70115, Lab Vision, Fremont, USA) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra dokular enzimin biyotine bağlanması amacıyla 20 dakika streptavidin

peroksidaz enzim kompleksine (Cat: TS-125- HR, Lot: SHR70515, Lab Vision, Fremont, USA) etkin bırakıldı.

Camlar tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kromojen olan AEC (3-amino-9-ethylcarbazole) (Cat:TA-007-HAC, Lot: 007HAC13565, Lab Vision, Fremont, USA) uygulanarak gözle görülebilen immün reaksiyonun açığa çıkması sağlandı. Zemin boyamasında Mayer'in Hematoksileni (Cat:TA-125-MH, Lot: AMH70809, Lab Vision, Fremont, USA) kullanıldı ve camlar Ultramount (Cat: TA-125-UG, Lot: VM13518, Lab Vision, Fremont, USA) ile kapatıldı. Kesitler Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi ve fotoğraflandı.

4. Elektron Mikroskopik Yöntem (TEM Doku İzlenesi)

Sorenson'un fosfat tampon çözeltisi:

Sol. A: Potasyum fosfat monobazik (KH_2PO_4) 0,908 g

Distile su 100 ml

Sol. B: Sodyum fosfat dibazik ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 1,188 g

Distile su 100 ml

18,2 ml Sol. A+81,8 ml Sol. B=100ml (pH: 7.4)

Gluteraldehit tespiti:

9,2 cc Sorenson fosfat tamponu+ 0,8 cc Gluteraldehit= 10 cc

Dokular bu çözeltide 30 dakika etkin bırakılıp sertleşmeleri sağlandıktan sonra, bir çift bistüri yardımıyla 1 mm³'lük parçalar halinde ayrıldı. Bir saat daha gluteraldehit çözeltisinde bekletilerek ilk tespitleri sağlandı.

Osmiyum Tetroksit tespiti:

Osmiyum tetroksit (OsO_4) 0,1 g

Distile su 5 cc

1 kısım Sorenson fosfat tamponu + 1 kısım osmiyum tetroksit

Dokular bu şekilde hazırlanmış %1'lik osmiyum tetroksit çözeltisinde 1 saat etkin bırakıldı. Böylece tespit ve boyanmaları sağlanmış oldu.

Dehidratasyon ve blok oluşturulması:

Dokular osmiyumla ikinci kez tespit edildikten sonra, doku içindeki fazla suyun uzaklaştırılması için, artan derecelerdeki alkol serilerinden geçirildi.

%50'lik alkol10 dakika

%60'lık alkol10 dakika

%70'lık alkol..... 10 dakika

Uranil asetat.....30 dakika (1 g uranil asetat+50 ml %80' lik alkol karışımı hazırlandıktan sonra süzülerek 10 dakika bekletildi.)

%80' lik alkol..... 2 kez yıkandı ve 10 dakika bekletildi.

%90'lık alkol..... 10 dakika

%96'lık alkol..... 10 dakika

%100'lük alkol..... 15 dakika

Propilen oksit..... 30 dakika

Propilen oksit +1. gömme materyali..... 30 dakika

1. Gömme materyali (Araldit CY 212 10 cc + DDSA 10 cc) 1 gece

2. Gömme materyali (Araldit CY 212 10 cc + DDSA 10 cc + BDMA 0,4 cc + Dibütil fitalat 1 cc) 2 saat oda ısısı

2.Gömme materyali..... 2 saat 40°C etüv.

Daha sonra dokular, içinde aynı gömme materyali bulunan 00 numara jelatin kapsüle gömüldü. Blok içindeki havanın çıkması için 1

saat oda ısısında bekletilen dokular, polimerizasyon için 24 saat 45°C' de, 48 saat 60°C'de etüvde bekletildiler. Süre sonunda etüv kapatılarak dokular etüv içinde kendi hallerinde soğumaya bırakıldı.

Hazırlanan bloklardan LKB Leica ultramikrotom ile 1 µ kalınlığında kesitler alındı ve toluidin mavisi ile boyandı. Leica DM 4000(Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde incelenen kalın kesitlerin resimleri çekildi ve bu bölgeler işaretlenerek formvar kaplı bakır gridler üzerine 0.2- 0.5 µ'luk ince kesitleri alındı. Kontrast sağlamak için alınan kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanarak Carl Zeiss EM900 elektron mikroskopta değerlendirilerek fotoğraflandı.

5. İstatistiksel Yöntem

Verilerin analizi SPSS for Windows 11.5 paket programında yapıldı. Sürekli ölçümlü değişkenlerin dağılımının normale uygun olup olmadığı Shapiro Wilk testi ile araştırıldı. Varyansların homojenliği ile Levene testi ile incelendi. Tanımlayıcı istatistikler ortalama ± standart sapma olarak gösterildi.

Gruplar arasında sırasıyla; goblet hücre sayısı, kas uzunluğu, PCNA yüzdeleri, caspase 8 ve caspase 3 farkın önemliliği Tek Yönlü Varyans analizi ile değerlendirildi. Tek Yönlü Varyans analizi sonucunun önemli bulunduğu durumlarda anlamlı farka neden olan grup veya grupları tespit etmek amacıyla post hoc Bonferroni testi kullanıldı.

Gruplar arasında kripta uzunluğu ve caspase 9 pozitiflik yüzdesi yönünden farkın anlamlılığı ise Kruskal Wallis testi ile değeriendirildi. Kruskal Wallis test istatistiği sonucunun önemli bulunduğu durumlarda anlamlı farka neden olan grup veya grupları tespit etmek amacıyla parametrik olmayan çoklu karşılaştırma testi kullanıldı.

$p<0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IV. BULGULAR

1. Işıık Mikroskobu Bulguları

Alsian mavisi- PAS yöntemiyle boyanmış 1 günlük kalın bağırsakta, mukoza katmanı oldukça inceydi. Epiteli tek katlı prizmatik şekilli idi. Goblet hücrelerinin çok sayıda olduğu görüldü. Villuslar tam olarak farklanmamıştı. Bezler az sayıdaydı. Bezlerde goblet hücreleri belirgindi. Muskularis mukoza oldukça inceydi ve bezlerin aralarına doğru uzanıyordu. Submukoza az gelişkindi. Yer yer küçük kapillerler, ince bağ dokusu lifleri ve hücreleri boldu. Tunika muskularisin diğer yapılara karşın biraz daha gelişkin olduğu iç enlemesine ve dış uzunlamasına katmanların belirginliği izleniyordu. İki kas katmanı arasında oldukça gelişkin sinir pleksusu dikkati çekiyordu (Resim 1).

22. günde mukozanın biraz daha gelişkin olduğu, villusların daha yapraksı görünüm kazandığı ayırt edilirken, bezler de farklanmıştı. Goblet hücreleri yeni doğan grubuna karşın yüzey epitelinde biraz daha azken, bezlerin bazalinde fazlaydı. Muskularis mukozanın kas liflerinin bez aralarından lümeneye ulaştığı gözlemleniyordu. Submukoza katmanının yeni doğan grubuna karşın biraz daha gelişkin olduğu ilgiyi çekti. Bağ dokusu lifleri, damarlar ve hücreleriyle belirgindi. Tunika muskularis ve arada sinir pleksusu gelişkindi (Resim 2a- 2b).

4 haftalık grupta mukozanın erişkin yapıya ulaştığı dikkati çekti. Bezler uzamış şekilleriyle ayırt ediliyordu. Goblet hücreleri boldu. Muskularis mukoza ve submukoza gelişkindi (Resim 3a- 3b- 3c).

10 haftalık grupta goblet hücrelerinin sayısının yüzey ve bez epitelinde son derece artmış olduğu ayırt edildi. Muskularis mukoza düz kas liflerinin bez aralarında yüzeye doğru uzandığı dikkati çekiyordu. Submukoza oldukça gelişkin yapıda ve bağ dokusu lifleri, damarlar ve hücrelerden zengindi (Resim 4a- 4b- 4c).

8 aylık gruba ait mukoza yüzey epitelinde goblet hücrelerinin sayısının son derece az olduğu izlenirken, bezlerde goblet hücrelerinin sayısı fazlaydı. (Resim 5a- 5b- 5c). Yine aynı yapı 22 aylık yaşlı grupta da ilgiyi çekiyordu (Resim 6a- 6b- 6c).

Alsian mavisi-PAS boyamasıyla yaptığımız değerlendirmede; yeni doğan grubunda mukoza epitelinin ve diğer bağırsak katmanlarının henüz erişkin yapıyı kazanmadığı izlenirken, 22.günden başlayarak kalın bağırsağın erişkin yapısına ulaştığı görüldü.

İmmünohistokimya uygulanan 1 günlük kalın bağırsak kesitlerinde PCNA tutulumu yeni şekillenen bezlerin bazal bölümlerindeki hücrelerde son derece yoğun. Yüzey epiteli hücre çekirdeklerinde, bağ

dokusu hücreleri ve uzunlamasına kas katmanına ait hücre çekirdeklerindeki PCNA tutulumu dikkati çekiyordu (Resim 7).

22 günlük grupta yine PCNA tutulumu bez hücrelerinde son derece kuvvetliken, bağ dokusu hücrelerinde çekirdek düzeyinde tutulum ayırt ediliyordu. Bez hücrelerinde çekirdek tutulumunun yanı sıra sitoplazmik tutulum da dikkat çekiyordu. Goblet hücrelerinde sitoplazmik tutulum izlenmezken, hücre zarı ve çekirdek düzeyinde de immünreaktivitenin varlığı ayırt ediliyordu (Resim 8a- 8b- 8c). 4 haftalık grupta da tutulumun diğer gruplarla eşdeğer olduğu dikkati çekiyordu (Resim 9a- 9b).

10 haftadan 8 aya doğru gidildikçe tutulumun sadece bez bazallerinde olduğu ilgi çekiyordu ve bu çekirdek ve bazal sitoplazma düzeyindeydi. Bağ dokusu hücre çekirdeklerinde de reaktivitenin varlığı ayırt ediliyordu (Resim 10a- 10b, 11a- 11b). Yaşlı grupta çoğunlukla tutulumun çekirdek düzeyinde olduğu belirgindi (Resim 12a- 12b).

Yeni doğan grubunda yüzey epitelinde ve bezlerin bazalinde izlenen proliferasyonun, yaşın ilerlemesine koşut süreklilik gösterdiği izlenirken, özellikle yaşlı gruplarda bağırsak bezlerinin bazalinde yoğunlaştığı belirlendi.

Tüm gruplarda kaspaz 9 tutulumunun oldukça düzensiz olduğu ayırt edilirken, 1 günlük grupta reaksiyonun yüzey epitelinde sitoplazmik, bez epitelinde bazal sitoplazmik düzeyde olduğu görüldü. Bağ dokusu hücreleri ve kas liflerinde de yoğun immünreaktivitenin varlığı dikkati çekti (Resim 13a- 13b).

22 günlük ve 4 haftalık gruplarda kaspaz 9 tutulumunun çoğunlukla bez hücrelerinde görüldüğü dikkati çekti. Goblet hücrelerinde ve yüzey epitelinde ise tutulum daha azdı (Resim 14a- 14b, 15a- 15b).

10 haftadan 8 aya doğru gidildikçe kaspaz 9 tutulumunun yüzey epitelinde membranöz ve sitoplazmik, bez epitelinde bazal sitoplazmik, goblet hücrelerinde hiç görülmediği ayırt edilirken, 8 aylık ve 22 aylık gruplarda goblet hücreleri de dahil olmak üzere hücre zarı ve bazal sitoplazma düzeyinde kuvvetli, buna karşın sitoplazmik düzeyde zayıf bir immün reaktivitenin olduğu dikkati çekti (Resim 16a- 16b, 17a- 17b- 17c, 18a- 18b- 18c).

Yeni doğan grubunda kaspaz 8 ile yapılan immünohistokimyasal incelemede tutulumunun epitel, bez epiteli, bağ dokusu hücreleri ve kas hücrelerinde oldukça yoğun olduğu belirlendi (Resim 19).

Kaspaz 8 tutulumunun 22. günden başlayarak 4 hafta, 10 hafta ve 8 aylık grupların bez hücrelerinde bazal sitoplazmada yaygınlaştığı ayırt edildi. Yine yaşlanmaya koşut goblet hücrelerinde tutulumun arttığı ilgiyi çekti. Goblet hücrelerindeki en yoğun tutulumun 8 aya ait kalın bağırsakta olduğu gözlemlendi (Resim 20, 21, 22, 23).

22 ay grubunda kaspaz 8 boyanmasının 22 güne eşdeğer olduğu belirlendi. Goblet hücrelerinde ise tutulumun bazal sitoplazmada yer yer orta derecede olduğu görülüyordu (Resim 24).

Gruplar arasında kaspaz 8 tutulumunun belirgin farklılıklar göstermediği izlenirken, yaşın ilerlemesine koşut tutulumun özellikle bezlerin bazal bölümlerinde ve goblet hücrelerinde olduğu dikkati çekti.

1 günlük grupta kaspaz 3 tutulumunun oldukça yoğun olduğu gözlemlenirken, kas ve bağ dokusu hücrelerinde kaspaz 8 ve 9' a karşın biraz daha az olduğu görülüyordu (Resim 25).

22 günlük ve 4 haftalık gruplarda kaspaz 3 tutulumunun yine yüzey epiteli ve bez epiteli düzeyinde oldukça yaygın olduğu ayırt edildi. Bağ dokusu ve kas hücrelerinde tutulum oldukça azdı. Goblet hücrelerinde çoğunlukla yaygın tutulum dikkati çekiyordu (Resim: 26a- 26b- 26c, 27a- 27b- 27c).

10 hafta ve 8 ay grubunda tutulumun diğer gruplara karşın biraz daha az olduğu ayırt edilirken, immünreaktivitenin çoğunlukla yüzey epitelinde sitoplazmik ve bez hücrelerinde de bazal zar ve sitoplazma düzeyinde olduğu belirlendi (Resim: 28a- 28b- 28c, 29a- 29b). Ve bu tutulumun yaşlı grupta da eşdeş olduğu dikkati çekti (Resim: 30a- 30b- 30c).

Yeni doğan grubunda belirgin olarak görülen kaspaz 3 tutulumunun, erişkin gruptan başlayarak yüzey epiteli ve bez epitelindeki hücrelerde daha az olduğu ilgiyi çekti.

2. Elektron Mikroskobu Bulguları

1 günlük kalın bağırsak dokusunun ince kesitlerinde; yüzey epitel hücrelerinde mikrovillusların oldukça gelişkin olduğu, epitel yan yüz bağlantılarının biçimlendiği görülürken, epitel hücre sitoplazmasında daha çok ribozomların yaygınlığı ayırt edildi. Mitoz bölünmeyi simgeleyen görüntüler de oldukça belirgindi. Epitel hücrelerinde vakuoller ve veziküller gözlemleniyordu. Goblet hücreleri salgıyla doluydu (Resim 31).

22. günde yüzey epitel hücrelerinin oldukça gelişkin yapı sergilediği, mikrovillusların gelişkin olduğu, yan yüz bağlantı birimlerinin erişkin yapıya ulaştığı dikkati çekerken, mitokondriyonların oldukça iri

olduğu, f3tal mitokondriyon yapısı sergilediği, kristaların kısa ve k3t olduğu ayırt edildi. Sitoplazmada poliribozomlar çoktu. Bazı h3cre sitoplazmaları oldukça yoğun, bazıları açık renkli boyanmıştı. Çekirdek normal yapıdaydı. Goblet h3creleri oldukça gelişkindi. Salgı gran3llerinin apikal sitoplazmayı doldurduğu, iri ve orta ya da çok yoğun içerikli olduğu ayırt edildi. Bazı iri gran3llerde içerik parçalı g3r3n3mdeydi. Goblet h3crelerinin apikal y3zeyinde kısa, k3t mikrovilluslar dikkat çekiciydi (Resim 32).

4 haftalık grupta y3zey epitelinde mikrovilluslar erişkin yapıdaydı. Yine y3zey epitel h3crelerinde mitokondriyonlar erişkin yapısını kazanmıştı. Apikal sitoplazmada gran3ll3 endoplazmik retikulumun gelişkin ve ilerinin az yoğun salgı materyali ile dolu olduğu g3zlendi. 3nceki gruplarla eşdeş olarak sitoplazmada yaygın ribozomlar, apikal ve yan y3zlere yakın çok sayıda multivezik3ler ve 3rt3l3 vezik3llerin varlığı ayırt ediliyordu. H3cre yan y3zlerinde bağlantı birimleri ve interdigitasyonlar belirgindi. Çekirdek normal yapıdaydı. Goblet h3creleri de, ribozom ve diğer organelleriyle bazal sitoplazmada yerleşikti. Goblet h3cresinde apikal sitoplazmada biriken salgının yer yer tek gran3ller halde, yer yer ise birleşerek gruplar oluşturduğu ayırt edildi. Bu h3crelerde bazı b3lgelerde salgının apikal h3cre zarından l3mene fırladığı belirlendi (Resim 33).

10 haftalık kalın bağırsak kesitlerinde, epitel ve goblet hücrelerinin oldukça aktif olduğu, mikrovillusların son derece gelişkin olduğu, goblet hücrelerinin salgı yaparak epitel yüzeyine mukus boşalttığı saptandı (Resim 34a- 34b).

8 aylık grupta yapı 10 haftalık gruba eşdeşti. Epitel hücrelerinde mikrovilluslar ve sitoplazma oldukça gelişkindi. Goblet hücreleri salgıyı biriktirme evresindeydi. Salgının yer yer lümene verildiği izlendi. Ribozom ve multivezüküller cisimler belirgindi (Resim 35, 36).

22 aylık grupta kalın bağırsak yüzey epitelinde genel yapının oldukça bozulmuş olduğu dikkati çekti. Yüzey epitel hücrelerinde mikrovillusların düzensizleştiği ayırt edilirken, terminal ağ bölgesinde yan yüz bağlantılarıyla devam eden, goblet hücrelerini sarar biçimde düzenlenmiş yoğun fibröz bantın oluştuğu dikkati çekti. Mitokondriyonlarda şekil bozuklukları ve kristolizis yaygındı. Sitoplazmanın yer yer daha açık renkte olduğu izlendi (Resim 37a- 37b).

3. İstatistiksel Bulgular

Tek yönlü varyans analizine göre gruplar arasında goblet hücre sayısı yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0.001$). 1.gün grubundaki goblet hücre sayısı, sırasıyla; 22.gün, 4.hafta, 10 hafta, 8. ay ve 22. ay gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak daha

düşüktü ($p<0.001$, $p=0.010$, $p<0.001$, $p<0.001$ ve $p<0.001$). 22. gün grubu ile 4.hafta, 10.hafta ve 8. ay grupları arasında anlamlı fark yokken ($p=1.000$, $p=1.000$ ve $p=0.354$) 22.gün grubunun goblet hücre sayısı 22.ay grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0.001$). 4.hafta grubundaki goblet hücre sayısı sırasıyla; 10 hafta, 8. ay ve 22. ay gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0.021$, $p=0.005$ ve $p<0.001$). 10. hafta grubu ile 8. ay grubu arasında anlamlı fark yokken ($p=1.000$) 10. hafta grubuna göre 22. ay grubundaki goblet hücre sayısı istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0.001$). Ayrıca, 22. ay grubundaki goblet hücre sayısı 8.ay grubuna göre de istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0.006$) (Tablo 1, Grafik 1).

Kruskal Wallis testine göre gruplar arasında kripta uzunluğu düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.001$). 1.Gün grubu ile 22.gün arasında anlamlı fark yokken ($p=0.125$), 1.gün grubundaki kripta uzunluğu sırasıyla; 4.hafta, 10 hafta, 8. ay ve 22. ay gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0.001$, $p<0.001$, $p=0.004$ ve $p<0.001$). 22.gün ile 8. ay arasında anlamlı fark yokken ($p=0.125$), 22.gündeki kripta uzunluğu sırasıyla; 4.hafta, 10 hafta ve 22. ay gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0.001$, $p=0.04$ ve $p<0.001$). 4. hafta grubundaki kripta uzunluğu 10.hafta ve 8.ay gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0.031$ ve $p<0.001$) 4.hafta ile 22.ay grubu arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.850$). 22. aydaki kripta uzunluğu 10.hafta ve 8.ay gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek olup ($p=0.021$ ve $p<0.001$) 10.hafta ve 8.ay grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0.125$) (Tablo 2, Grafik 2).

Tek yönlü varyans analizine göre gruplar arasında kas uzunluğu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0.001$). 1.gün grubundaki kas uzunluğu, sırasıyla; 22.gün, 4.hafta, 10.hafta, 8.ay

ve 22. ay gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük bulundu ($p=0.023$, $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$ ve $p<0.001$). 22.gün grubunun kas uzunluğu 22. ay grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük iken ($p=0.011$) 22.gün grubu ile sırasıyla; 4.hafta, 10.hafta ve 8.ay grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0.629$, $p=1.000$ ve $p=0.226$). 4.hafta grubu ile sırasıyla; 10.hafta, 8.ay ve 22. ay grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=1.000$, $p=1.000$ ve $p=1.000$). 10.hafta grubu ile sırasıyla; 8.ay ve 22. ay grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=1.000$ ve $p=0.501$). 8.ay ve 22. ay grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=1.000$) (Tablo 3, Grafik 3).

Tek yönlü varyans analizine göre gruplar arasında PCNA pozitifliği yüzdesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0.001$). 1.gün grubundaki PCNA pozitiflik yüzdesi, sırasıyla; 22.gün, 4.hafta, 10.hafta ve 22. ay gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.001$, $p=0.009$, $p<0.001$ ve $p=0.009$). 1.gün ile 8.ay arasında ise anlamlı fark yoktu ($p=0.083$). 22.gün grubu ile sırasıyla; 4.hafta, 10.hafta, 8.ay ve 22. ay grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0.710$, $p=1.000$, $p=0.094$ ve $p=0.710$). 4.hafta grubu ile sırasıyla; 10.hafta, 8.ay ve 22. ay grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=1.000$, $p=1.000$ ve $p=1.000$). 10.hafta grubu ile sırasıyla; 8.ay ve 22. ay grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0.798$ ve $p=1.000$). 8.ay ve 22. ay grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=1.000$) (Tablo 4, Grafik 4).

Kruskal Wallis testine göre gruplar arasında Kaspaz 9 pozitifliği yüzdesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0.001$). 1.gün ile 10.hafta grupları arasında anlamlı fark yokken ($p=0.417$), 1.güne göre sırasıyla; 22. gün, 4.hafta, 8.ay ve 22.ay grubundaki Kaspaz 9 pozitiflik yüzdesi istatistiksel anlamlı olarak daha

yüksek bulunmuştu ($p<0.001$, $p<0.001$, $p=0.003$ ve $p<0.001$). 22.gün grubu ile 4.hafta, 8. ay ve 22.ay grupları arasında anlamlı fark yokken ($p=0.319$, $p=0.383$ ve $p=0.453$). 22. gün grubundaki Kaspaz 9 pozitifliği yüzdesi 10.hafta grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0.001$). 10.hafta grubundaki Kaspaz 9 pozitifliği sırasıyla; 4.hafta, 8.ay ve 22.aya göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0.001$, $p<0.001$ ve $p<0.001$). 4.hafta ile 8.ay, 4.hafta ile 22.ay ve 8.ay ile 22.ay arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.069$, $p=0.802$ ve $p=0.112$) (Tablo 5, Grafik 5).

Tek yönlü varyans analizine göre gruplar arasında Kaspaz 8 pozitifliği yüzdesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0.001$). 1.gün grubundaki Kaspaz 8 pozitiflik yüzdesi, sırasıyla; 22.gün, 4.hafta, 10.hafta ve 22. ay gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0.050$, $p<0.001$, $p=0.006$ ve $p=0.010$). 1.gün ile 8.ay arasında ise anlamlı fark yoktu ($p=0.258$). 22.gün grubu ile sırasıyla; 4.hafta, 10.hafta, 8.ay ve 22. ay grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=1.000$, $p=1.000$, $p=1.000$ ve $p=1.000$). 4.hafta grubu ile sırasıyla; 10.hafta, 8.ay ve 22. ay grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=1.000$, $p=0.624$ ve $p=1.000$). 10.hafta grubu ile sırasıyla; 8.ay ve 22. ay grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=1.000$ ve $p=1.000$). 8.ay ve 22. ay grupları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=1.000$) (Tablo 6, Grafik 6).

Tek yönlü varyans analizine göre gruplar arasında Kaspaz 3 pozitifliği yüzdesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0.001$). 1.gün grubundaki Kaspaz 3 pozitiflik yüzdesi, sırasıyla; 22.gün ve 4.hafta gruplarına göre yüksek, 22. ay grubuna göre ise düşük bulunmuştu ($p<0.001$, $p<0.001$ ve $p<0.001$). 1.gün grubu ile 10 hafta ve 8. ay grupları arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.325$ ve $p=1.000$). 22. gün

grubu ile 4.hafta hafta arasında anlamlı fark yokken ($p=1.000$), 10.hafta, 8. ay ve 22. ay gruplarının Kaspaz 3 pozitifliği yüzdesi 22. güne göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0.001$, $p<0.001$ ve $p<0.001$). 4.hafta grubuna göre 10.hafta, 8. ay ve 22. ay gruplarının Kaspaz 3 pozitifliği yüzdesi istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0.001$, $p=0.004$ ve $p<0.001$). 10. hafta grubunda Kaspaz 3 pozitifliği yüzdesi 8. aya göre anlamlı olarak yüksek, 22. aya göre ise istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p=0.011$ ve $p=0.003$). 8.aydaki Kaspaz 3 pozitifliği yüzdesi de 22. aya göre ise istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü ($p<0.001$) (Tablo 7, Grafik 7).

Tablo 1:Yaşa göre değişen goblet hücresi sayısının değerlendirilmesi.

GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
1.Gün	5	49,00	7,874	50,00	38	60
22.Gün	5	134,40	29,057	130,00	105	178
4.Hafta	5	107,60	10,738	105,00	96	122
10.Hafta	5	161,80	25,489	175,00	120	181
8.Ay	5	170,60	20,501	162,00	158	207
22.Ay	5	232,00	35,665	235,00	190	275
Total	30	142,57	61,433	150,50	38	275

Tablo 2: Yaşa göre değişen kripta uzunluğunun değerlendirilmesi.

GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
1.Gün	5	3,4000	,81099	3,5100	2,53	4,31
22.Gün	5	7,4260	,41884	7,5400	6,73	7,86
4.Hafta	5	14,4380	,94142	14,8100	13,09	15,37
10.Hafta	5	12,3300	,41695	12,2000	11,87	12,87
8.Ay	5	10,6340	,53799	10,7000	10,06	11,31
22.Ay	5	14,7020	,45433	14,8400	14,19	15,20
Total	30	10,4883	4,11686	11,5900	2,53	15,37

Tablo 3: Yaşa göre değişen kas uzunluğunun değerlendirilmesi.

GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
1.Gün	5	5,8880	1,93861	5,6700	3,84	8,99
22.Gün	5	16,6000	7,82659	16,0400	8,09	28,20
4.Hafta	5	23,0380	3,88912	23,8000	18,07	28,55
10.Hafta	5	21,4320	2,60179	22,1200	18,06	24,64
8.Ay	5	24,4420	6,05747	22,6100	17,33	33,26
22.Ay	5	28,1920	3,31317	26,2700	25,34	32,58
Total	30	19,9320	8,47373	21,9400	3,84	33,26

Tablo 4: Farklı yaş gruplarında PCNA tutulumunun değerlendirilmesi.

GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
1.Gün	5	44,60	4,336	44,00	40	50
22.Gün	5	66,00	2,550	67,00	62	68
4.Hafta	5	58,60	5,459	60,00	50	64
10.Hafta	5	62,60	4,930	61,00	58	70
8.Ay	5	55,40	6,580	55,00	48	63
22.Ay	5	58,60	8,081	59,00	50	68
Total	30	57,63	8,528	59,50	40	70

Tablo 5: Farklı yaş gruplarında Kaspaz 9 tutulumunun değerlendirilmesi.

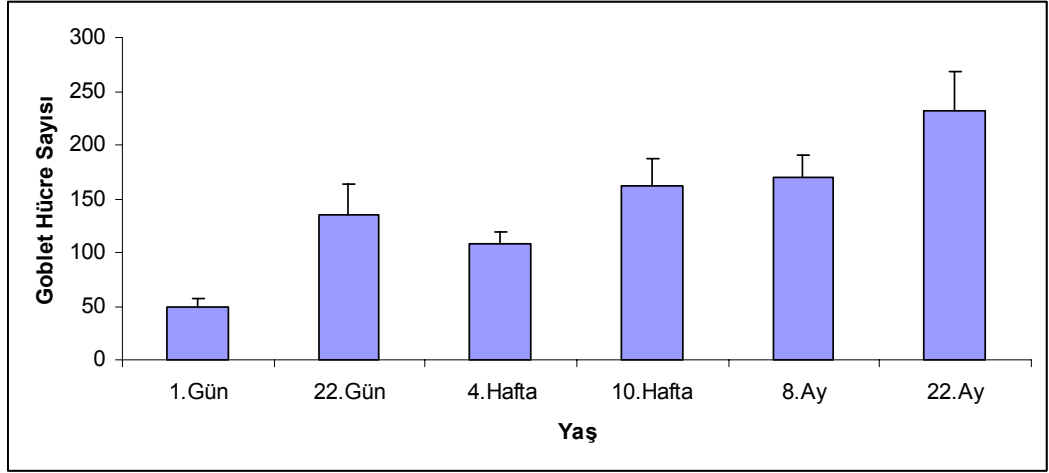
GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
1.Gün	5	44,00	7,314	42,00	36	55
22.Gün	5	17,80	3,114	17,00	14	21
4.Hafta	5	15,60	2,074	16,00	12	17
10.Hafta	5	49,40	4,219	50,00	43	54
8.Ay	5	22,20	7,727	20,00	14	33
22.Ay	5	14,60	6,542	17,00	7	23
Total	30	27,27	15,154	20,50	7	55

Tablo 6: Farklı yaş gruplarında Kaspaz 8 tutulumunun değerlendirilmesi.

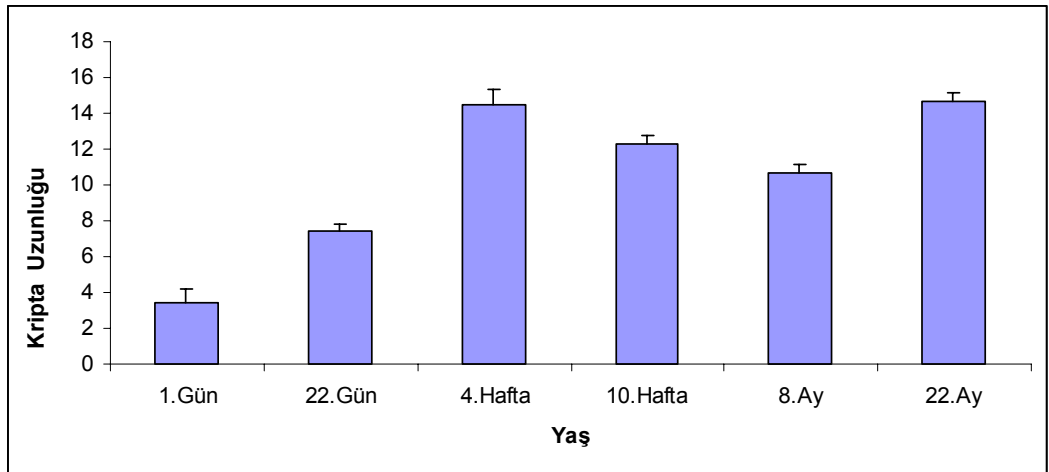
GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
1.Gün	5	32,20	5,630	33,00	24	39
22.Gün	5	21,00	6,042	21,00	15	28
4.Hafta	5	16,00	4,583	16,00	11	23
10.Hafta	5	18,00	5,874	18,00	10	25
8.Ay	5	23,40	6,656	20,00	17	32
22.Ay	5	18,80	3,033	19,00	15	23
Total	30	21,57	7,309	20,00	10	39

Tablo 7: Farklı yaş gruplarında Kaspaz 3 tutulumunun değerlendirilmesi.

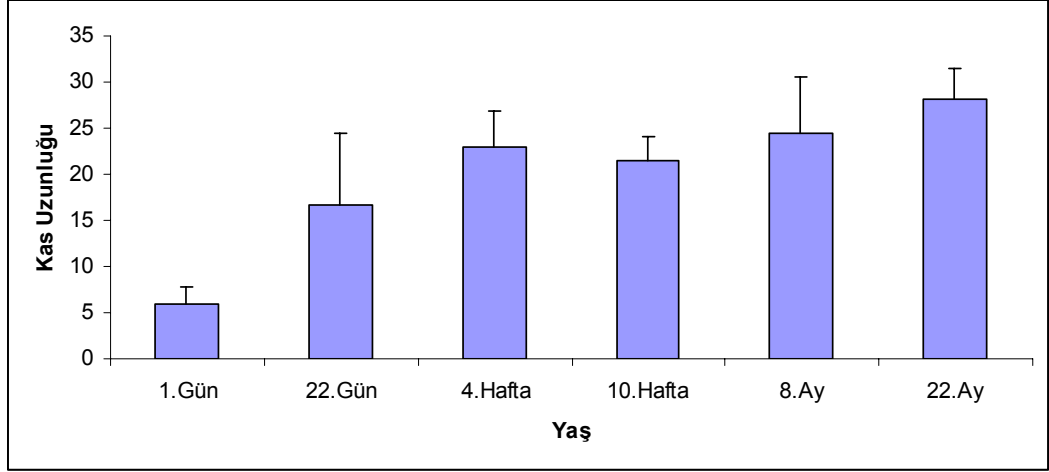
GRUP	N	Mean	Std. Deviation	Median	Minimum	Maximum
1.Gün	5	49,20	6,611	50,00	42	57
22.Gün	5	16,80	5,848	19,00	7	21
4.Hafta	5	23,20	4,919	23,00	17	29
10.Hafta	5	60,40	8,019	63,00	50	68
8.Ay	5	42,80	7,918	40,00	37	56
22.Ay	5	80,60	9,099	80,00	68	92
Total	30	45,50	22,915	43,50	7	92



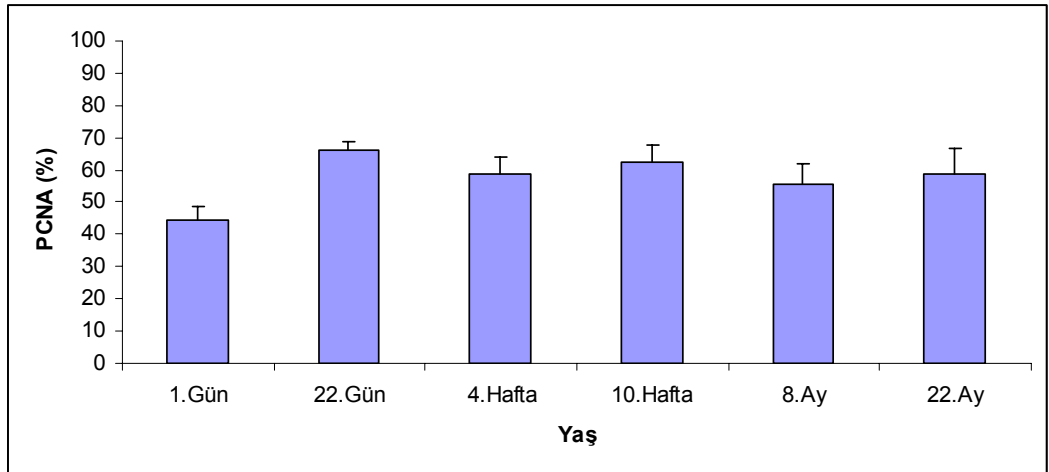
Grafik 1: Farklı yaş gruplarındaki goblet hücre sayısı ($p<0.001$).



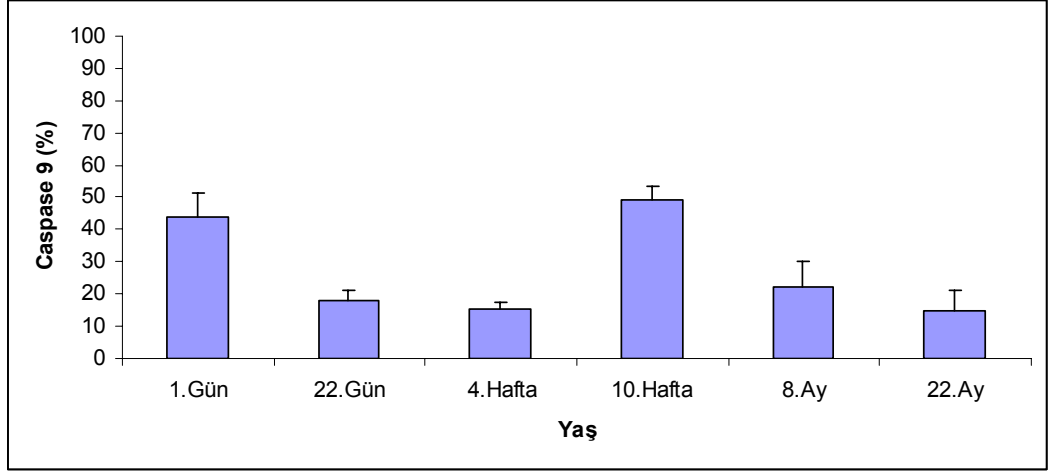
Grafik 2: Farklı yaş gruplarındaki kripta uzunluğu ($p<0.001$).



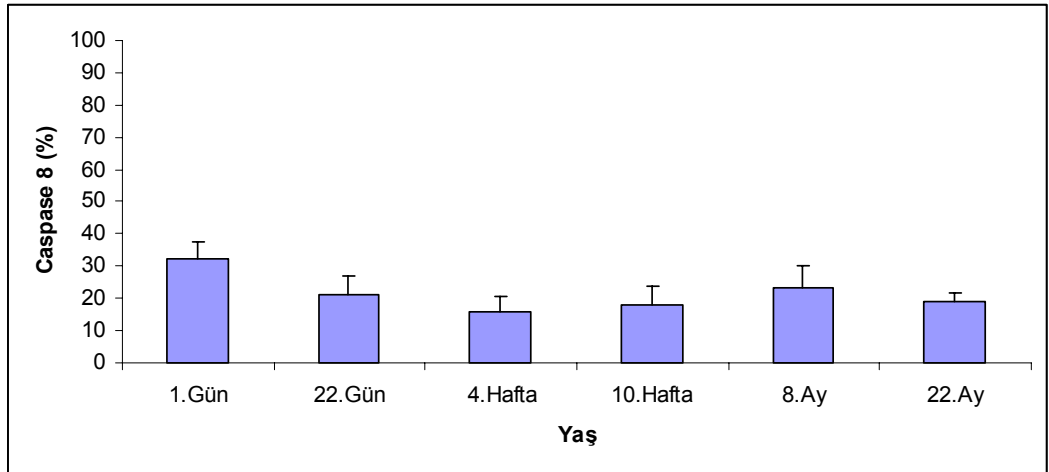
Grafik 3: Farklı yaş gruplarındaki kas uzunluğu ($p<0.001$).



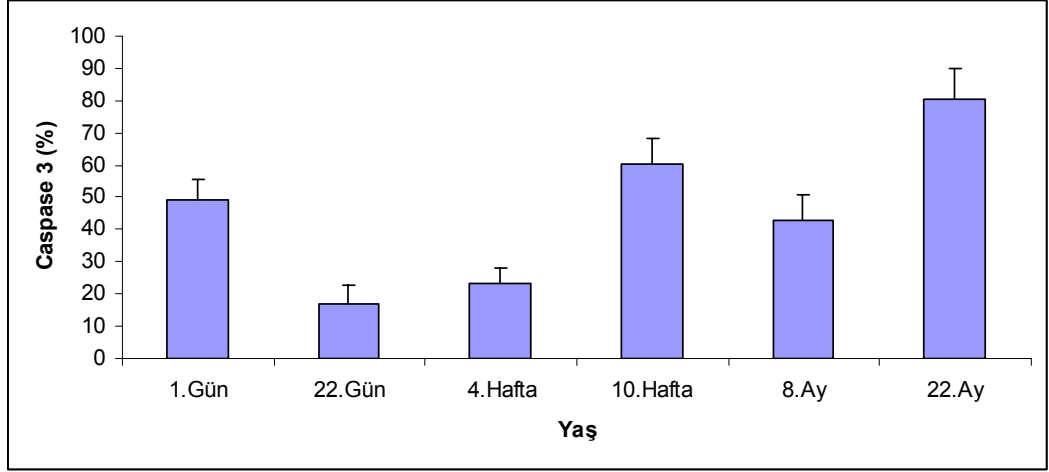
Grafik 4: Farklı yaş gruplarında PCNA antikorunun tutulumu ($p<0.001$).



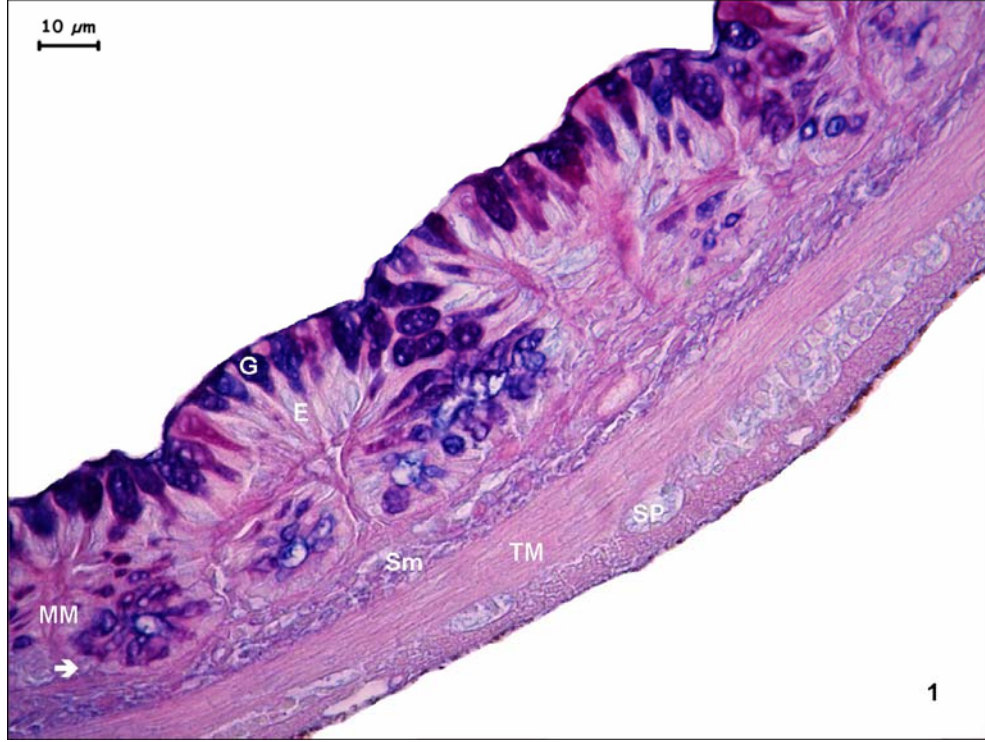
Grafik 5: Farklı yaş gruplarında Kaspaz 9 antikorunun tutulumu ($p<0.001$).



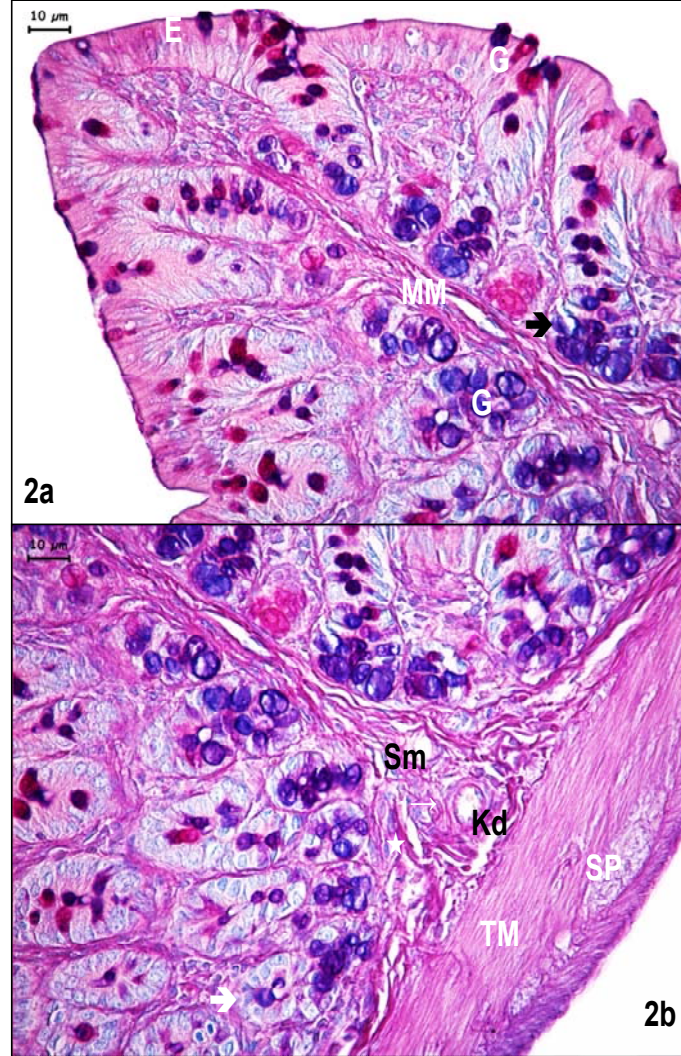
Grafik 6: Farklı yaş gruplarında Kaspaz 8 antikorunun tutulumu ($p<0.001$).



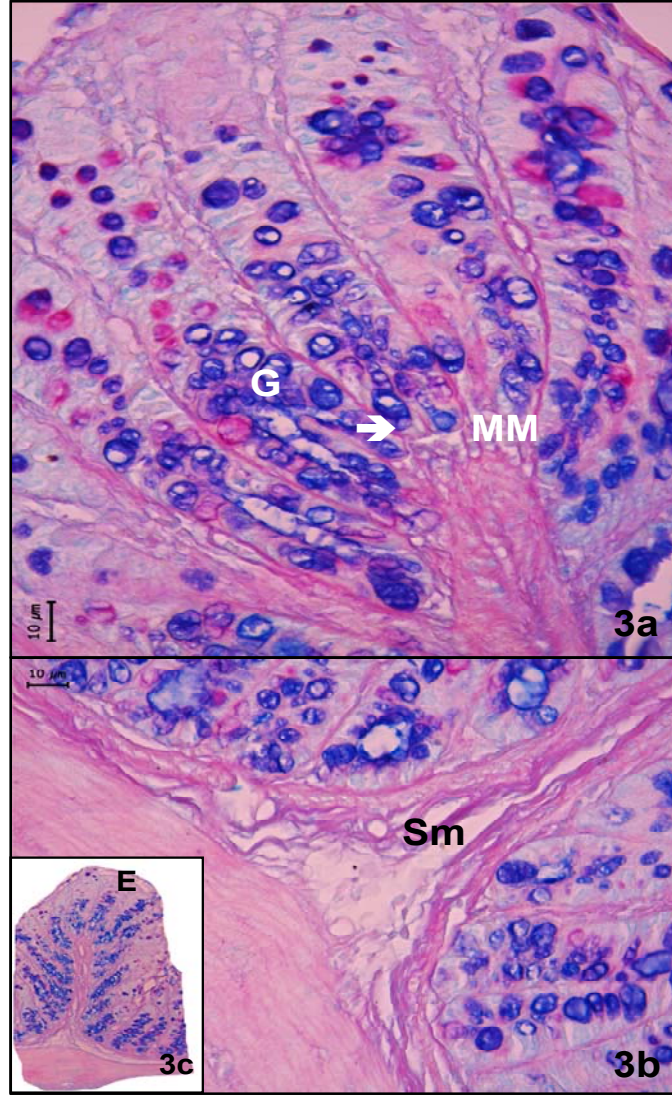
Grafik 7: Farklı yaş gruplarında Kaspaz 3 antikorunun tutulumu ($p<0.001$).



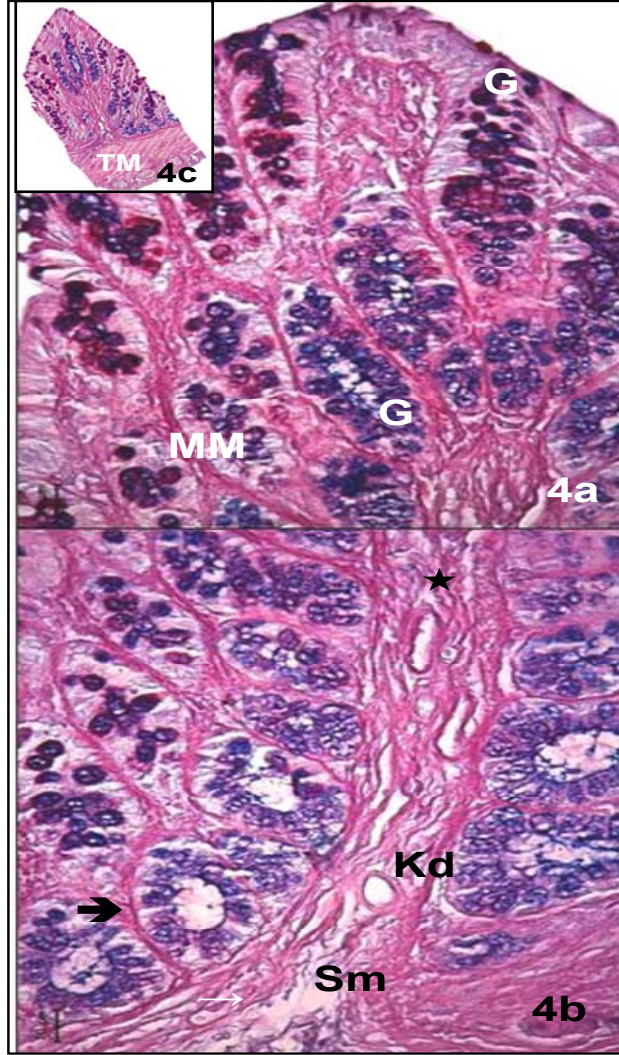
Resim 1: Alsian mavisi- PAS ile yapılan incelemelerde yenidoğan grubunda, yüzey epitel hücreleri (E), goblet hücreleri (G), bağırsak bezleri (➔), muskularis mukoza (MM), submukoza (Sm), tunika muskularis (TM) ve kas katmanları arasındaki sinir pleksusları (SP) ayırt ediliyor (Alsian Mavisi- PAS x400).



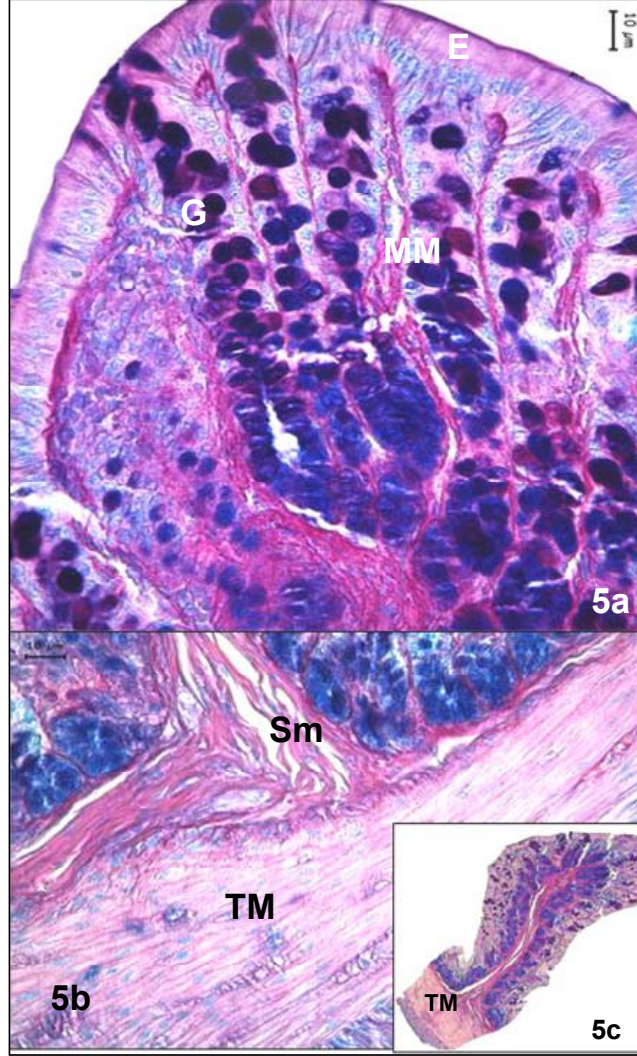
Resim 2: 22 günlük deney grubunda Alsian mavisı- PAS ile yapılan değerlendirmelerde tunika mukoza katmanında yüzey epitel hücreleri (E), goblet hücreleri (G), bağırsak bezleri (→), muskularis mukoza (MM) izleniyor (Resim 2a). Submukoza katmanında (Sm), bağ dokusu lifleri (→), kan damarları (Kd), bağ dokusu hücreleri (★) görülürken, tunika muskularis katmanı (TM) ve sinir pleksusu (SP) gelişkin yapıları ile gözleniyor (Resim 2b). (Alsian Mavisı- PAS x400).



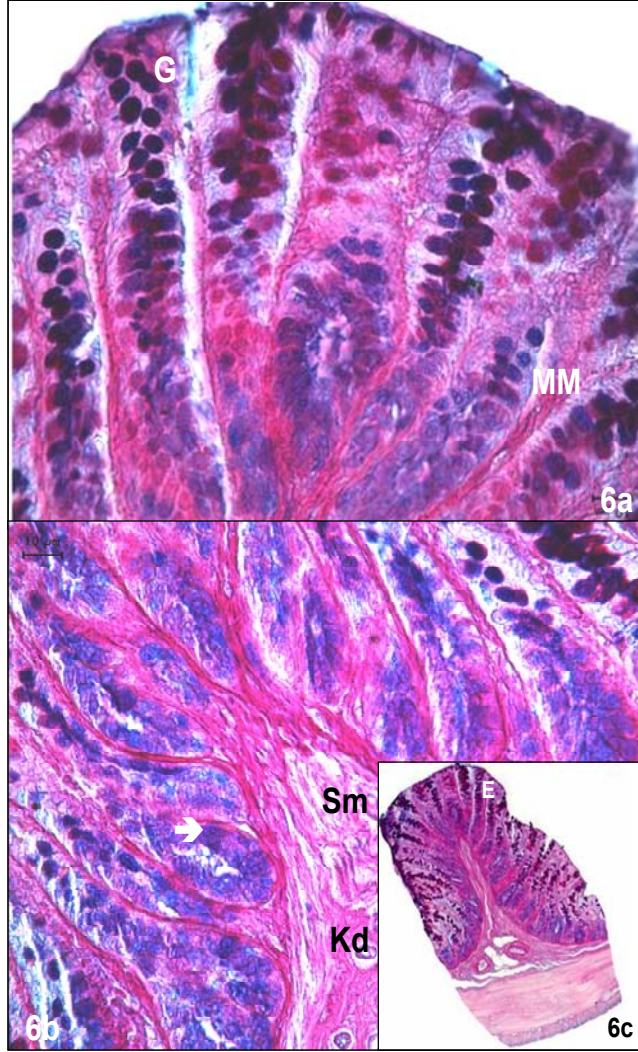
Resim 3: 4 haftalık grupta, Alsian mavisi- PAS ile yapılan boyama sonucunda, tunika mukoza katmanında yüzey epitel hücreleri (E), (Resim 3c) (Alsian mavisi- PAS X100) goblet hücreleri (G), bağırsak bezlerinin (➔) yanısıra, muskularis mukoza (MM) ve submukoza katmanı (Sm), da gelişkin olarak gözleniyor (Resim 3a- 3b). (Alsian Mavisi- PAS x400).



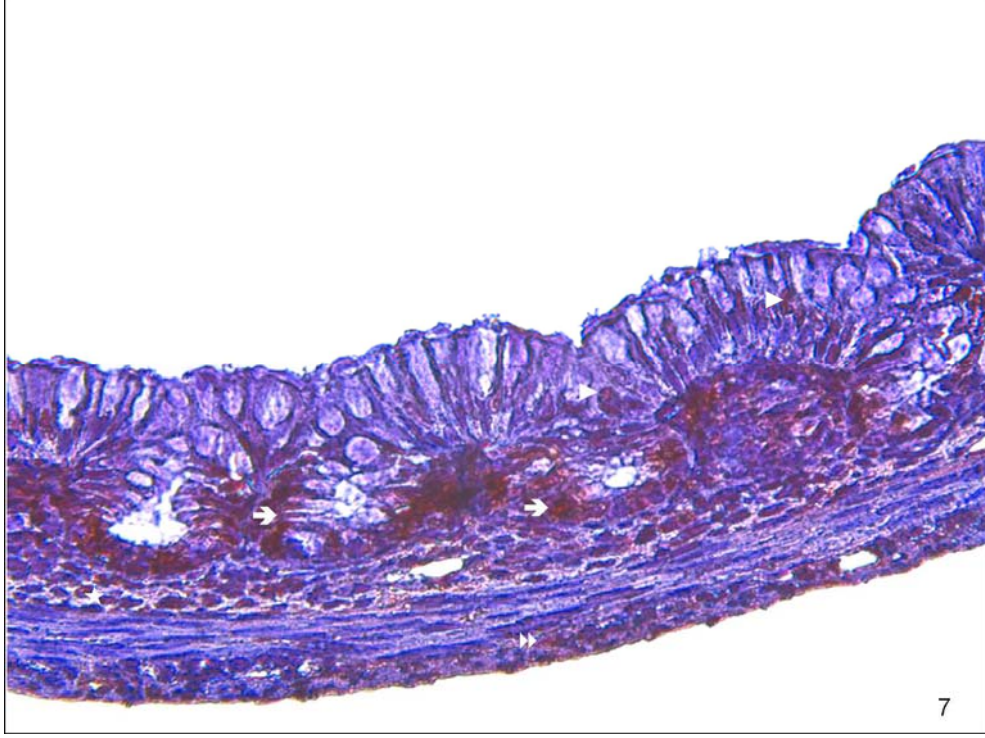
Resim 4: 10 haftalık grupta, Alsan mavisi- PAS ile yapılan incelemelerde, tunika mukoza katmanında goblet hücrelerinin (G) sayısının artış gösterdiği gözleniyor. Muskularis mukoza (MM) katmanı bez aralarına doğru uzanıyor (Resim 4a). Gelişkin yapıdaki submukoza (Sm) katmanında bağ dokusu lifleri (→), damarlar (Kd) ve hücreler (★) oldukça fazla gözleniyor (Resim 4b) (Alsan Mavisi- PAS x400). Ayrıca Tunika muskularis katmanı da izleniyor. (Resim 4c) (Alsan Mavisi- PAS X100).



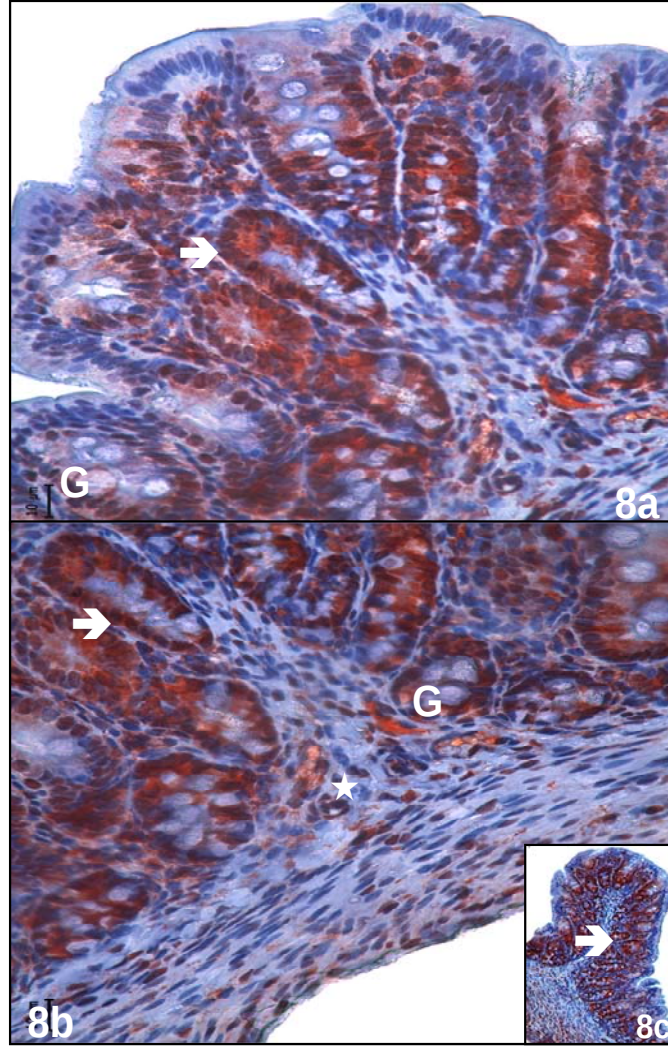
Resim 5: 8 aylık grupta, Alsiyan mavisi- PAS ile yapılan değ erlendirmede, yüzey epitelinde (E) , goblet hücrelerinin (G) sayısının az olduğu gözleniyor (Resim 5a). Tunika muskularis (TM) ve submukoza (Sm) izleniyor (Resim 5b- 5c). (Alsiyan Mavisi- PAS x400) (Alsiyan mavisi- PAS X100)



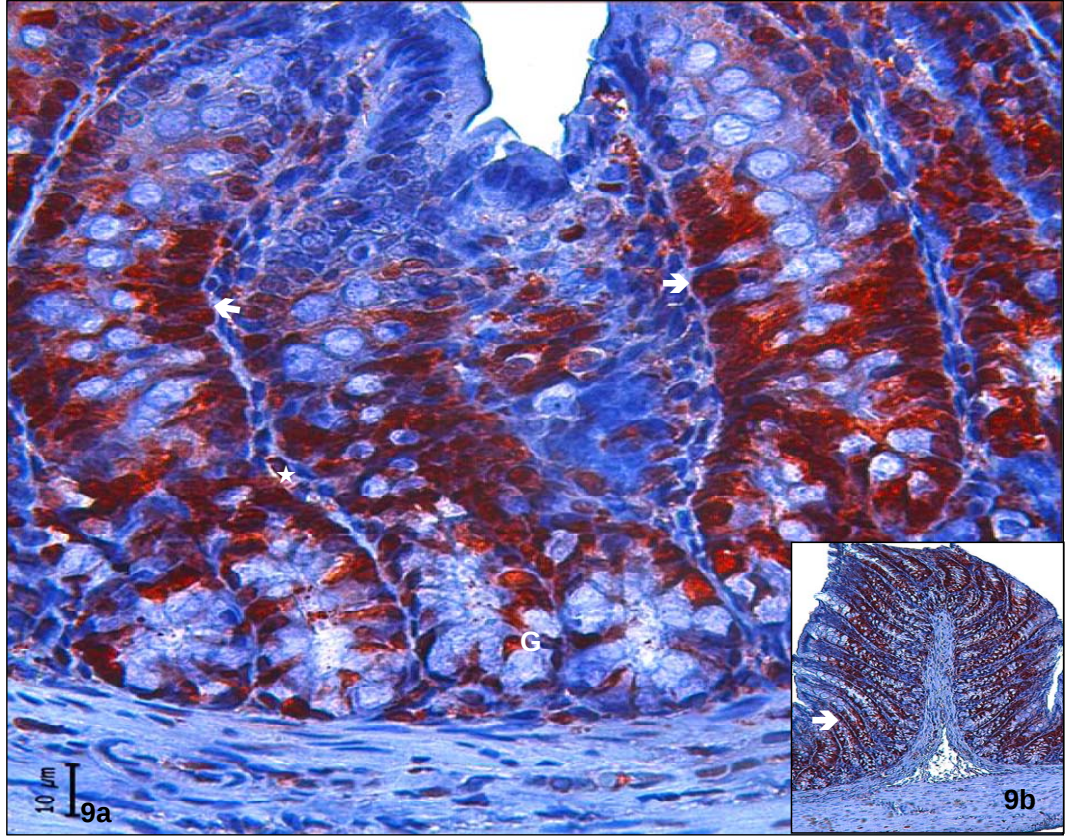
Resim 6: 22 aylık grupta, Alsian mavisi- PAS ile yapılan boyama sonucunda, yüzey epitelinde (E) (Resim 6c) (Alsian Mavisi- PAS x100) , goblet hücrelerinin (G) (Resim 6a) sayısının az olduğu görülüyor. Submokoza katmanı (Sm), kan damarları (Kd) ve bezler (➡) izleniyor (Resim 6b). (Alsian Mavisi- PAS x400).



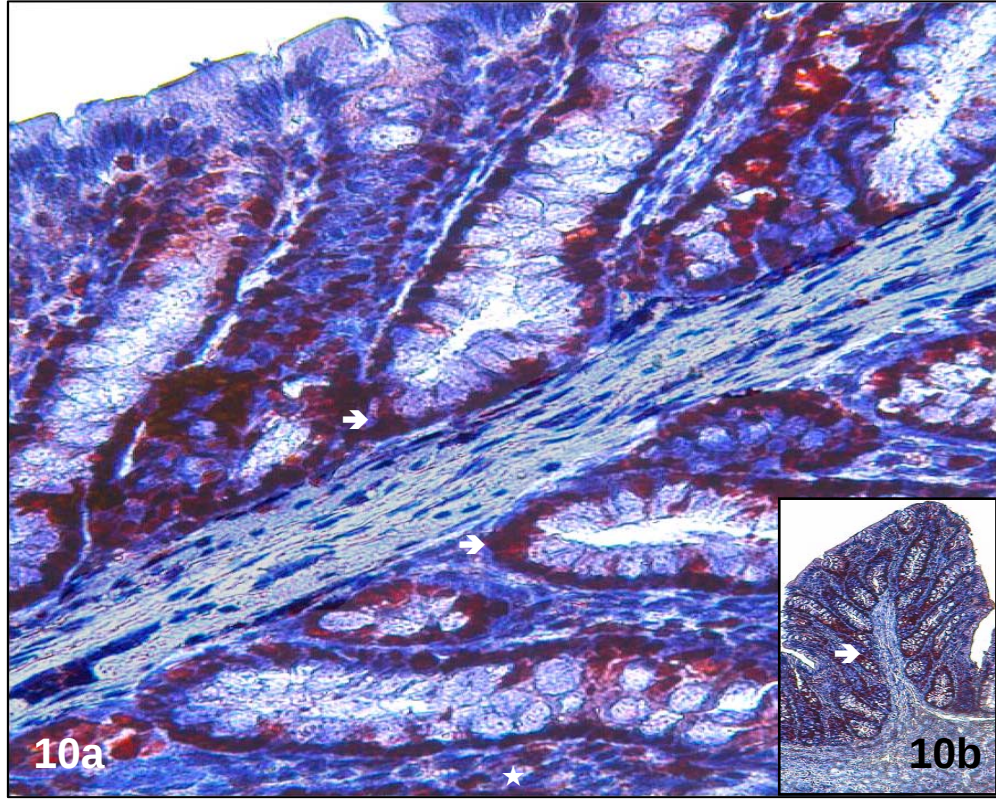
Resim 7: 1 günlük grupta PCNA tutulumu değerlendirildiğinde, bezlerin bazalinde (➡) son derece yoğun olduğu gözlenirken, yüzey epiteli hücre çekirdeklerinde (▶), bağ dokusu hücrelerinde (★) ve uzunlamasına kas katmanına ait hücre çekirdeklerinde (▶▶) de PCNA immünreaktivitesi ayırt ediliyor (Hemotoksilen- immünoperoksidaz x 400).



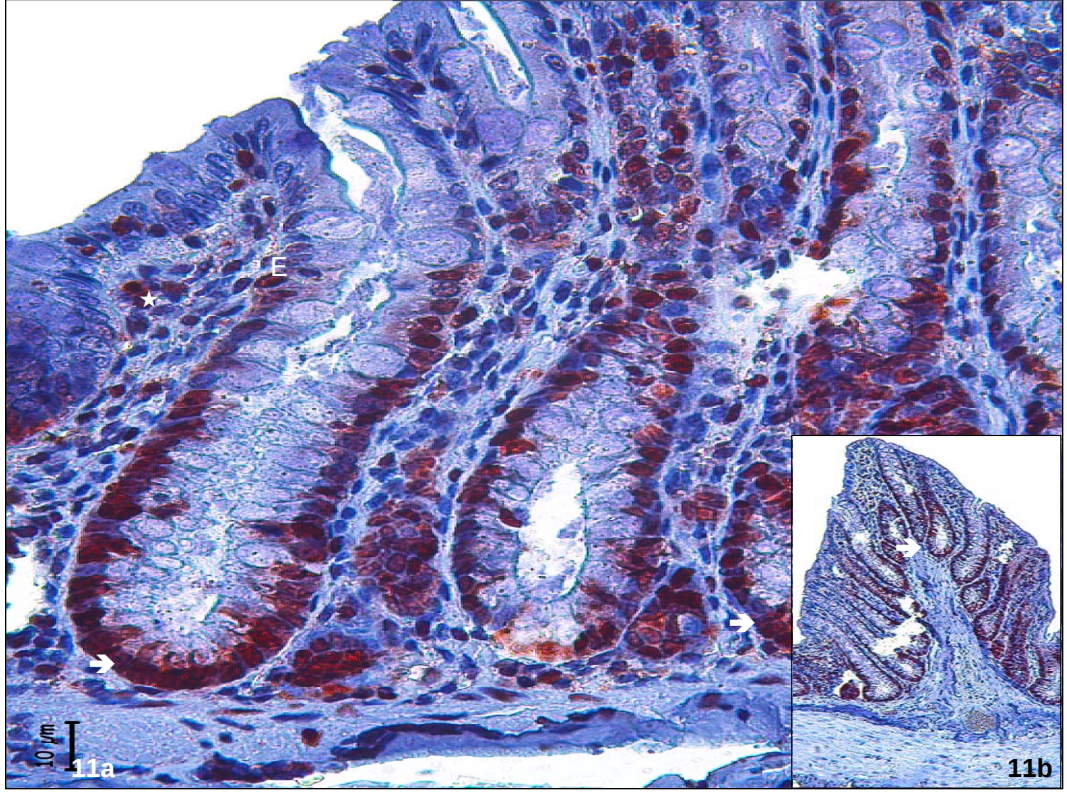
Resim 8: 22 günlük grupta PCNA tutulumu incelendiğinde tutulum, bez hücrelerinde (➔) son derece yoğunken (Resim 8c) (Hematoksilen-immünoperoksidaz X100), bağ dokusu hücrelerinde (★) çekirdek düzeyinde tutulum gözleniyor (Resim 8b). Goblet hücrelerinde(G) sitoplazmik tutulum görülüyor (Resim 8a- 8b). (Hematoksilen-immünoperoksidaz x 400).



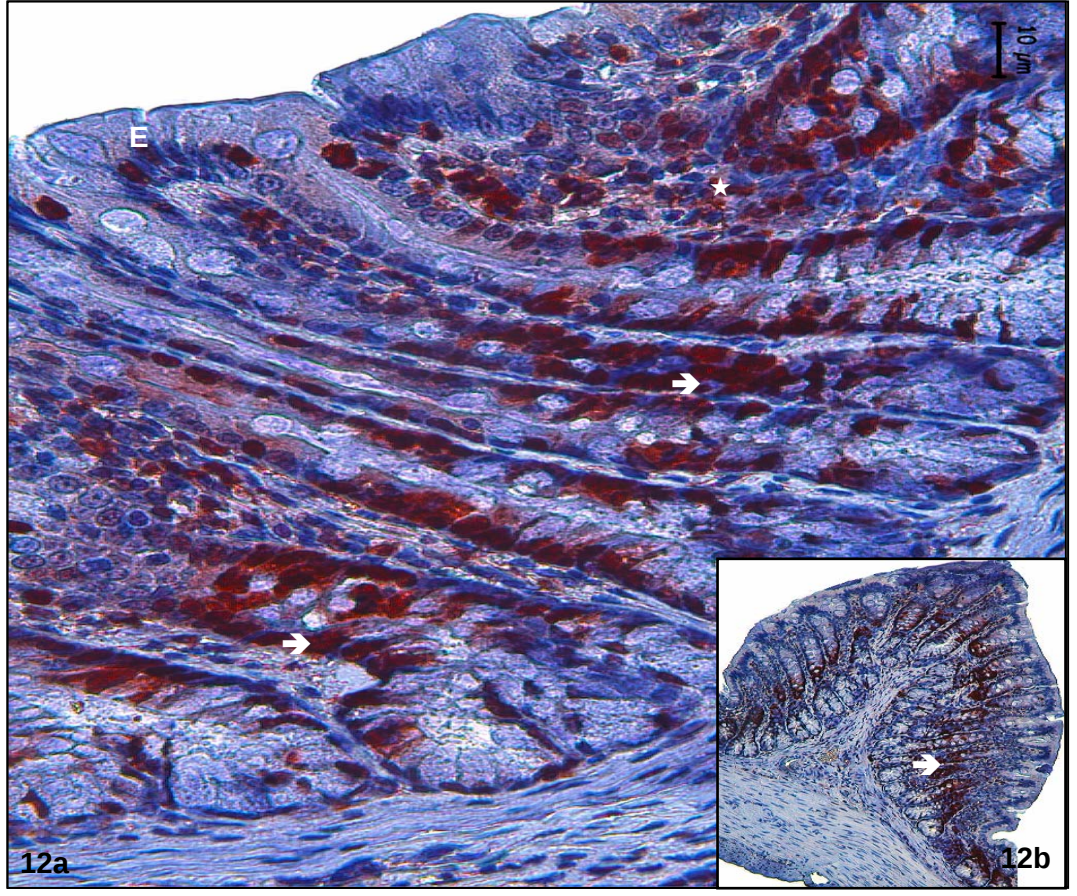
Resim 9: 4 haftalık grupta PCNA tutulumunun, bez hücrelerinde (→) son derece yoğun olarak izlenirken (Resim 9b) (Hematoksilen-immünoperoxidaz X100), bağ dokusu hücrelerinde (★) çekirdek düzeyinde tutulum gözleniyor. Goblet hücrelerinde (G) sitoplazmik tutulum görülüyor (Resim 9a). (Peroxidaz- antiperoxidaz x 400)



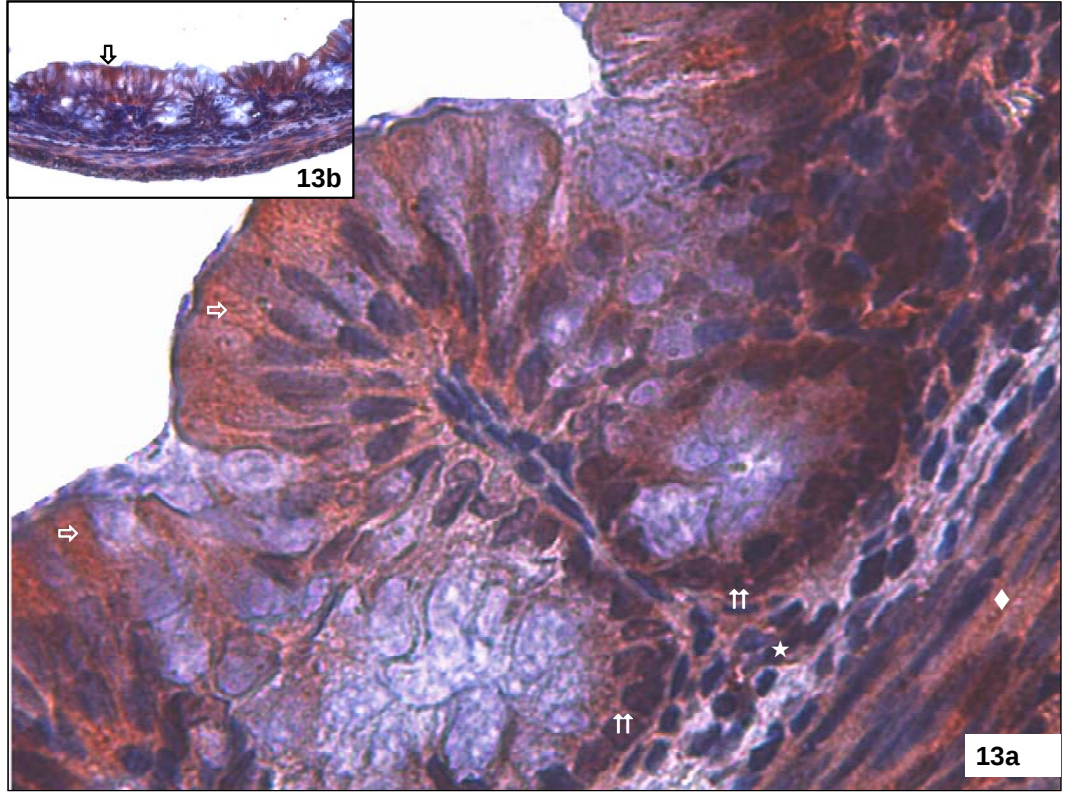
Resim 10: 10 haftalık grupta PCNA immünreaktivitesi genellikle bez bazallerinde (➔) gözleniyor (Resim 10b) (Hematoksilen-immünoperoksidaz X100). Bağ dokusu hücre çekirdeklerinde (★) de tutulum gözleniyor (Resim 10a) (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 400).



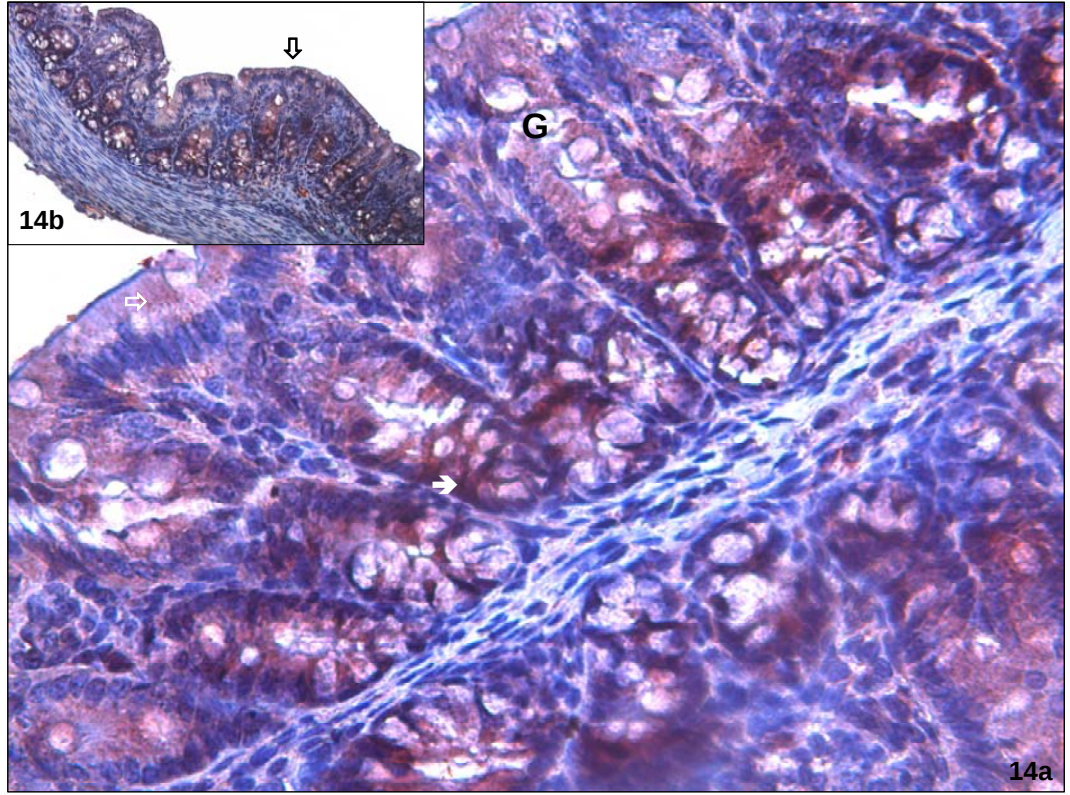
Resim 11: 8 aylık grupta PCNA tutulumunun hem bez bazallerinde (➔) (Resim 11b) (Hematoksilen- immünoperoksidaz X100), hem de epitel hücrelerinin (E) bazallerinde gözleniyor. Bağ dokusu hücre çekirdeklerinde (★) de tutulum gözleniyor (Resim 11a) (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 400).



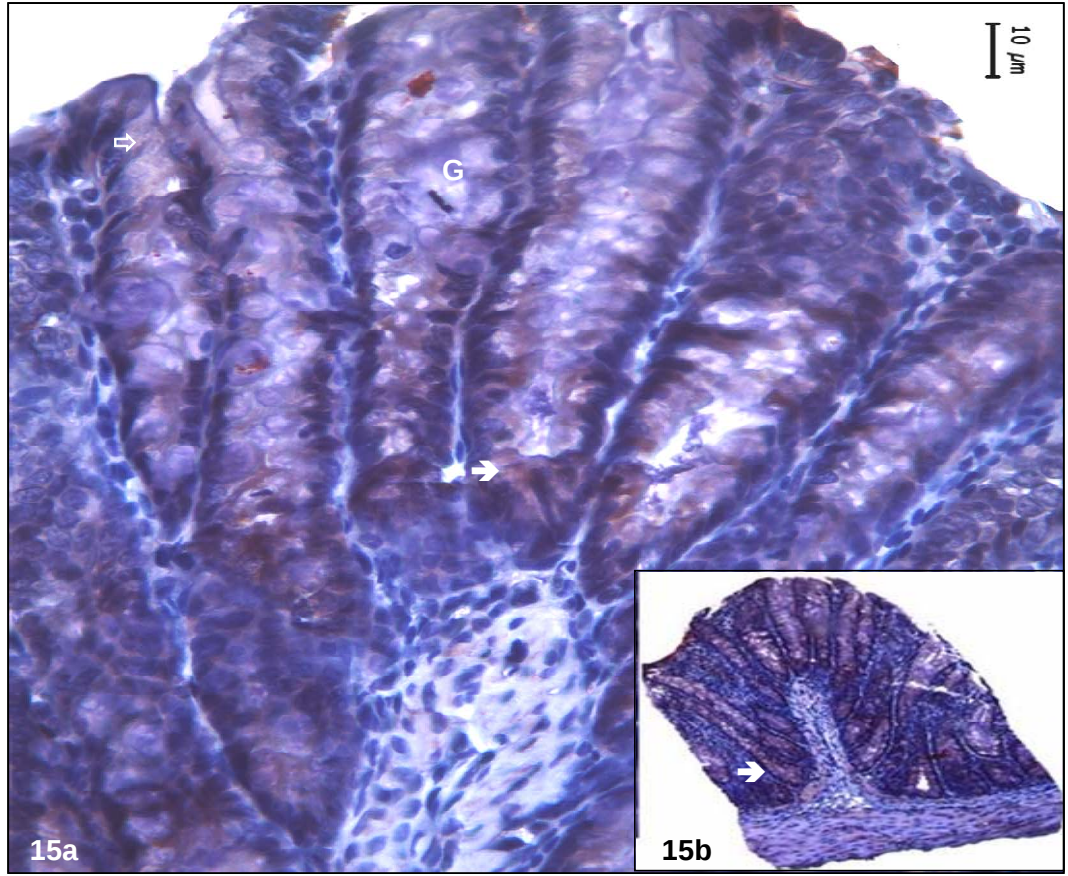
Resim 12: 22 aylık grupta PCNA immünoaktivitesi incelendiğinde, baz bazalarında (➔) (Resim 12b) (Hematoksilen- immünoperoksidaz X100) ve epitel hücrelerinin bazalarında (E) çekirdek düzeyinde olduğu görülüyor. Bağ dokusu hücre çekirdeklerinde (★) de tutulum gözleniyor (Resim 12a) (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 400).



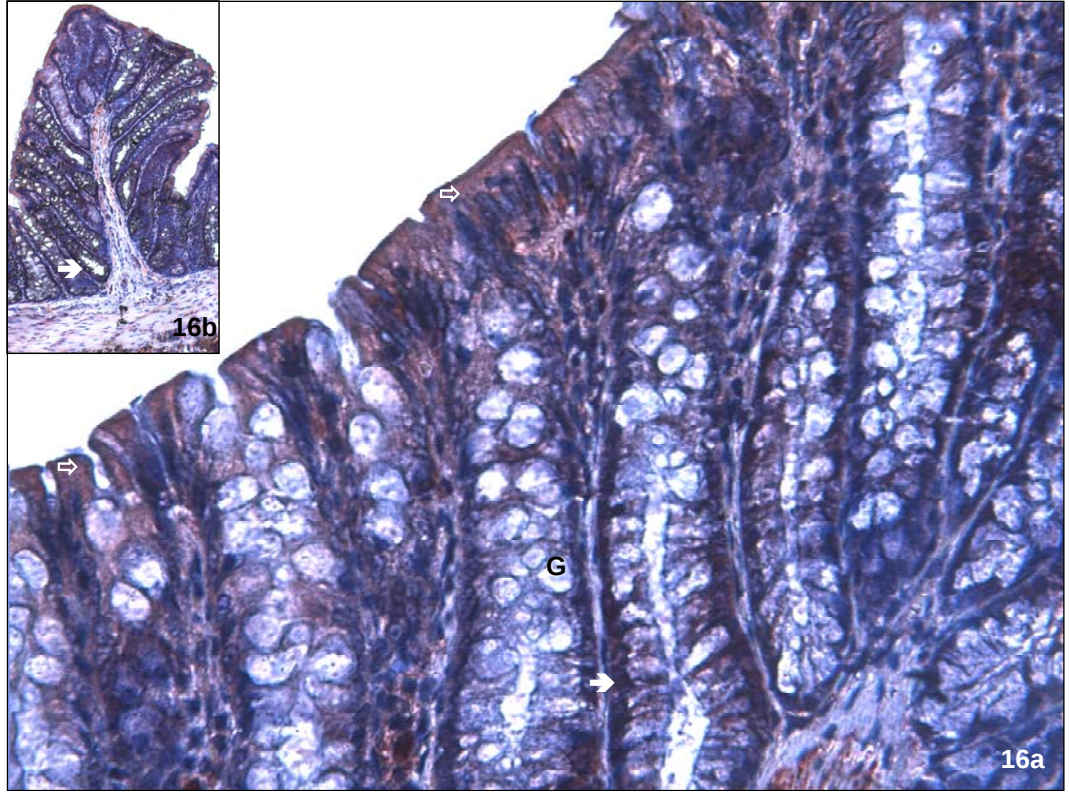
Resim 13: 1 günlük grupta kaspaz 9 tutulumunda, genelde yüzey epitelinde sitoplazmik (⇒) (Resim 13b) (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 100) , bez epitelinde bazal sitoplazmik (⇈) düzeyde olduğu ayırt edilirken, bağ dokusu hücreleri (★) ve kas liflerinde (◆) de yoğun bir tutulum gözleniyor (Resim 13a) (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 400).



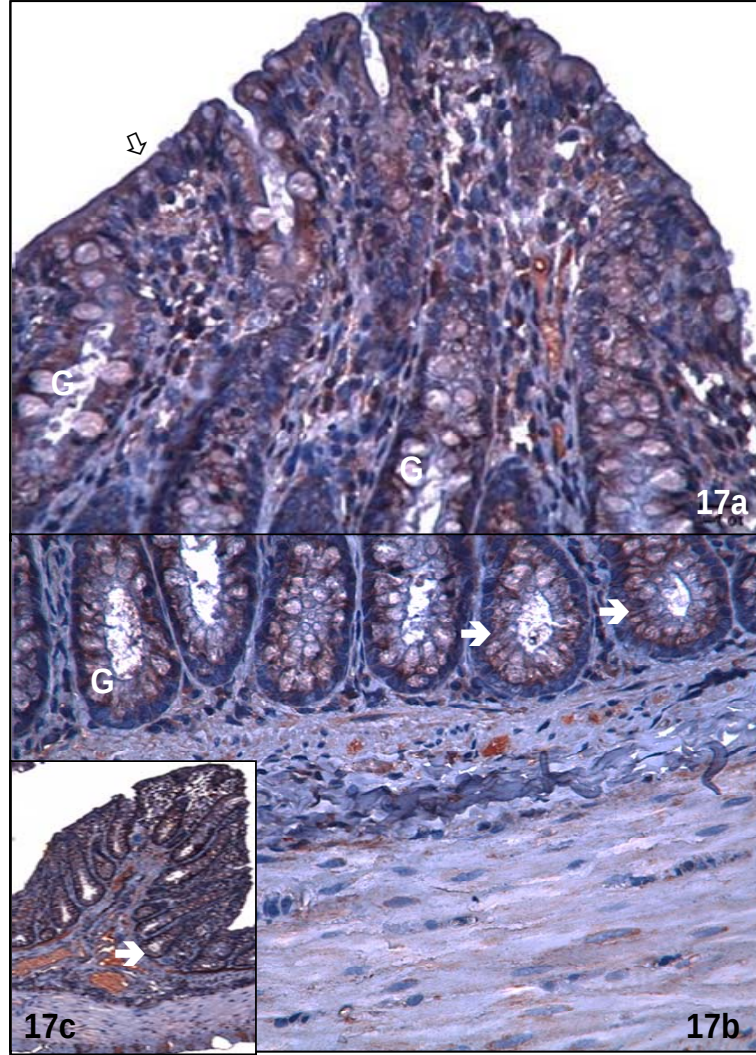
Resim 14: 22 günlük grupta kaspaz 9 tutulumunun çoğunlukla bez hücrelerinde (→) olduğu gözlemlenirken, goblet hücrelerinde (G) ve yüzey epitelinde (⇨) (Resim 14b) (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 100) daha az olduğu görülüyor (Resim 14a) (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 400).



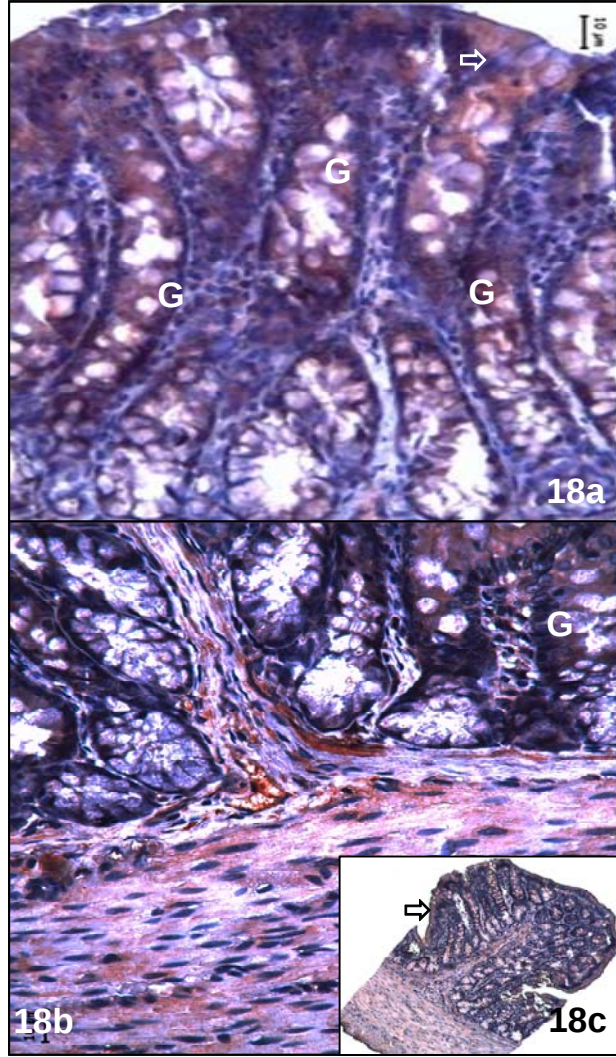
Resim 15: 4 haftalık grupta kaspaz 9 immünoreaktivitesi çoğunlukla bez hücrelerinde (→) gözlemlenirken (Resim 15b) (Hematoksilen-immünoperoksidaz X100), goblet hücrelerinde (G) ve yüzey epitelinde (⇒) daha az olduğu gözlemleniyor (Resim 15a) (Hematoksilen-immünoperoksidaz x 400).



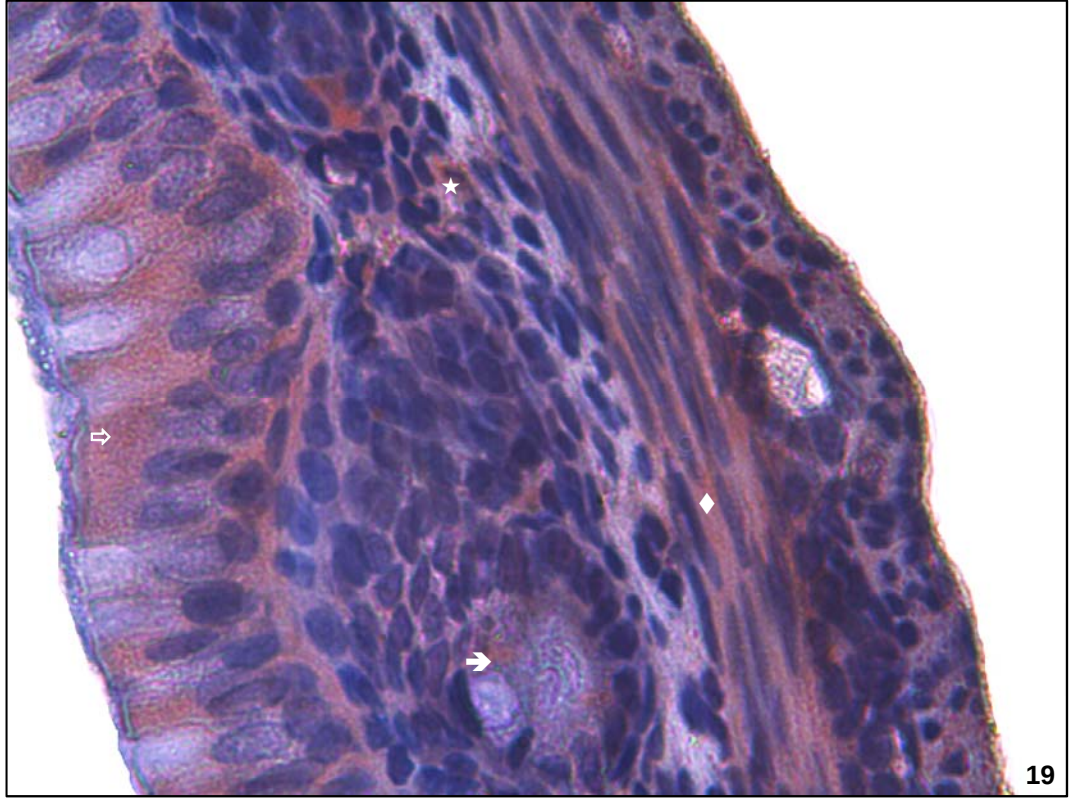
Resim 16: 10 haftalık grupta kaspaz 9 tutulumu incelendiğinde, yüzey epitelinde ($\Rightarrow$) membranöz ve sitoplazmik, bez epitelinde ($\rightarrow$) (Resim 16b) (Hematoksilen- immünoperoksidaz X100) bazal sitoplazmik olduğu gözlemlenirken, goblet hücrelerinde (G) ise hiç görülmediği ayırt ediliyor (Resim 16a) (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 400).



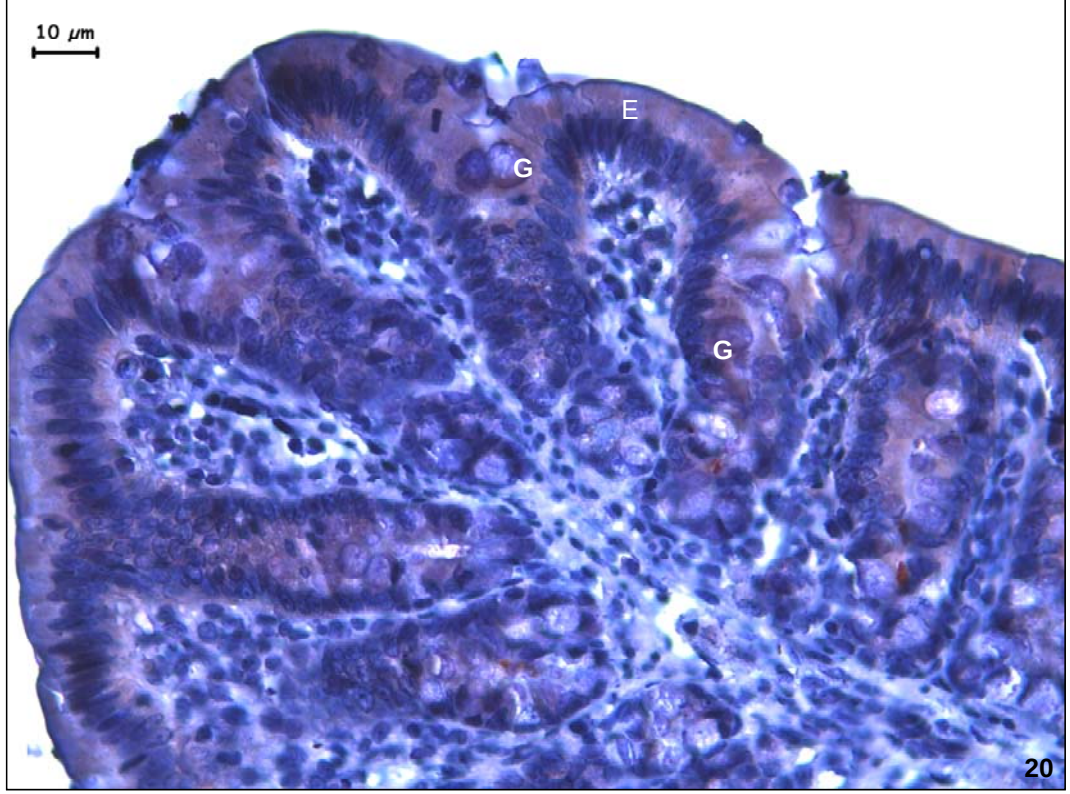
Resim 17: 8 aylık grupta kaspaz 9 tutulumu yüzey epitelinde (⇒) membranöz ve sitoplazmik, bez epitelinde (→) bazal sitoplazmik (Resim 17c) (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 100), goblet hücrelerinde (G) ise hücre zarı ve sitoplazma düzeyinde orta dereceli olduğu ayırt ediliyor (Resim 17a- 17b). (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 400).



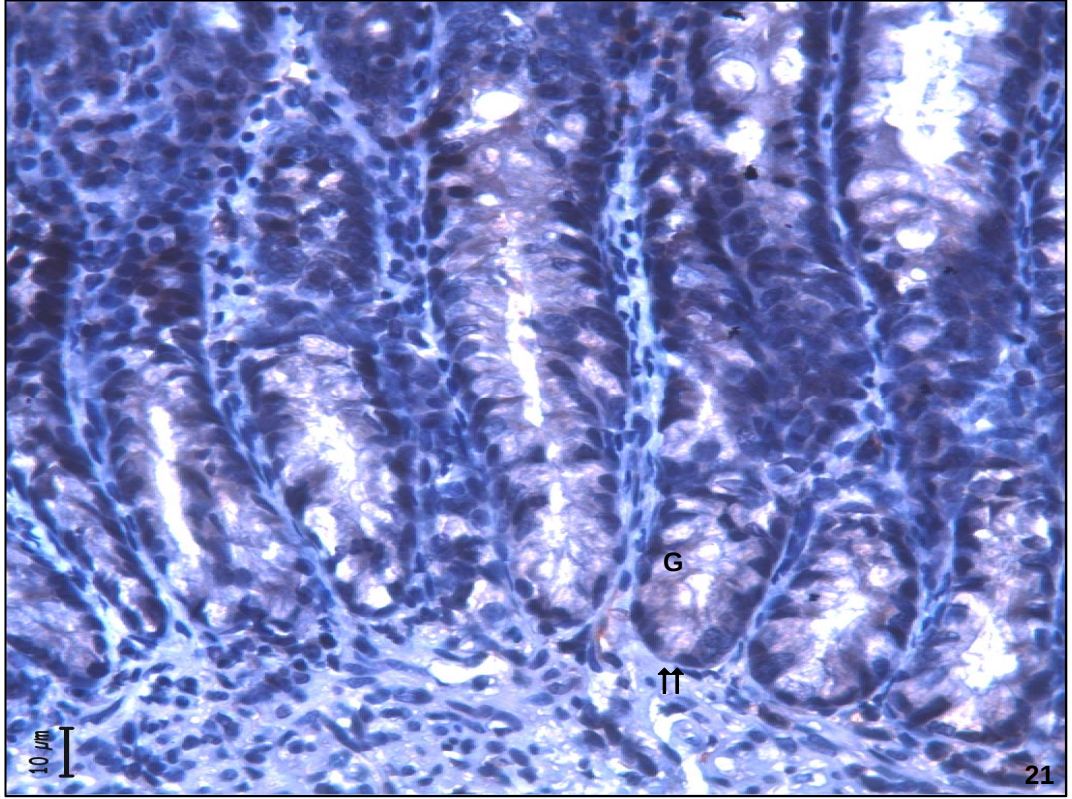
Resim 18: 22 aylık grupta kaspaz 9 tutulumu değerlendirildiğinde, tutulumun yüzey epitelinde (⇒) membranöz ve sitoplazmik (Resim 18c) (Hematoksilen- immünoperoksidaz X100), goblet hücrelerinde (G) hücre zarı ve bazal sitoplazma düzeyinde olduğu ayırt ediliyor (Resim 18a- 18b) (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 400).



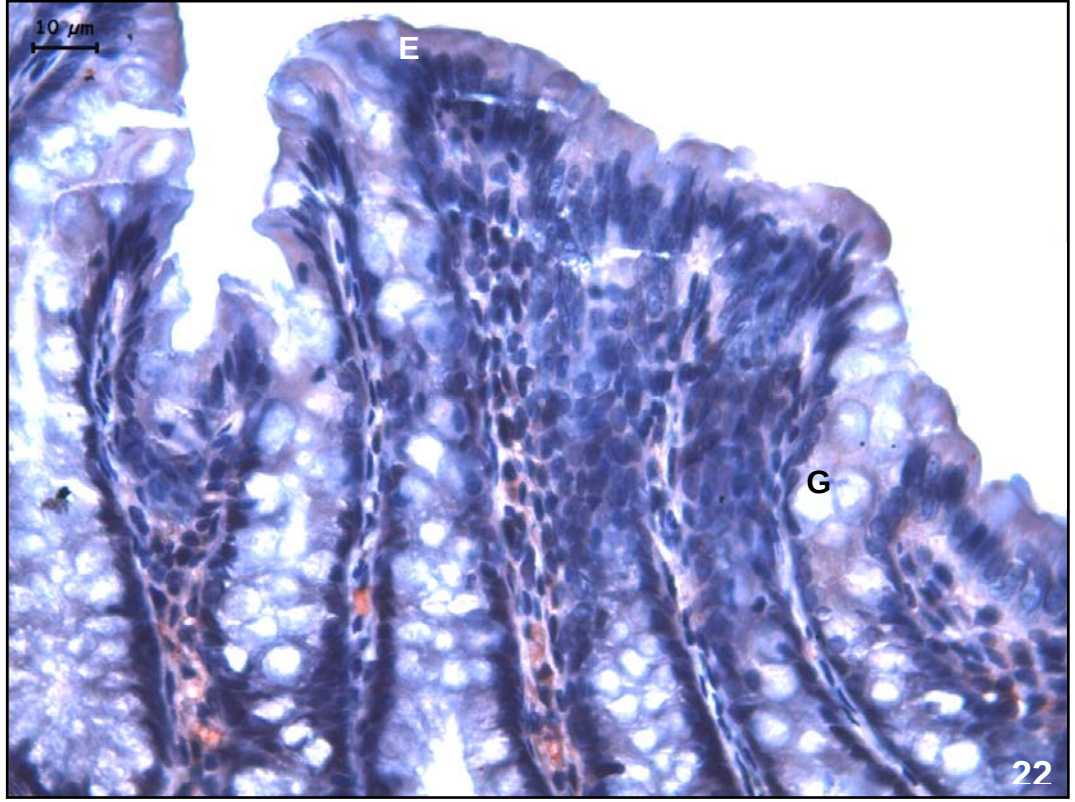
Resim 19: 1 günlük grupta kaspaz 8 immünoaktivitesi incelendiğinde, epitel (⇨), bez epiteli (➔), bağ dokusu hücreleri (★) ve kas hücrelerinde (◆) yoğun bir tutulum gözleniyor. (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 400).



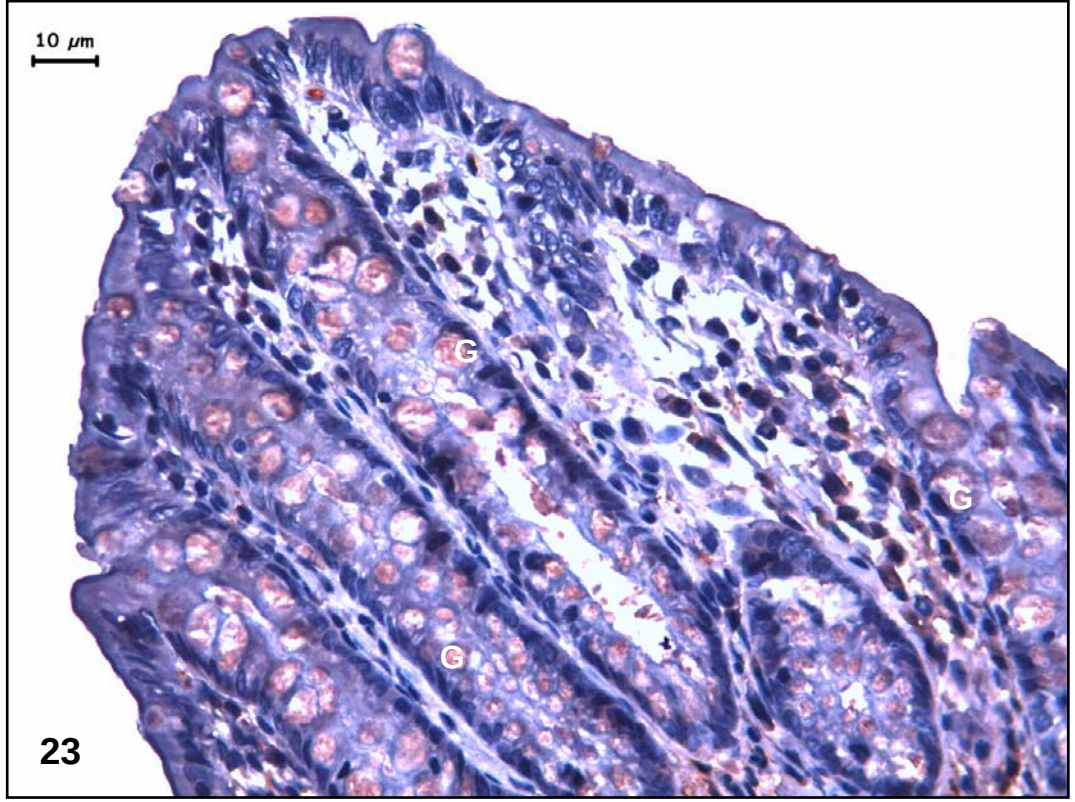
Resim 20: 22 günlük grupta kaspaz 8 tutulumunda, epitel (E) ve goblet hücrelerinde (G) tutulumun arttığı gözleniyor (Hematoksilen-immünoperoksidaz x 400).



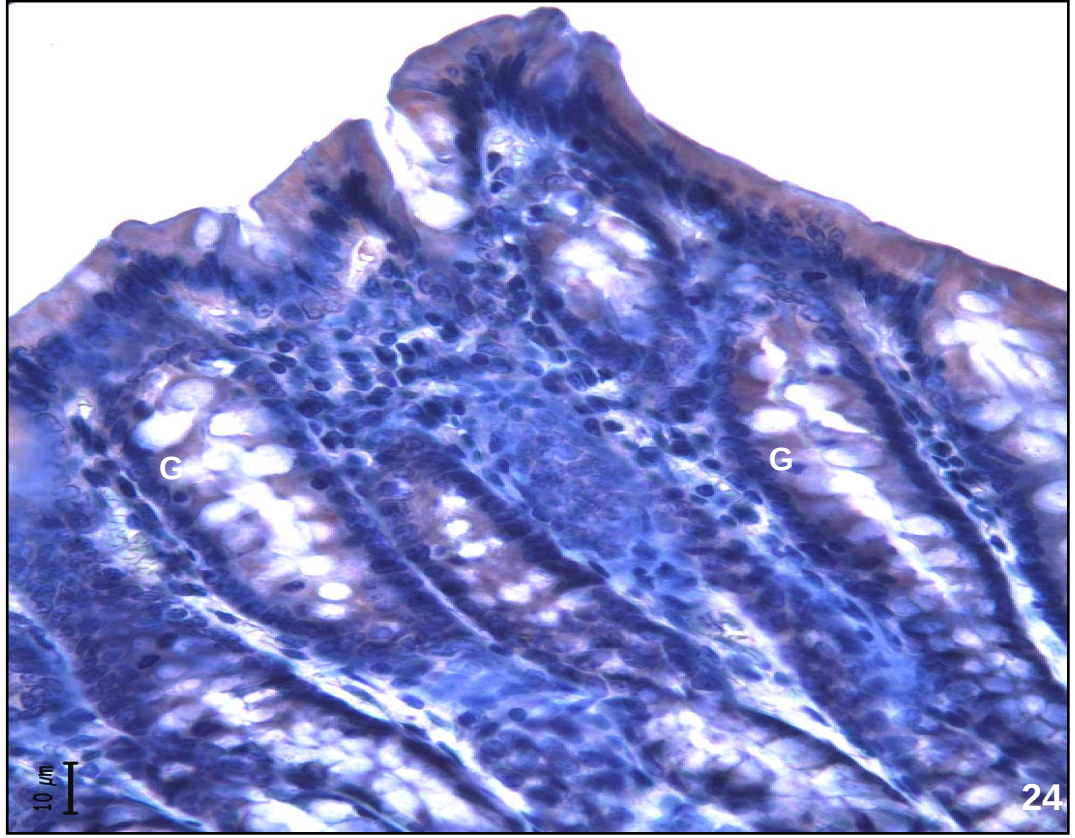
Resim 21: 4 haftalık grupta kaspaz 8 tutulumu, bez hücrelerinde bazal sitoplazmik (↑↑) düzeyde olduğu görülüyor. Diğer gruplara karşın goblet hücrelerinde (G) tutulumun arttığı gözleniyor (Hematoksilen-immünoperoxidaz x 400).



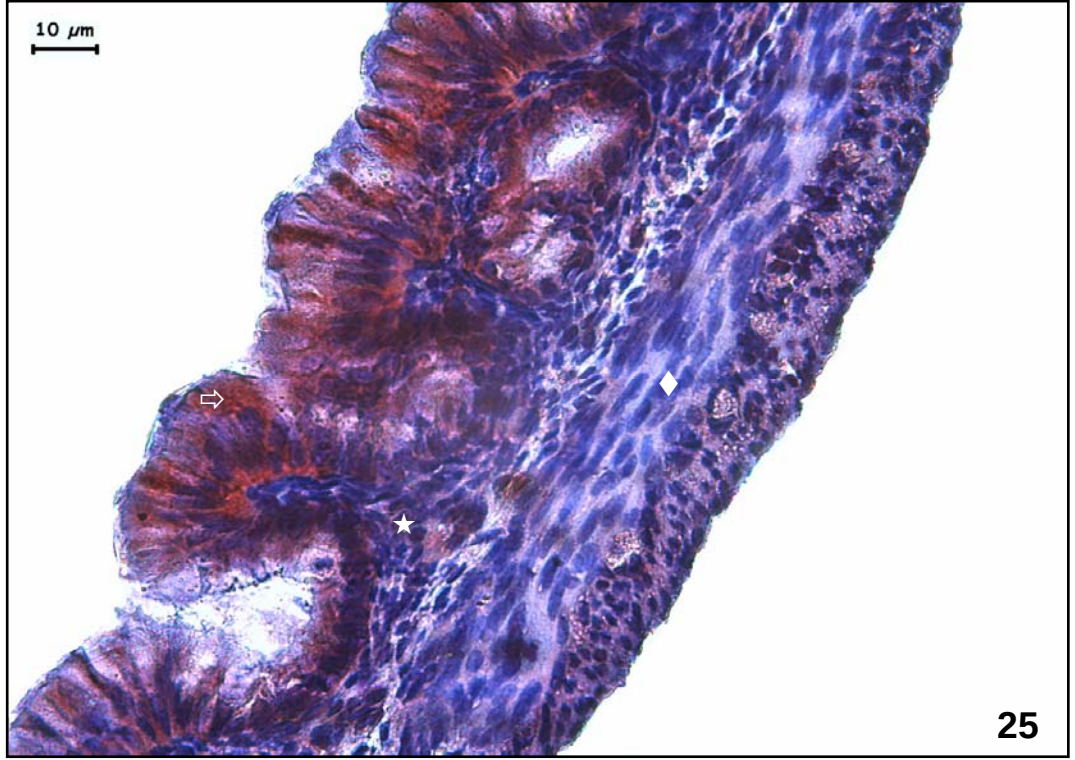
Resim 22: 10 haftalık grupta kaspaz 8 tutulumu incelendiğinde, epitel (E) ve goblet hücrelerinde (G) tutulumun arttığı gözleniyor (Hematoksilen-immünoperoksidaz x 400).



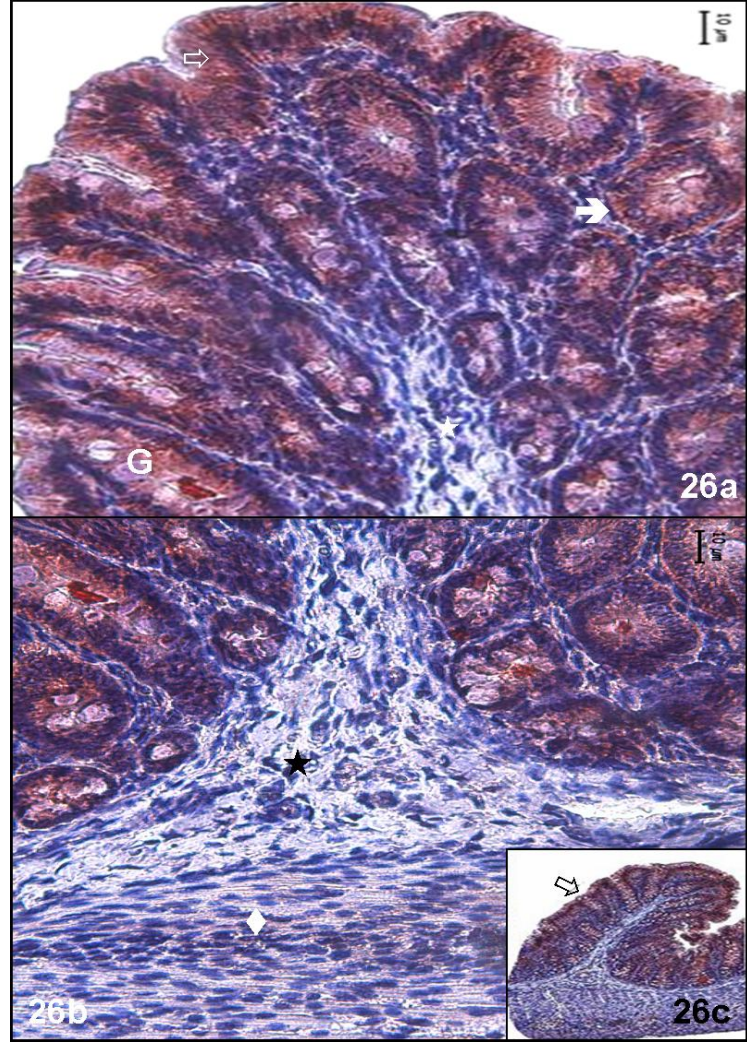
Resim 23: 8 aylık grupta kaspaz 8 immünoaktivitesinin, goblet hücrelerinde (G) yoğun olduğu gözleniyor (Hematoksilen-immünoperoksidaz x 400).



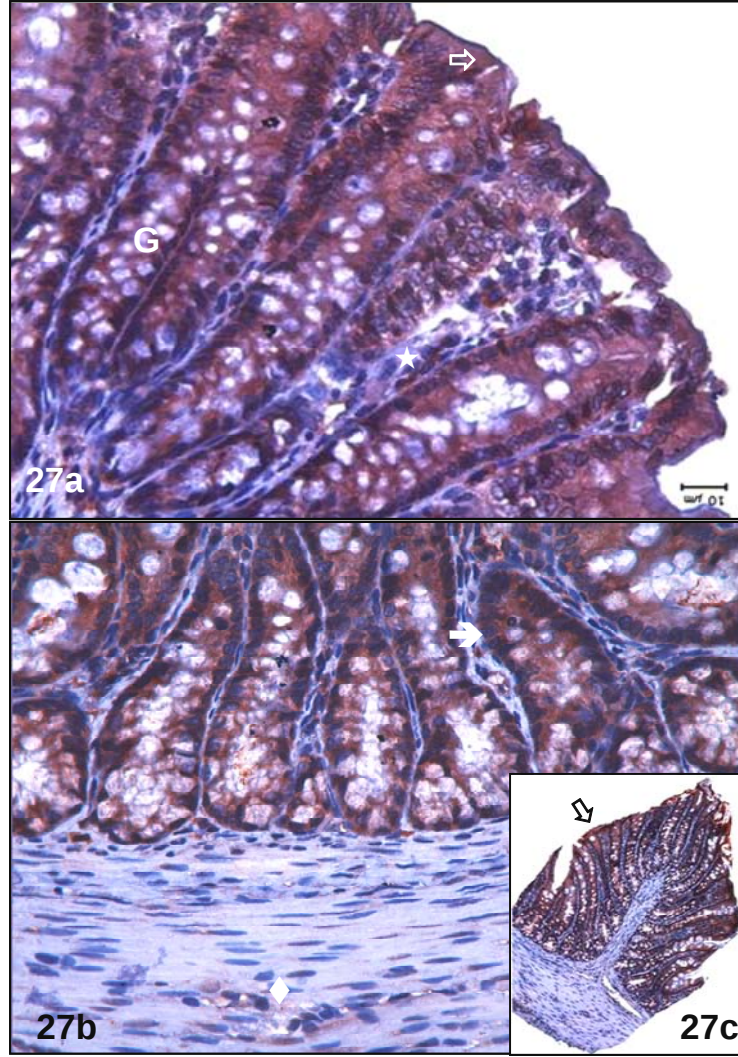
Resim 24: 22 aylık grupta kaspaz 8 tutulumu değerlendirildiğinde, 22. günle eşdeş olduğu görülüyor. Goblet hücrelerindeki (G) tutulumun bazal sitoplazmada yer yer olduğu gözlemleniyor (Hematoksilen-immünoperoksidaz x 400).



Resim 25: 1 günlük grupta kaspaz 3 tutulumunun yoğun olduğu görülürken (⇒), kas (◆) ve bağ dokusu (★) hücrelerinde daha az gözlemleniyor (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 400).



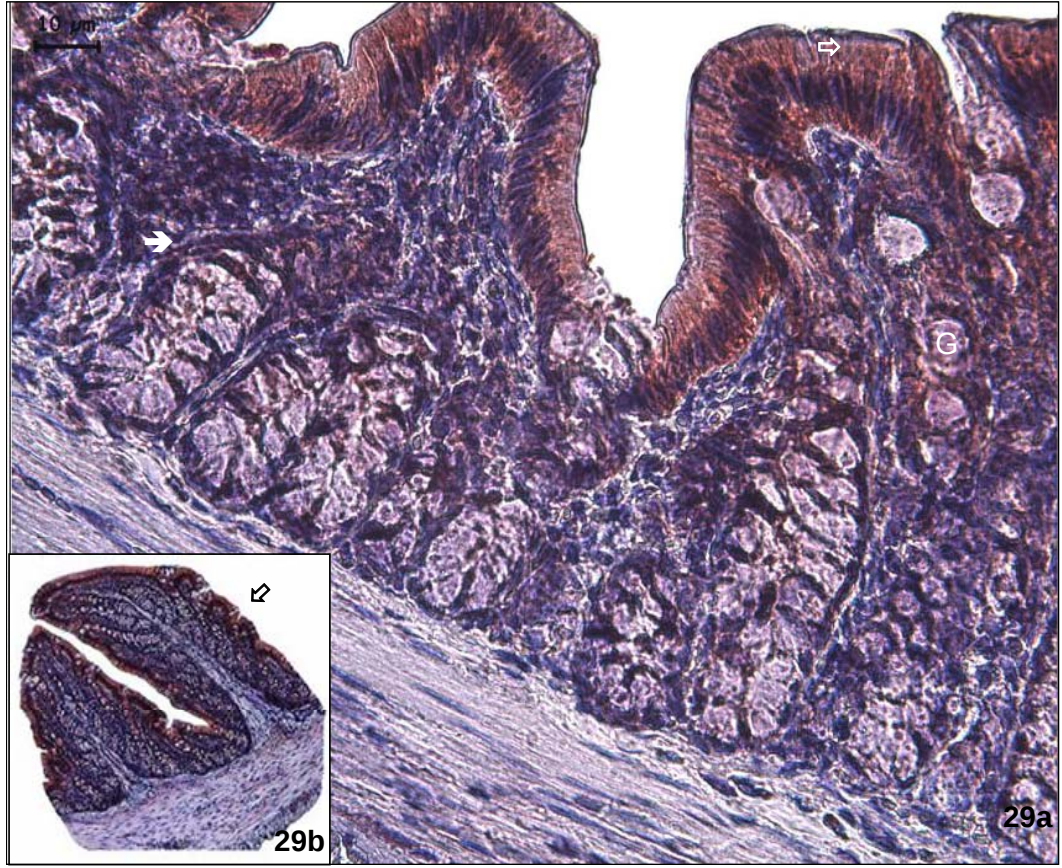
Resim 26: 22 günlük grupta kaspaz 3 immünoaktivitesi yüzey epiteli (⇒) (Resim 26c) (Hematoksilen- immüno-peroksidaz x 100), bez epiteli (⇒) ve goblet hücrelerinde (G) yaygın olarak görülürken (Resim 26a), kas (◆) ve bağ dokusu (★) hücrelerinde oldukça az görülüyor (Resim 26b) (Hematoksilen- immüno-peroksidaz x 400).



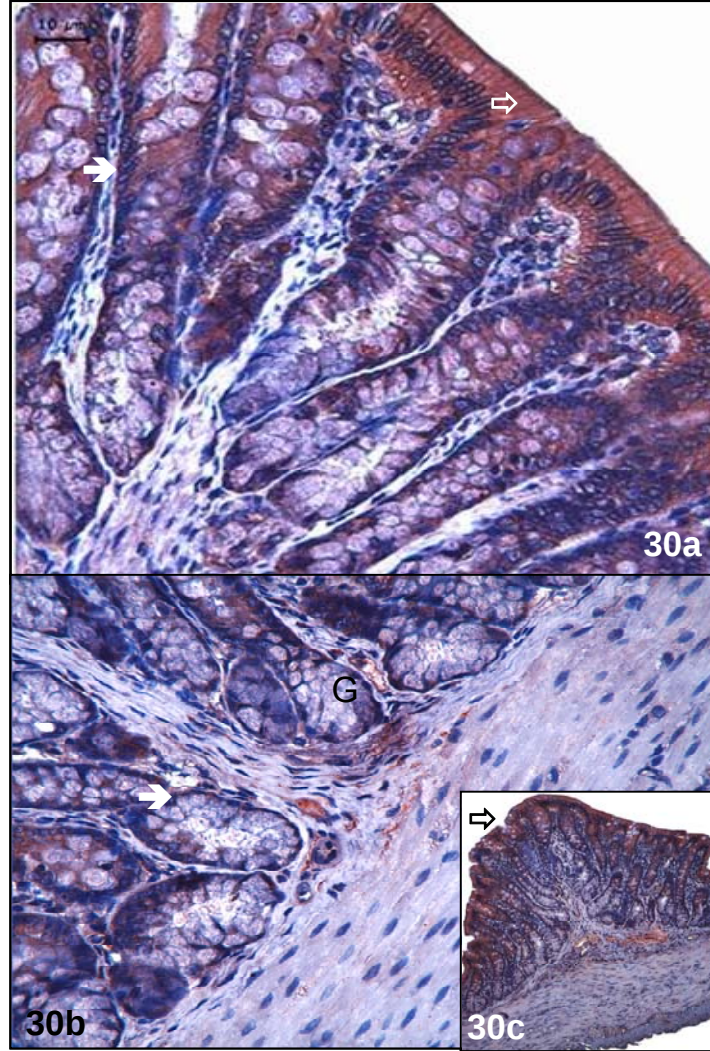
Resim 27: 4 haftalık grupta kaspaz 3 tutulumu incelendiğinde yüzey epiteli (⇒) (Resim 27c) (Hematoksilen-immünoperoksidaz x 100) ve goblet hücrelerinde (G) yaygın görülüyor (Resim 27a) (Hematoksilen-immünoperoksidaz x 400). Kas (◆) ve bağ dokusu (★) hücrelerinde oldukça az gözlemlenirken, bez epitelinde (⇒) yaygın tutulum dikkati çekiyor (Resim 27b) (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 400).



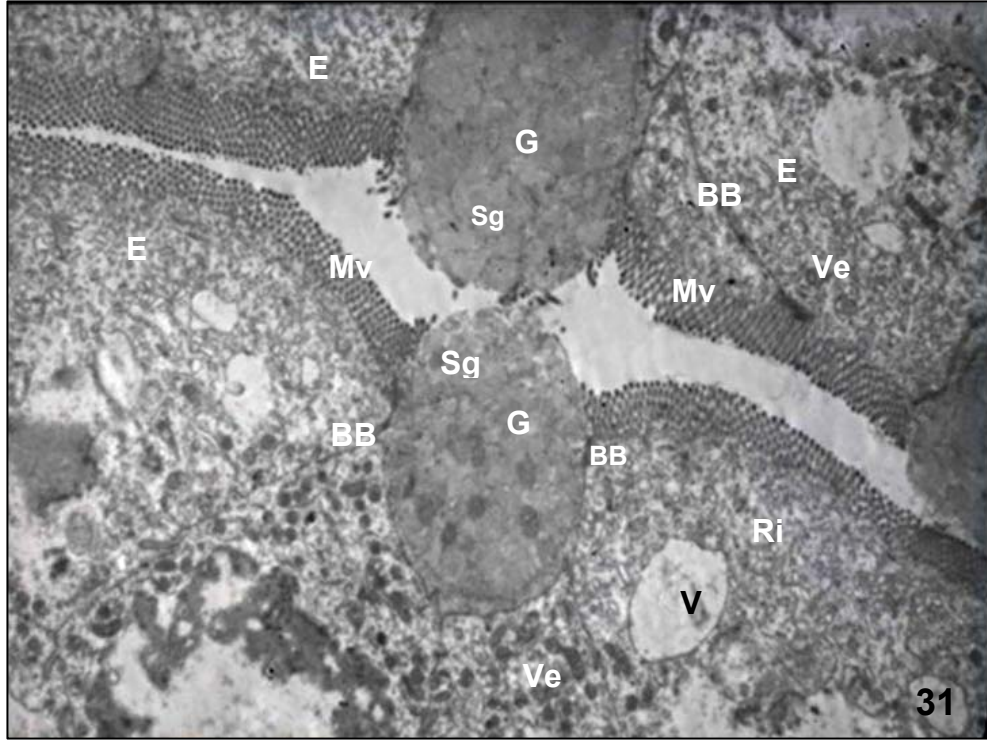
Resim 28: 10 haftalık grupta kaspaz 3 tutulumunun daha az olduğu görülüyor. Tutulum yüzey epitelinde sitoplazmik ($\Rightarrow$) (Resim 28c) (Hematoksilen- immnoperoksidaz x 100) ve bez hücrelerinde ($\rightarrow$) bazal zar ve sitoplazma düzeyinde, goblet hücrelerinde (G) ise kuvvetli zar, orta derecede sitoplazmik düzeyde izleniyor (Resim 28a- 28b) (Hematoksilen- immnoperoksidaz x 400).



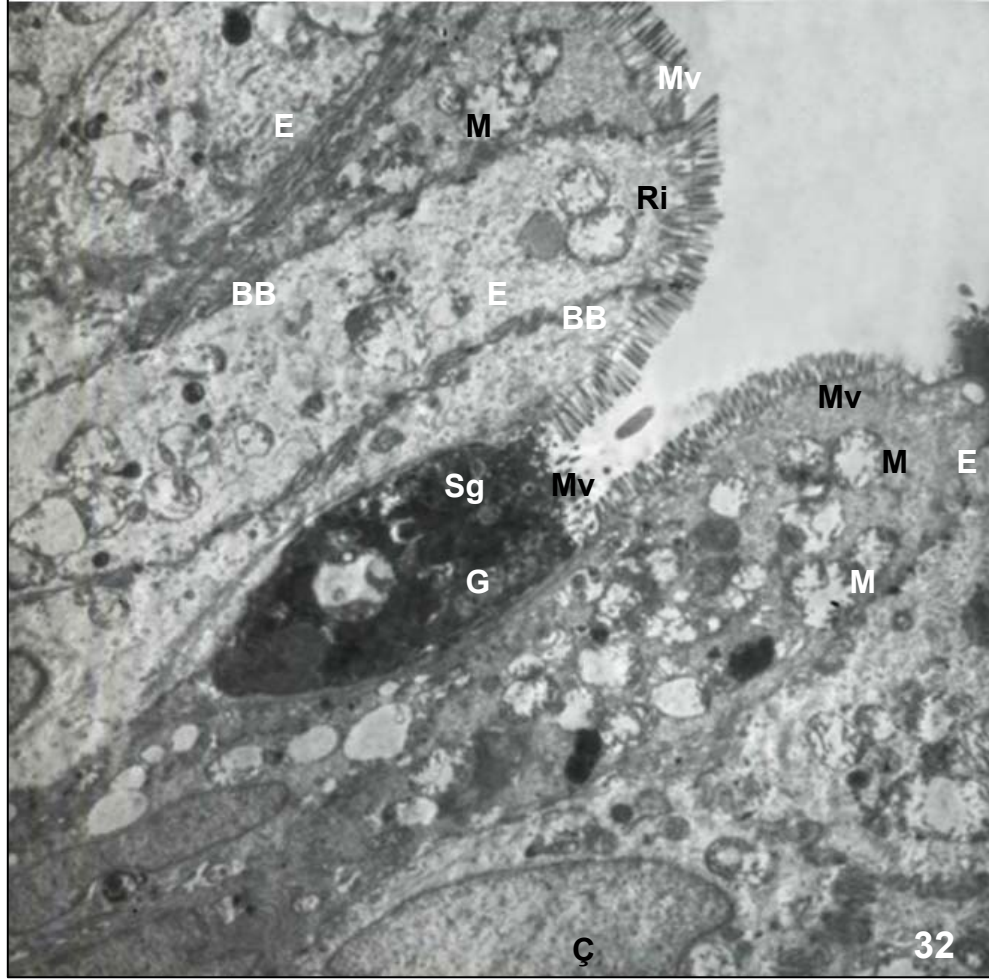
Resim 29: 8 aylık grupta kaspaz 3 tutulumunun daha az olduğu gözlemleniyor. Tutulum yüzey epitelinde sitoplazmik (⇒) (Resim 29b) (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 100) , bezlerde bazal düzeyde izlenirken, goblet hücrelerinde (G) zar ve sitoplazma düzeyinde görülüyor (Resim 29a) (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 400).



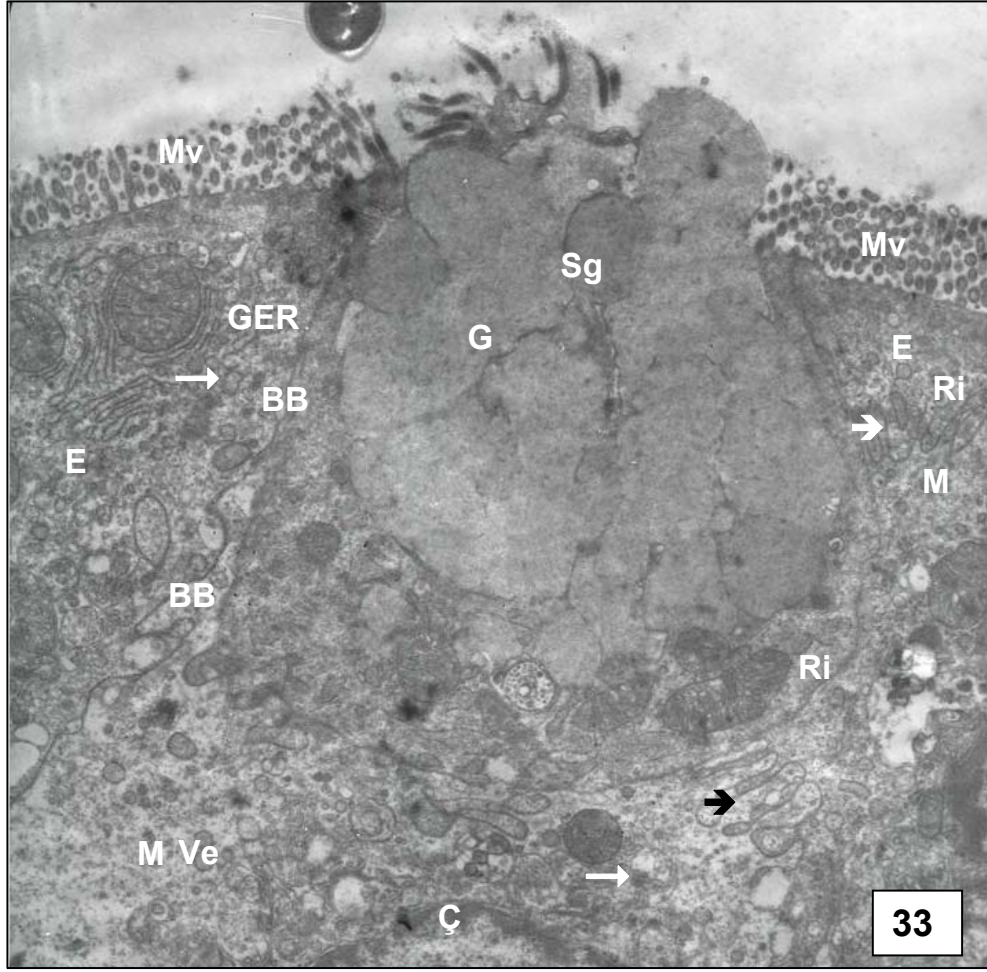
Resim 30: 22 aylık grupta kaspaz 3 immünoaktivitesinin daha az olduğu görülüyor. Tutulum yüzey epitelinde sitoplazmik ($\Rightarrow$) (Resim 30c) (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 100) ve bez hücreleri ($\rightarrow$) ile goblet hücrelerinde (G) bazal zar ve sitoplazma düzeyinde görülüyor (Resim 30b) (Hematoksilen- immünoperoksidaz x 400).



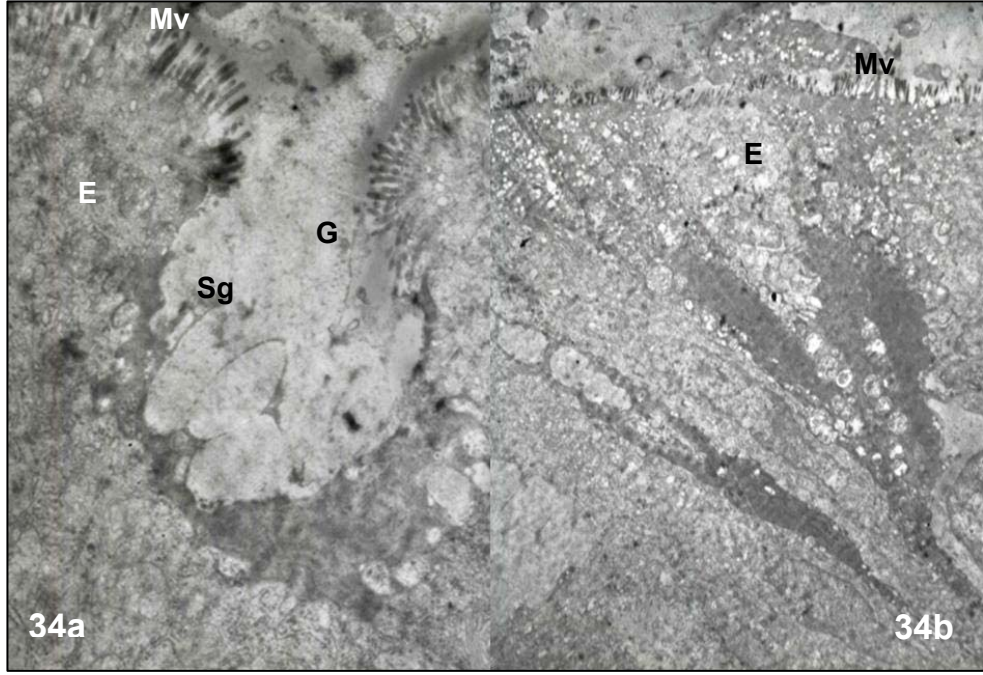
Resim 31: 1 günlük kalın bağırsak dokusunun ince kesitlerinde; yüzey epitel hücrelerinde (E) gelişkin mikrovilluslar (Mv), epitel yan yüz bağlantıları (BB), epitel hücre sitoplazmasında ribozomlar (Ri) ayırt ediliyor. Epitel hücrelerinde vakuoller (V) ve veziküller (Ve) gözlemleniyor. Salgıları (Sg) dolu goblet hücreleri (G) ayırt ediliyor (Uranil asetat-Kurşun sitrat x 3000).



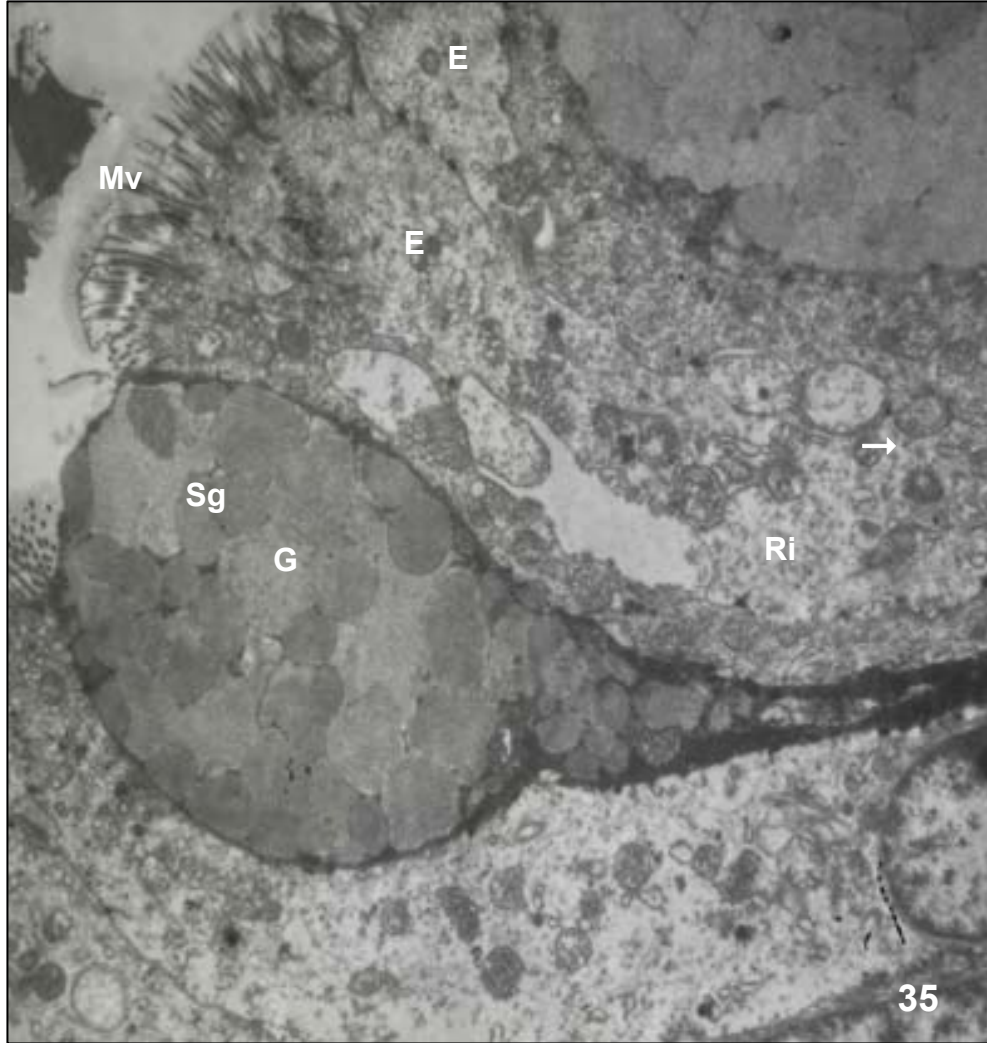
Resim 32: 22 günlük kalın bağırsak dokusunun ince kesitlerinde; gelişkin yapıda yüzey epitel hücreleri (E), normal yapıda izlenen çekirdekleri (Ç), mikrovilluslar (Mv), yan yüz bağlantı birimleri (BB), iri mitokondriyonlar (M), sitoplazmada ribozomlar (Ri), ayırt ediliyor. Goblet hücrelerinin (G) apikal yüzeyinde kısa, küt mikrovilluslar (Mv) dikkati çekiyor. İri salgı granülleri (Sg) apikal sitoplazmayı dolduruyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat x 3000).



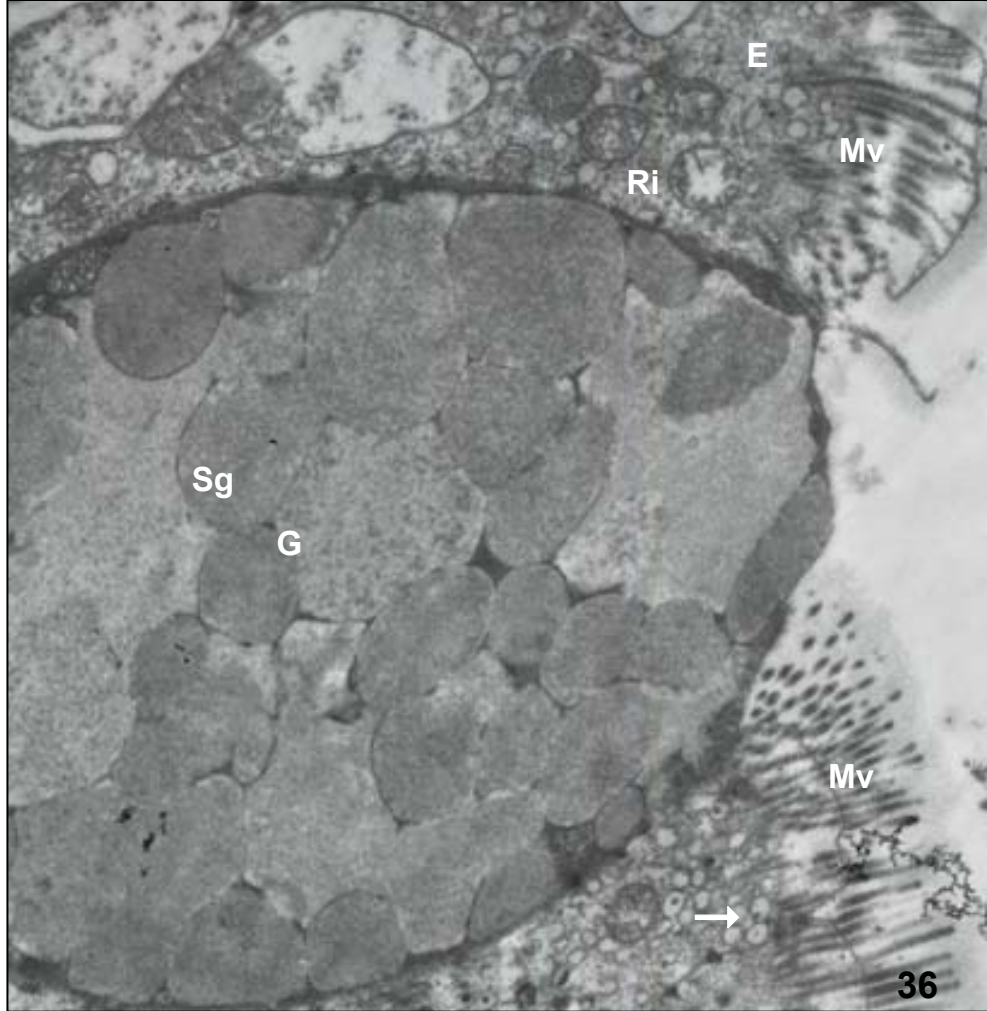
Resim 33: 4 haftalık kalın bağırsak dokusunun ince kesitlerinde; yüzey epitelinde (E) mikrovilluslar (Mv), mitokondriyonlar (M) görülüyor. Sitoplazmada granüllü endoplazmik retikulum (GER), ribozomlar (Ri), multiveziküler (→) ve örtülü veziküllerin (Ve) varlığı ayırt ediliyor. Hücre yan yüzlerinde bağlantı birimleri (BB) ve interdigitasyonlar (➔), çekirdek (Ç), goblet hücreleri (G) ve içlerinde az yoğun salgı granülleri (Sg), görülüyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat x7000).



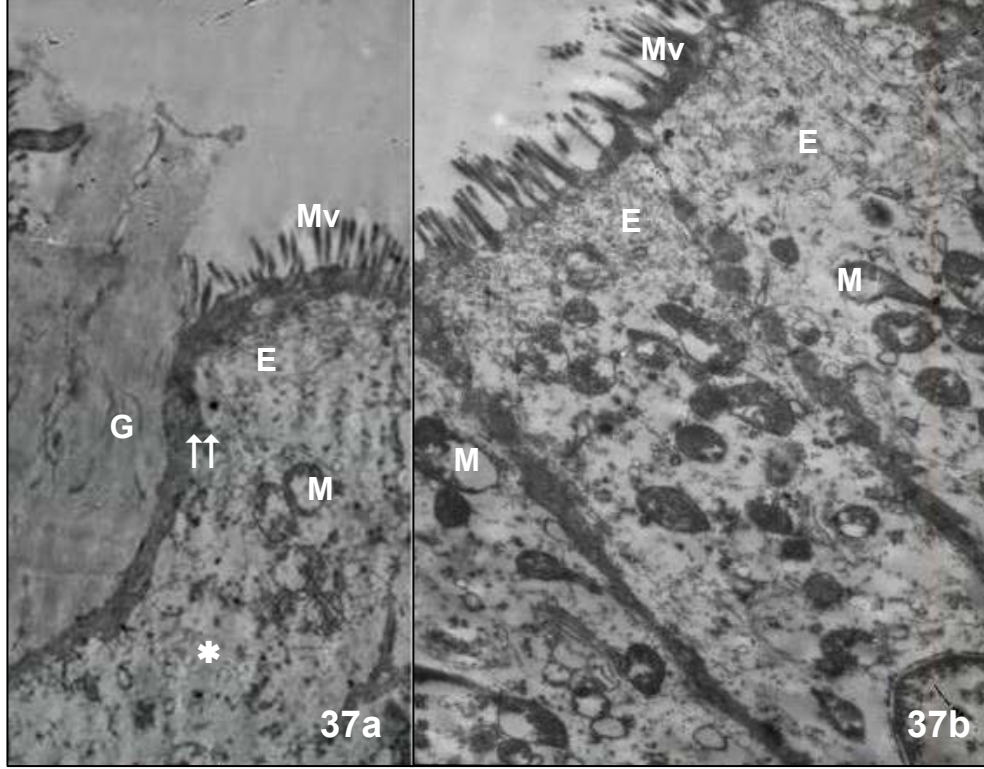
Resim 34: 10 haftalık kalın bağırsak dokusunun ince kesitlerinde; epitel hücreleri (E), mikrovilluslar (Mv) ve salgı (Sg) boşaltan goblet hücreleri (G) görülüyor. (Resim 34a-34b) (Uranil asetat- Kurşun sitrat x7000, 3000).



Resim 35: 8 aylık kalın bağırsak dokusunun ince kesitlerinde; epitel hücrelerinde (E) mikrovilluslar (Mv), salgıyı (Sg) biriktirme evresindeki goblet hücreleri (G), ribozom (Ri) ve multivezüküller cisimler (→) görülüyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat x 3000).



Resim 36: 8 aylık kalın bağırsak dokusunun ince kesitlerinde; epitel hücrelerinde (E) mikrovilluslar (Mv), salgıyı (Sg) biriktirme evresindeki goblet hücreleri (G), ribozom (Ri) ve multivezküller cisimler (→) görülüyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat x 7000).



Resim 37: 22 aylık kalın bağırsak dokusunun ince kesitlerinde; yüzey epitelinde (E) bozulmuş bir yapı, düzensiz mikrovilluslar (Mv), terminal ağ bölgesinde goblet hücrelerini (G) saran yoğun fibröz bir bantın (↑↑) olduğu dikkati çekiyor. Mitokondriyonlarda (M) şekil bozuklukları ve kristolizis görülüyor. Açık renk bir sitoplazma (*) izleniyor (Resim 37a- 37b). (Uranil asetat- Kurşun sitrat x 7000).

V. TARTIŞMA

Bugüne değin yapılan çalışmalarda, mide-bağırsak sisteminin doğum sonrası gelişiminin; diet, yaş, genetik belirleyiciler, bağırsaktan ve vücudun diğer kısımlarından salınan hormonlar ve büyüme faktörleri gibi birçok etkene bağlı olduğu gösterilmiştir. Araştırmacılar mide-bağırsak sisteminin doğum sonrası gelişimini; doğum- erken emzirme dönemi, emzirme evresi, sindirim ve taşıma sisteminde birçok değişikliğin görüldüğü süttten kesilme evresi olarak üçe ayırmışlardır.⁴⁹

Colony ve arkadaşları; sıçanlarda kalın bağırsak hücrelerinin doğum sonrası gelişimini incelemişler ve doğum sırasında henüz gelişmemiş olan bağırsakların, süttten kesildikten sonra (22- 26. gün) yetişkin yapısına benzemeye başladığını belirtmişlerdir.⁵⁰

Bristol ve Williamson; doğumdan 2 gün öncesi ile doğum arasındaki süreçte, kalın bağırsak lümeninin genişlediğini, bağırsak kriptalarının boylarının uzadığını ve mukozal hücrelerin sayısının arttığını saptamışlardır. Başlangıçta sıçan kalın bağırsağında baskın olan hücrelerin prizmatik epitel hücreleri olduğunu belirtirken, doğumdan birkaç gün sonra mukozaya özgü diğer hücrelerin de oluşmaya başladığını bildirmişlerdir.⁵¹

Çalışmamızda Alsian mavisi- PAS ile yapılan değerlendirmelerde, Bristol ve Williamson' ın bulgularından farklı olarak yeni doğan grubunda özellikle baskın olan hücre tipinin goblet hücreleri olduğu belirlendi.

Mide-bağırsak sistemini evrelere ayırarak inceleyen Pacha, olgunlaşma süresince villusları incelediğinde, villusların proksimal ve distal kolonda belirgin olduğunu, doğumdan sonraki ilk 2 haftada ise villusların sadece proksimal kolonda görüldüğünü belirtmiştir. Araştırmacı distal kolonda villus yapısı yerine bağırsak kriptalarının varlığını göstermiştir. Proksimal kolonda da villusların 22. günde kaybolduğunu saptamıştır.⁵²

Bristol ve Williamson da doğumdan sonra kriptaları incelemiş ve kripta uzunluğunun yetişkinlerinkine karşı yarısı kadar olduğunu, kripta hücre topluluğunun ise yine yetişkinlere karşı daha azaldığını açıklamışlardır.⁵¹

Colony ve arkadaşları bir diğer çalışmalarında, kalın bağırsakların gelişim sürecinde kripta sayısında ve uzunluğunda bir artış olduğunu, birincil ve ikincil katlantıların oluştuğunu, 22- 26. günlerde de erişkin yapısı sergilediğini bildirmişlerdir.⁵⁰

Bizim çalışmamızda da Colony ve arkadaşlarının bulgularına koşut olarak 22. günden başlayarak kalın bağırsak katmanlarının erişkin yapısına ulaştığı belirlendi.

Karam, mide-bağırsak sistemindeki organların epitel hücrelerinin gelişimini ayrı ayrı incelemiştir. Karam, kolondaki hücreleri incelediğinde, sıçanlarda her kriptanın saatte 7- 11 hücre ürettiğini saptamıştır. Bunun dışında araştırmacı çıkan ve inen kolonda kök hücrelerin dağılımını incelemiş, hücre döngüsünün çıkan kolonda inen kolona karşın daha uzun sürdüğünü ve çoğalan hücrelerin daha az sayıda olduğunu belirtmiştir. Böylece kolon kanseri riskinin inen kolonda neden daha fazla olduğunu açıklamaya çalışmıştır.⁵³

Kalın bağırsaklarda mukus salgılamada ve sentezlemede görevli olan Goblet hücrelerinin içeriklerindeki farklılıklara ilişkin birçok çalışma yapılmıştır. Bir çalışmada sıçanlarda; proksimal kolonda bulunan çoğu Goblet hücrelerinin, kriptaların üst kısmında sialomusin içerdiği ancak distal kolondaki Goblet hücrelerinin sulfomusin içerdiği, bunun yanı sıra sialomusin ürettiği bulunmuştur. Bazı çalışmalarda da salgı granüllerindeki bu maddelerin yaşla birlikte değişimine önem verilmiştir.^{54,55,56,57}

Kametani ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; 14 günlükten 18 aylığa değin olan yaş gruplarındaki farelerde duodenum,

proksimal ve distal kolondaki Goblet hücrelerinin granüllerindeki madde değişimleri x-ışını mikroanalizi yöntemiyle incelenmiştir. Sonuçlara göre; 1 aylık farelerin duodenumlarında elementler S, K, Cl, P, Ca sıralamasıyla, 3 aylık farelerin proksimal kolonlarında elementler K, S, Cl, Ca, P sıralamasıyla, 3 aylık farelerin distal kolonlarında elementler S, K, Ca, Cl, P sıralamasıyla düşüş göstermişlerdir. S' ün en büyük oranı 1 aylık farelerin duodenumlarında gözlenmiş, daha sonra bu oran yaşla birlikte azalmıştır. K 'un en yüksek oranı 3 aylık farelerin proksimal kolonunda gözlemlenmiş, bu oran da yaşla birlikte azalmıştır. Proksimal ve distal kolonda S ve K oranlarında da önemli farklılıklar bulunmuştur. S; duodenum ve distal kolonda en yüksek oranlara sahipken, K; proksimal kolonda en yüksek bulunmuştur. ⁵⁸

Katz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise; Goblet hücrelerinin bir çinko parmağı transkripsiyon faktörü olan Klf4 varlığında farklandığı bildirilmiştir. Klf4 geninden yoksun farelerde, doğum sonrası 1. günde normal hücre proliferasyonu ve apoptozis gözlenirken, Goblet hücrelerinde %90 oranında azalma olduğu belirtilmiştir. Ayrıca Alisan mavisi ile boyanan kesitlerde asidik musinlerin anormal yapıda olduğu ve elektron mikroskopik sonuçlarda Goblet hücrelerinin anormal yapı gösterdiği saptanmıştır. ⁵⁹

Çalışmamızda kalın bağırsak duvarını oluşturan katmanları elektron mikroskobu ile incelediğimizde; yaşlanmaya koşut, yüzey epitel hücrelerinde yapı- işlev ilişkisinin bozulduğu görüldü. Goblet hücrelerinin granüllerinin yapısının bozulduğu, salgı içeriğinin granüler yapıdan homojenize yapıya geçtiği ve bu içeriğin yüzeye verildiği izlendi. Bunun da salgı içeriğinin yaşla birlikte kimyasal olarak değişmesinden kaynaklandığı düşünüldü.

Zorbas ve arkadaşları da; kolon gelişiminde etkili bir gen olan c-myb ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Bunun için c-myb geni çıkarılmış embriyoları kullanmışlar ve 15. günde embriyolar ölmeden önce kolon dokusunu, alıcı bir farenin böbrek kapsülünün altına transplante etmişlerdir. Sonuçta; c-myb geninden yoksun kolonlarda düzensiz epitel ve anormal kripta oluşumunu gözlemlemişlerdir. Buna ek olarak, c-myb 'nin hedefi olan Bcl2 'nin ekspresyonunun azaldığını, apoptozisin arttığını bildirmişlerdir.⁶⁰

Kolonda yaşlanmayla birlikte mukozal gelişimde, farklanmada, metabolizmada ve bağışıklıkta birçok değişim gözlenir. Patolojik olarak görülen en önemli değişim ise kanserdir. Kolon kanseri ile ilgili yapılan çalışmalarda, kanser riskinin yaşla birlikte arttığı ancak bunun nedeninin henüz anlaşılamadığı bildirilmiştir.^{9,16,26,61,62,63,64}

Kolon kanseri ve yaşlanma arasında bir bağlantı kurmak amacıyla birçok genetik değişim incelenmiştir. Telomerlerde oluşan değişimler bunlardan en önemlileridir. Telomerler; her kromozomun sonunda bulunan, yinelenen DNA sekanslarıdır (TTAGGG). Görevleri; kromozomların son kısımlarını koruyarak bütünlük sağlamaktır.^{39,65}

Nakamura ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptıkları bir çalışmada araştırıcılar, değişik yaş gruplarındaki insanlarda, normal kolorektal mukozada ve kanserli dokuda telomer uzunlukları incelemişler ve bunların arasında bir ilişki olup olmadığını araştırmışlardır. Sonuçta her iki durumda da yaşlanmayla birlikte telomer uzunluğunun azaldığını belirlemişlerdir. Telomerler kanserli dokuda normal dokuya karşın 2 kilobaz çifti daha kısa bulunmuştur.⁶⁶

O'Sullivan ve arkadaşları da telomer uzunluğu ve yaşlanmayla ilgili çalışmalarını Q-FISH (nicel florasan in situ hibridizasyon yöntemi) ve Q-PCR (nicel polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemleriyle yapmışlardır. Q-FISH ile epitelyal ve stromal hücrelerde telomer uzunluğu ölçölmöş, Q-PCR ile az miktarlarda DNA kullanılarak insanlarda telomer uzunluğuna bakılmıştır. Farklı yaş gruplarında yapılan çalışmada, kolon hücrelerinde yaşla birlikte telomer uzunluğunun kısaldığı ancak 60 yaşın öşü bireylerde bunun aksine döndöğü gözlenmiştir.⁶⁷

Issa ve arkadaşları yaşlanma ve kolorektal kanserin östrojen reseptörü (ER) ile ilgisini araştırmışlardır. Normal dokularda saptanan ER' nün, tümör baskılayıcı gen olarak rol oynayabileceği düşünülmüştür. Genlerin promotor bölgelerinde bulunan CpG (sitozin fosfodiesteraz bağı guanin) adalarının normalde metilasyona uğramadığı, ancak yaşlanmada ER' de buna ek olarak kolonik mukoza ve kolon tümörlerinde metilasyonun gerçekleştiği bildirilmiştir. Burada ER' nün metilasyonunun, genin inaktive olması ile ilgili olduğu belirtilmiştir.⁶⁸

Jaszewski ve arkadaşlarının yaşlanma ve kanserle ilgili çalışmasında; karsinojen madde verilerek kolon kanseri oluşturulan sıçanlarda ornitin dekarboksilaz (ODC) ve tirozin kinaz' ın gençlere karşı yaşlılarda büyük oranda uyarımını gözlemlemişler ve yaşlılarda bu karsinogene olan duyarlılığı belirtmişlerdir. Eşdeğ durumu kolonda kuvvetli bir mitojen olan TGF-alfa 'da da saptamışlardır. TGF-alfa ve reseptörünün (EGFR) ekspresyonunun kolorektal kanseri olgularında arttığı izlenmiştir. Bunun sonucunda araştırmacılar yaşlanmayla birlikte kolon mukozasının TGF-alfa' ya yanıtının arttığını bildirmişlerdir. AOM verilmiş sıçanlara ait kolon epitel hücrelerinde de yaşlanmayla birlikte EGF ve TGF-alfa artışına bağlı olarak EGFR tirozin kinaz uyarımının arttığını saptamışlardır. Proliferasyonda oluşan bu değişimler sonucunda yaşlanmanın kolonda kötü huylu tümörlere yol açabileceği düşünülmüştür.^{61, 69}

Johnson ve Majumdar 'ın yaptıkları ortak çalışmaya göre, tüm yaşam süresince mukozal hücre proliferasyonu değişim göstermektedir.²⁵ Hücre döngüsünde oluşan olayların yaşa koşut etkisine bakmak için Xiao ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Cdk2 (siklin bağımlı kinaz 2) aktivasyonu izlenmiştir. Bunun için 4, 13 ve 24 aylık-yaşlı Fischer- 344 sıçanları kullanılmıştır. Sonuçta Cdk2 'nin kinaz aktivasyonu ve protein düzeyleri sürekli olarak artış göstermiştir. Ancak Cdk2 'nin baskılayıcılarından biri olan p21 'in düzeyi genç sıçanlarda yaşlılara karşın daha düşük bulunmuştur. Bu p21 'i düzenleyen ve tümör baskılayıcı bir protein olan p53 'ün azalması ile desteklenmiştir. Buna ek olarak hücrelerin S fazında gelişimini düzenleyen bir protein olan fosforile Rb (retinoblastoma) proteini, 4 aylık deneklerle karşılaştırıldığında 24 aylıklarda arttığı, 13 aylık sıçanlarda artmadığı gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda yaşlı sıçanların kolon mukozasında G1 fazından S fazına geçişin ve buna ek olarak hücrenin S fazındaki gelişiminin hızlandığı bildirilmiştir.²⁶

Holt ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada Fischer- 344 sıçanlarının kolonunda kripta hücre sayısı ve kripta hücre proliferasyon oranları vincristine etkili metafaz durdurma yöntemiyle genç (3- 4 aylık) ve yaşlılarda (24- 28 aylık) ayrı ayrı ölçülmüştür. Bunun sonucunda yaşlı sıçanların proksimal kolonunda gençlere karşın %10 daha fazla kripta hücresi ve daha yüksek proliferatif oran saptanmıştır. Distal kolonda da

kripta hücre proliferasyon oranı yaşlılarda gençlere karşın %56 daha fazla gözlenmiştir. 3 günlük yapılan diyet sonucunda gençlerde kripta hücre proliferasyonunun % 40- 60 oranında, yaşlılarda ise sadece %20 oranında azaldığı belirtilmiştir. Yeniden besleme koşulunda ise her iki grupta da proliferasyonun arttığı görülmüştür. Kriptalarda proliferasyona uğrayan bölümün yaşlılarda gençlere karşın daha geniş olduğu saptanmıştır. Sonuçta; açlığın gençlere karşın yaşlı sıçanlarda kolondaki kripta hücre üretimini daha az azalttığı bildirilmiştir.²⁷

Goodlad ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada bağırsak epitel yapısı, kripta hücre üretimi ve emilim fonksiyonu, yaşları 3 haftadan 121 haftaya değişen 9 grup Sprague-Dawley sıçanları çalışılmıştır. Villus boyutu ve kripta uzunluğuyla ilgili olan birim uzunluk başına düşen emilimin, ilk haftalarda arttığı ve bunun yaşam boyu sürdüğü saptanmıştır. Kripta- villus oranının 6 ve 8. haftalar arasında hızla arttığı, sonra ise düzgün seyirli sürdüğü belirtilmiştir. Kripta hücre üretiminin ise tüm bölgelerde yüksek bir orana çıktığı, daha sonra genç yetişkinlerde düştüğü izlenmiştir. Araştırmacılar yaşlı sıçanlarda, proliferasyonda küçük bir artış görseler de bunun önemli bir yükseliş olduğunu kanıtlayamamışlardır.²⁸

Morita ve arkadaşları ise fare kolon epitelindeki proliferatif erkin gelişim ve yaşla birlikte değiştiğini 1994 yılında yaptıkları bir çalışmada PCNA (proliferasyonu gösteren hücre çekirdek antijeni) ile

göstermişler, ve bulguları [^3H]- timidin radyootografi yöntemi ile de karşılaştırmışlardır. İmmünohistokimya için denekler embriyonik 19. gün, doğum sonrası 1, 5, 21. gün, 2 aylık ve 11 aylık olarak 6 gruba ayrılmıştır. Sonuçta embriyonik 19. günde ve doğum sonrası 1. günde farelerde proliferasyonun yüksek olduğu, doğum sonrası 5. günden 11 aylık olana kadarki sürede ise neredeyse değişmez olduğu saptanmıştır. ²⁹

Colony ve Neutra 1983 yılında yayınladıkları bir çalışmada farelerin fetal döneminde yaşlılara karşı daha yüksek bir proliferasyon oranı olduğunu belirtmişlerdir. ³⁰

Proliferasyon ile ilgili yaptığımız çalışma sonucunda; yeni doğan grubunda yüzey epitelinde ve bezlerin bazalinde izlenen proliferasyonun, yaşın ilerlemesine koşut süreklilik gösterdiği izlenirken, özellikle yaşlı gruplarda bağırsak bezlerinin bazalinde yoğunlaştığı belirlenmiştir.

Yaşlanan sıçanların kolonunda anormal proliferasyonu inceleyen Higgins ve arkadaşları, çalışmalarında Fischer- 344 sıçanlarını genç (4- 7 aylık) ve yaşlı (22- 26 aylık) olarak ikiye ayırmışlardır. Araştırmacılar, yaşlanan hücrelerde ekspresyonu artan ve iki hücre iskeleti antijeni olan p52 ile p35' in kriptadaki yerleşimlerini yaşlı ve gençlerde farklı bulmuşlardır. Örneğin p52 proteini gençlerde kripta epitel yüzeyinde,

yaşlılarda kriptaların derininde saptanmıştır. p35' in de her iki grupta yerleşimini farklı bulan araştırmacılar, bu iki proteinin yaşlanmanın bir işaretleyicisi olabileceğini savunmuşlardır. Ayrıca bu değişimlerin ülseratif kolitis ve kolon kanserli hastalarda da görüldüğünü belirtmişlerdir.³¹

Normal yetişkin mide-bağırsak mukozasında hücre çoğalması ve apoptozis denge halindedir. Majumdar ve arkadaşları kolonda yaşla birlikte artan kanser riskinin, hücre çoğalmasıyla olduğu kadar apoptozisle de ilişkili olabileceğini savunmuştur. Bu nedenle hücre çoğalması ve apoptozisin yaşla birlikte değişiminin anlaşılması kolon kanserine neden olan mekanizmaların anlaşılmasında oldukça önemlidir. Bu konuyla ilgili birçok çalışma yapılmıştır.^{16, 22, 24, 31, 61, 62, 63, 69, 70}

Bazı araştırmacılar apoptozis ve hücre çoğalmasının kanser ile olan ilişkisini yaş faktöründen bağımsız olarak incelemiştir ve kolorektal epitelyal homeostazinin sadece hücre proliferasyon oranına değil, ayrıca apoptozis denilen programlanmış hücre ölümüne de bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Bunun sonucunda kolorektal kanseri de içeren birçok kanser türünde apoptozisin engellendiği ortaya konulmuştur.⁷⁰

Xiao ve arkadaşlarının 2001 yılında yaptıkları bir çalışmada; farklı yaş gruplarındaki Fischer- 344 sıçanlarında (4- 5, 12- 14 ve 22- 24 aylık) kolon mukozasında proliferasyon ve apoptozis incelenmiştir.

Çalışmanın sonucunda PCNA ile belirlenen proliferatif erkin 4 ve 6 aylık sıçanlara karşın 12- 14 ve 22- 24 aylıklarda %50- 80 daha fazla olduğu, buna karşıt olarak TUNEL yöntemi ile belirlenen apoptotik hücrelerin sayısının 4 ve 6 aylık sıçanlara karşın 12- 14 ve 22- 24 aylıklarda %50-60 daha az olduğu gösterilmiştir. Bu değişimler pro-apoptotik bir protein olan Bax' ın %75 oranında azalmasıyla ve anti-apoptotik bir protein olan Bcl-XL' in %200 oranında uyarımıyla desteklenmiştir. ¹⁶

Xiao ve arkadaşları buna ek olarak apoptozisin başlamasında ve korunmasında önemli proteinler olan Kaspaz 3 ,8 ve 9' a da bakmışlardır. Kaspaz 3, 8 ve 9' un aktif şekillerinin düzeylerinin gençlere karşın 22- 24 aylık sıçanlarda %60- 80 daha az olduğunu belirlemişlerdir. Sonuçta araştırmacılar; yaşlanmanın proliferasyona yardım ettiğini ancak kolonik mukozadaki apoptozisi engellediğini saptamışlar ve bu değişimlerle de kolorektal kanserlerden yaşın yükümlü olabileceği düşüncesini vurgulamışlardır. ¹⁶

Apoptozisi belirlemek için yaptığımız çalışmada; Kaspaz 9 tutulumunun tüm gruplarda düzensiz olduğu görülmüştür. Kaspaz 8 tutulumuna bakıldığında; gruplar arasında belirgin farklılıklar görülmemiştir ancak yaşın ilerlemesine koşut tutulumun özellikle bezlerin bazal bölümlerinde ve goblet hücrelerinde olduğu dikkati çekmiştir. Kaspaz 3 tutulumu incelendiğinde ise; yenidoğan grubunda belirgin bir tutulum

gözlemlenirken, erişkin gruptan başlayarak yüzey epiteli ve bez epitelindeki hücrelerde daha az olduğu ilgiyi çekmiştir.

Xiao ve arkadaşlarının bulgularına ters düşen bir çalışma 2005 yılında Mandir ve arkadaşlarınca yapılmıştır. Araştırmacılara göre kolonda yaşla birlikte artan hücre çoğalması ve azalan apoptozis düşüncesi yanlıştır. Bunun nedenini kesin olarak açıklayamamalarında, araştırmada Fischer- 344 sıçanlarının kullanımı ve hücre çoğalmasındaki döngü sırasında hata verebilen PCNA kullanımının bunlara etken olabileceğini savunmuşlardır.^{71,72}

Mandir ve arkadaşlarının aynı çalışmasında 3, 4, 6, 9, 12, 18, 26 ve 48 haftalık Wistar sıçanlarında yaşla birlikte vücut ağırlığında ve bağırsak uzunluğundaki değişimlere, ayrıca hücre çoğalması, ayrılma ve apoptozis oranları da incelenmiştir. Kolonda yapılan çalışmalar sonucu ağırlığın 12. haftada en yüksek değerine ulaştığı anlaşılmıştır. Proliferasyona bakıldığında 3 haftalık sıçanlarda kripta başına azaldığı, 9 haftalıklarda ise sabit kaldığı bildirilmiştir. Araştırmada ilk 9 haftada kriptaların ayrılması hızla azalmıştır. Apoptotik cisimler ise 48. haftada görülmüştür. Ayrıca araştırmacılar kolonu ince bağırsakla karşılaştırmışlar ve sonuçta ince bağırsak gelişiminin daha çok proliferasyona bağlı olduğunu, kolon gelişiminde ise kripta ayrılmasının daha baskın görüldüğünü belirtmişlerdir. Çalışmanın sonucunda vardıkları nokta;

gelişen bağırsaklarda çeşitli değişimlerin olduğu ancak burada yaşın çok önemli bir katkısının olmadığıdır.³²

Goodlad, Lee ve Wright' ın yaptıkları ortak çalışmada da kolonda epitel hücrelerinde proliferasyona bakılmış, bunun için 3 yaş grubunda (3, 60, 121 haftalık) sıçan kullanılmıştır. Sonuçta kripta uzunluğu ve hücre sayısı gençlerde daha fazla bulunmuştur. Bu çalışmada da yaşlı ve gençlerde proliferasyondaki değişimle ilgili herhangi bir kanıt bulunamamıştır.³³

Lee ve arkadaşları ise yaşlanmanın kolon mRNA' sı üzerindeki etkisini belirlemek için hücre proliferasyonu ve apoptozisteki genlerin protein basamaklarını incelemişlerdir. Çalışmada 4 (genç) ve 24 (yaşlı) aylık olarak 2 grup Fischer- 344 sıçanlarını kullanmışlardır. İnsülin benzeri büyüme faktörü 1' in (IGF- 1) kolonda, yaşlanmayla birlikte ekspresyonunun arttığı, IGF- bağlayan protein 3' ün ekspresyonunun ise azaldığı belirtilmiştir. Apoptozisi etkileyen bir protein olan Bax' a bakıldığında, bu proteinin yaşlanmayla birlikte arttığı ve daha çok kriptaların üst kısımlarında ve aralarda gözlendiği saptanmıştır. Proliferasyonu belirlemek için uygulanan BrdU boyamasında genç ve yaşlılarda önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Proliferatif hücrelerin çekirdekleri genç ve yaşlılarda eşit sayılarda bulunmuş, kripta uzunluğu da buna eşlik etmiştir. Sonuç olarak araştırmacılar yaşla birlikte normal kolonda,

apoptozis ve proliferasyonda önemli bir değişim olmadığını saptamışlardır.⁹

Apoptozisin yaşlı ve gençlerde Lee gibi sabit olduğunu düşünen Kwon ve arkadaşları, apoptozisin daha çok toksik maddelere (kanserojen) etkin bırakıldığında görüldüğünü ve bu toksiklere yanıt olarak apoptozisin hücrel denetiminin yalnızca kanseri etkilemediğini ayrıca kolondaki hücrel işlevleri de etkilediğini belirtmişlerdir. Bu amaçla araştırmacılar kolonda apoptozisi tetiklemek için bir genotoksik karsinojen olan azoksimetani (AOM) kullanmışlar ve apoptotik yanıtın yaşla birlikte nasıl değiştiğini değerlendirmişlerdir. Çalışmada genç (6 haftalık), orta yaşlı (12 aylık), ve yaşlı (22 aylık) olarak erkek F344 sıçanları kullanılmıştır. AOM uygulamasından sonra apoptozisin yaşla birlikte arttığı gözlenmiştir. Araştırmacılar en fazla artışın uygulamadan 8 saat sonra tüm yaş gruplarında olduğunu belirtmişlerdir.³⁴

VI. SONUÇ

Sonuç olarak; kalın bağırsakta yenidoğan grubunda hücre proliferasyonunun diğer gruplara karşın zayıf olduğu buna karşın kaspaz tutulumunun daha belirgin olduğu ayırt edildi. Bu bulgunun, fetal dönemin devamı olan yeni doğan grubunda bağırsak mukozasını normal yapısını kavuşturmak ve lümeni feçes çıkışına hazırlamak adına erişkin yapısını kazanmak üzere gerçekleşen yapısal bir düzenleme olabileceği kanısına varıldı. Aynı gruba ait elektron mikroskopik bulgular da bu dönemde epitelin halen daha olgunlaşmamış olduğunu destekler nitelikteydi. İlerleyen yaş grupları değerlendirildiğinde immünohistokimyasal olarak hücre proliferasyonu ve apoptozis normal fizyolojik süreci gösterir tarzda dengeli olarak izlenirken, erişkin grubundan sonra başlatıcı kaspazlardan kaspaz 9 tutulumunun kaspaz 8'e göre artması hücrelerin apoptotik yollardan mitokondriyal yolağı yeğlediğinin göstergesi olarak kabul edildi. Mitokondriyal yolda başlatılan apoptozisin doku genelinde oksidatif stresi arttırması ile uyumlu olarak, ilerleyen yaş gruplarında elektron mikroskopik düzeyde de özellikle epitelde, hücre mitokondriyonlarında, yan yüz ve apikal yüzde dejeneratif değişiklikler saptandı.

VII. ÖZET

Çalışmamızda sıçan kalın bağırsağında görülebilecek yaşa koşut olası değişiklikleri ışık, elektron mikroskobu ve immünohistokimyasal olarak inceledik. Bu amaçla; 1 günlük, 22 günlük, 4 haftalık, 10 haftalık, 8 aylık ve 22 aylık olmak üzere altı farklı yaş grubunda sıçan ile çalıştık. PCNA, Kaspaz 9, Kaspaz 8, Kaspaz 3 işaretleyicileri ile immünohistokimyasal incelemelerin yanı sıra, Alsian mavisi- PAS özel boyamasını kullandık.

Yaptığımız özel boyamada; yeni doğan grubunda özellikle baskın olan hücre tipinin goblet hücreleri olduğunu belirledik. 22. günden başlayarak kalın bağırsak katmanlarının erişkin yapısına ulaştığını gösterdik.

PCNA antikoru ile yaptığımız immünohistokimyasal boyamada; proliferasyonun yeni doğan grubunda diğer gruplara karşın zayıf olduğu, ancak yaşın ilerlemesine koşut süreklilik gösterdiğini saptadık.

İlerleyen yaş grupları apoptozis açısından değerlendirildiğinde; Kaspaz 9 ile yapılan boyamada tutulumun tüm gruplarda düzensiz olduğu görülürken, Kaspaz 8 tutulumunda gruplar

arasında belirgin bir farklılık görülmedi. Kaspaz 3 tutulumunun ise en çok yeni doğan grubunda olduğu görüldü.

Elektron mikroskobu ile yapılan değerlendirmelerimiz sonucunda; yeni doğan grubunda epitelin henüz olgunlaşmamış olduğu saptanırken, yaşın ilerlemesiyle birlikte epitelde, hücre mitokondriyonlarında, yan yüz ve apikal yüzde dejeneratif değişiklikler saptandı. Bunun yanı sıra Goblet hücrelerinin granüllerinin yapısının bozulduğu görüldü. Sonuç olarak yaşla birlikte yapı- işlev ilişkisinin bozulduğu kanısına varıldı.

VIII. SUMMARY

In our study we have examined the modifications which depends on age with light microscopy, electron microscopy and with an immunohistochemistry. For this purpose; we have studied six different age groups that are 1 day, 22 day, 4 weeks, 10 weeks, 8 months and 22 months. We have made immunohistochemical observations with PCNA, Caspase 9, Caspase 8, Caspase 3 markers and besides with light microscobic special staining method with Alcian blue- PAS stain.

In our special staining we observed that especially in new born group dominant cell type is Goblet cell. We have showed that from the 22 day group large intestine layers are accessed to it is mature structure.

Immunohistochemical staining which we have done with PCNA staining; in new born group proliferation is weaker than the other groups, but we have determined that it showed continuity parallel with age process.

Declining age groups when they assessed for apoptosis; the Caspase 9 staining is irregular in all groups when there is not any

important difference in Caspase 8 staining. Caspase 3 staining is observed in new born group the most.

In our electron microscopy study result; while we have determined the epithelium is immature in new born group, with the age advancing, in epithelium, cell mitochondrias, lateral surface and apical surface, degenerative modifications are detected. Besides this, it is understood that Goblet cell' s granule structure is degenerated. We have come to the conclusion that with advancing age, the structure- function relation is damaged.

IX. KAYNAKLAR

1. Sadler T W. Medikal Embriyoloji (Türkçe çeviri). 9. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2005. S: 277- 311
2. Moore K L, Persaud T V N. İnsan Embriyolojisi (Türkçe Çeviri). 6. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002. S: 271- 303
3. Erdoğan D, Hatipoğlu M T, Görgün M, Ilgaz C. Özel Histoloji. 2. Baskı. Ankara: Hatipoğlu Yayınları; 2007. S: 91- 93
4. Junquera L C, Carneiro J, Kelley R O. Temel Histoloji (Türkçe Çeviri). 8. Baskı. Arış Kitabevi; 1998. S: 298- 301
5. Taş M. Sindirim ve Metabolizma Ders Kurulu Laboratuvar Kılavuzu. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı; 2006.
6. Hatipoğlu M T. Özel Histoloji Ders Notu. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı; 2005.
7. Hatipoğlu M T. Anatomi ve Fizyoloji. 14. Baskı. Ankara: Hatipoğlu Yayınları; 2003. S: 204- 207
8. Hatipoğlu M T, Hatipoğlu H G. Yüksekokullar Anatomi Ders Kitabı: Selvi Yayınevi; 2006. S: 177- 179
9. Lee H- M, Greeley H G, Englander E W. Effects of aging on expression of genes involved in regulation of proliferation and apoptosis in the colonic epithelium. Mechanisms of Aging and Development 2000; 155: 139- 155
10. Drucker D J. Epithelial cell growth and differentiation. I. Intestinal growth factors. Am. J. Physiol 1997; 273: G3- G6

11. Albiston A L, Taylor R G, Herington A C, Beveridge D J, Fuller P J. Divergent ileal IGF- I and IGFBP- 3 gene expression after small bowel resection: a novel mechanism to amplify IGF action? *Mol. Cell Endocrinol.* 1992; 83: R17- R20
12. Jones J I, Clemmons D R. Insulin- like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr. Rev.* 1995; 16: 3- 34
13. Winesett D E, Ulshen M H, Hoyt E C, Mohapatra N K, Fuller C R, Lund P K. Regulation and localization of the insulin- like growth factor system in small bowel during altered nutrient status. *Am. J. Physiol* 1995; 268: G631- G640
14. Dvorak B, Stephana A L, Holubec H, Williams C S, Philipps A F, Koldovskoy O. Insulin- like growth factor- I (IGF- I) mRNA in the small intestine of suckling and adult rats. *FEBS Lett.* 1996; 388: 155- 160
15. Ohneda K, Ulshen M H, Fuller C R, D' Ercole A J, Lund P K. Enhanced growth of small bowel in transgenic mice expressing human insulin like growth factor I. *Gastroenterology* 1997; 112: 444- 454
16. Xiao Z- Q, Moragoda L, Jaszewski R, Hatfield J A, Fligiel S E G, Majumdar A P N. Aging is associated with increased proliferation and decreased apoptosis in the colonic mucosa. *Mechanisms of Aging and Development* 2001; 122: 1849- 1864
17. Creamer E, Shorter E G, Bamforth J. The turnover and shedding of epithelial cells. I. The turnover in the gastrointestinal tract. *Gut* 1961; 2: 110- 118

18. Leblond C P, Messier B. Renewal of chief cells and goblet cells in the small intestine as shown by radioautography of ^3H - thymidine into mice. *Anat. Rec.* 1958; 132: 247- 258
19. Leblond C P, Stevens C E. The constant renewal of the intestinal epithelium in the albino rat. *Anat. Rec.* 1948; 100: 357- 378
20. Lipkin M. Proliferation and differentiation of normal and diseased gastrointestinal cells. In: Johnson, L R (Ed.), *Physiol. of the Gastrointest. tract.* Raven Pres, New York 1987; 255- 284
21. Sato M, Ahnen D J. Regional variability in colonocyte growth and differentiation in the rat. *Anat. Rec.* 1992; 233: 409
22. Green D R, Bissonette R P, Cotter T G. Apoptosis and cancer. *Important Advances in Oncology* 1994; 37- 52
23. Schwartzman R A, Cidilowski J A. Apoptosis: The biochemistry and molecular biology of programmed cell death. *Endocrine Rev.* 1993; 14: 133- 151
24. Riberiro J A, Carson D A. Apoptosis and disease. *Lancet* 1993; 341: 1251- 1253
25. Majumdar A P N, Johnson L R. Gastric mucosal cell proliferation during development. *Gastrointest. Liver. Physiol.* 1982; 242: G135- G136
26. Xiao Z- Q, Jaszewski R, Majumdar A P N. Aging enhances G_1 phase in the colonic mucosa of rats. *Mechanisms of Ageing and Development* 2000; 116: 1- 14

27. Holt P R, Yeh K Y. Colonic proliferation is increased in senescent rats. *Gastroenterology* 1988; 95 (6): 1556- 63
28. Goodlad R A, Wright N A. Changes in intestinal cell proliferation, absorptive capacity and structure in young, adult and old rats. *J. Anat.* 1990; 173: 109- 118
29. Morita T, Usuda N, Hanai T, Nagata T. Changes of colon epithelium proliferation due to individual aging with cyclin proliferating cell nuclear antigen (PCNA/ cyclin) immunostaining compared to [³H]- thymidine radioautography. *Histochemistry* 1994; 101: 13- 20
30. Colony P C, Neutra M R. Epithelial differentiation in the fetal rat colon. I. Plasma membrane phosphatase activities. *Dev. Biol.* 1983; 349- 363
31. Holt P R, Higgins P J, Atillasoy E, Davis P J, Lipkin M. Abnormal cell proliferation p 52/ p 35- CSK expression in the colons of aging rats. *Exp. Gerontol.* 1995; 30 (5): 495- 503
32. Mandir N, FitzGerald A J, Goodlad R A. Differences in the effects of age on intestinal proliferation, crypt fission and apoptosis on the small intestine and the colon of the rat. *Int. J. Exp. Path.* 2005; 86: 125- 130
33. Goodlad R A, Lee C Y, Wright N A. Colonic cell proliferation and growth fraction in young, adult and old rats. *Virchows Archiv B Cell Pathol. Incl. Mol. Pathol.* 1992; 61: 415- 417
34. Kwon Y, Magnuson B A. Aging alters acute apoptotic response to azoxymethane in the colon of rats. *Experimental Gerontology* 2007; 42: 1154- 1161

35. Ekin S B. Sıçan ileum ve kolonundaki sinir ağlarının doğum öncesi ve sonrası gelişiminin immünohistokimyasal olarak incelenmesi. Yüksek Lisans. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2007
36. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 1. Cilt. Ankara: Güneş Kitabevi Lmt; 2001. S: 251- 261
37. Gövsa G F. Sistemantik Anatomi. İzmir: Güven Kitabevi; 2003. S: 493- 505
38. Hatipoğlu M T. Anatomi Sözlüğü. 6. Baskı. Ankara: Hatipoğlu Yayınları; 2005. S: 16, 101
39. Kierszenbaum A L. Histoloji ve Hücre Biyolojisi (Türkçe Çeviri). Ankara: Palme Yayıncılık; 2006. S: 438- 442
40. Helvacıoğlu F. Laktasyon evresindeki sıçanlarda obstrüksiyon sonrasında ve yeni doğanlarda ince bağırsak yapısal değişikliklerinin incelenmesi. Yüksek Lisans. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2004
41. Çağlar G. Laktasyon dönemindeki sıçanlarda I-B obstruksiyonu sonrasında midede meydana gelen yapısal değişikliklerin incelenmesi. Yüksek Lisans. Ankara: Gazi Üniversitesi; 2004
42. Ross H M, Kaye I G, Pawlina W. Histology A Text and Atlas. 4. Baskı. Philedelphia: Williams and Wilkins Co; 1995. S: 501- 509
43. Guyton A C, Hall J E. Fizyoloji (Türkçe Baskı). 1. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri; 2001. S: 735- 737
44. Noyan A. Fizyoloji. 10. Baskı. Ankara. 1998. S: 889- 890

45. Çoğulu , Alpman A, Durmaz B, Özkinay F. Mitoz ve mayozun moleküler temelleri. Türkiye Klinikleri J. Med. Sci 2007; 27: 725- 737
46. Güneş H. Sitokinlerin hücre döngüsü üzerindeki etkileri. Tr. J. of Biology 1999; 23: 283- 292
47. <http://www.labvision.com/ab.cfm?First=AntiBody&Second=9335>
48. Ulukaya E. Apoptozis Ders Notları. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim dalı; 2003.
49. Walthall K, Cappon G D, Hurtt M E, Zoetis T. Postnatal development of the gastrointestinal system: a species comparison. Birth Defects Research (Part B) 2005; 74: 132- 156
50. Colony P C, Kois J M, Peiffer L P. Structural and enzymatic changes during colonic maturation in the fetal and suckling rat. Gastroenterol. 1989; 97: 338- 347
51. Bristol J B, Williamson R C. Large bowel growth. Scand J Gastroenterol. Suppl. 1984; 93: 25- 34
52. Pacha J. Development of intestinal transport function in mammals. Physiol. Rev. 2000; 80: 1633- 1667
53. Karam S M. Lineage commitment and maturation of epithelial cells in the gut. Frontiers in Bioscience 1999; 4: 286- 298
54. Nagata T. Electron microscopic radioautography and analytical electron microscopy. J. Clin. Electron Microsc. 1991; 24: 441- 442

55. Maruyama M. Histochemical studies on glycoprotein synthesis in the colonic goblet cells of mice (In Japanese). *Shinshu Med. J.* 1991; 39: 467-478
56. Maruyama M, Nagata T. X- ray microanalysis with a high voltage electron microscope quantifying sulfur in colonic goblet cells of aging mice. *J. Clin. Electron Microsc.* 1987; 20: 678- 679
57. Ichikawa R, Hayashi K, Nagata T. X- ray microanalysis of the secretory granules in the intestinal goblet cells of aging mice. *Med. Electron Microsc.* 1994; 27: 337- 339
58. Kametani K, Ichikawa R, Nagata T. X- ray microanalysis of the secretory granules in goblet cells of mouse intestinal tracts: changes with age. *Med. Electron Microsc.* 1998; 31: 107- 114
59. Katz J P, Perreault N, Goldstein B G, Lee C S, Labosky P A, Yang V W, Kaestner K H. The zinc finger transcription factor Klf4 is required for terminal differentiation of goblet cells in the colon. *Development* 2002; 129: 2619- 2628
60. Zorbas M, Sicurella C, Bertoncella I, Venter D, Ellis S, Mucenski M L, Ramsay R G. c- Myb is critical for murine colon development. *Oncogene* 1999; 18: 5821- 5830
61. Jaszewski R, Ehrinpreis M N, Majumdar A P N. Aging and cancer of the stomach and colon. *Frontiers in Bioscience* 1999; 4: 322- 328
62. Zhang Y, Herman B. Ageing and apoptosis. *Mechanisms of Ageing and Development* 2002; 123: 245- 260

63. Zhang J- H, Zhang Y, Herman B. Caspases, apoptosis and aging. *Ageing Research Reviews* 2003; 2: 357- 366
64. Lee H- M, Greeley G H, Englander E W. Age- associated changes in gene expression patterns in the duodenum and colon of rats. *Mechanisms of Ageing and Development* 2001; 122: 355- 371
65. Atlı K, Bozcuk A N. Telomer ve hücrel yaşlanma. *Geriatri* 2002; 5 (3): 111- 114
66. Nakamura K, Furugori E, Esaki Y, Arai T, Sawabe M, Okayasu I, Fujiwara M, Kammori M, Mafune K, Kato M, Oshimura M, Sasajima K, Takubo K. Correlation of telomere lengths in normal and cancers tissue in the large bowel. *Cancer Letters* 2000; 158: 179- 184
67. O' Sullivan J, Risques R A, Mandelson M T, Chen L, Brentnall T A, Bronner M P, MacMillan M P, Feng Z, Siebert J R, Potter J P, Rabinovitch P S. Telomere length in the colon declines with age: a relation to colorectal cancer? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006; 15 (3): 573- 577
68. Issa J P J, Ottaviano Y L, Celano P, Hamilton S R, Davidson N E, Baylin S B. Methylation of the oestrogen receptor CpG island links ageing and neoplasia in human colon. *Nature Genet.* 1994; 7: 536- 40
69. Malecka- Panas E, Relan N K, Majumdar A P N. Increased activation of EGF- receptor tyrosine kinase by EGF and TGF- alpha in the colonic mucosa of aged rats. *J. Gerontol* 1996; 51A, B60- 5

70. Bedi A, Pasricha P J, Akhtar A J, Barber J P, Bedi G C, Giardiello F M, Zehnbaauer B A, Hamilton S R, Jones R J. Inhibition of apoptosis during development of colorectal cancer. *Cancer Research* 1995; 55: 1811- 1816
71. Hall P A, Coates P J, Goodlad R A, Hart I R, Lane D P. Proliferating cell nuclear antigen expression in non- cycling cells may be induced by growth factors in vivo. *Br. J. Cancer* 1994; 70: 244- 247
72. Goodlad R A, Nightingale J M D, Playford R J. Intestinal adaptation. In: *Intestinal Failure* 2001; 243- 262

X. ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında İzmit’ te doğdum. İlkokulu Donanma İlköğretim Okulu’ nda, orta okulu Özel Atafen Koleji’ nde, liseyi ise Yalova Anadolu Lisesi ve daha sonra Milli Piyango Anadolu Lisesi’ nde okuyarak mezun oldum. 2002 yılında Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’ nü kazandım ve biyoloji eğitimimi 2006 yılında tamamladım. Aynı yıl Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesinde Sağlık Bilimleri Enstitüsü’ nün Histoloji ve Embriyoloji programında yüksek lisansa başladım.

XI. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim boyunca bilgi ve deneyimleriyle bana yardımcı olan, tezimin hazırlanmasında büyük desteğini gördüğüm Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı başkanımız ve çok değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Deniz Erdoğan'a, Türk dili ve bilim dili terminolojisini uygun şekilde kullanmamızı aşıl原因 Sayın Prof. Dr. Tahir Hatipoğlu'na, öğretim yılı boyunca bana katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Celal Ilgaz'a, Prof. Dr. Suna Ömeroğlu'na, Prof. Dr. Candan Özoğlu'a, Doç. Dr. Gülnur Take'ye, Doç. Dr. Çiğdem Elmas'a, Uzman Neşe Lortlar'a, deneylerim ve çalışmalarım süresince benden hiçbir yardımı esirgemeyen Arş. Gör. Fatma Helvacıoğlu'na, Arş. Gör. Seren Gülşen Giray'a, Arş. Gör. Güleser Göktaş'a, birlikte çok şey paylaştığım tüm dönem arkadaşlarıma, her zaman yanımda olan ve desteklerini benden esirgemeyen anneme ve babama teşekkür ederim.