

LAKTASYON EVRESİNDEKİ SIÇANLARDA OLUŞTURULAN KISMİ OBSTRÜKSİYONUNUN YENİDOĞAN İNCE BAĞIRSAK ULTRASTRÜKTÜRÜNE ETKİSİ

Fatma HELVACIOĞLU, Deniz ERDOĞAN, Çiğdem ELMAS

Amaç: Bu çalışmada, bağırsak mukozasında epitel hücrelerde hipertrofi ve hiperplazi gibi değişikliklerin olaylandığı süt verme evresindeki siçanların, ince bağırsaklarına uygulanan deneysel kısmi obstrüksiyonun, deneklerin yavrularına olası etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada Sprague – Dawley cinsi gebe siçanlar kullanıldı. Laktasyonun 7 ve 14. günlerinde kısmi bağırsak obstrüksiyonu uygulandı. Kontrol grubu deneklerde de cerrahi girişim aynen uygulanmakla birlikte obstrüksiyon gerçekleştirilmedi. Uygulamayı izleyen 14 ve 21. günlerde her iki gruba ait yavrulardan alınan ileum doku örnekleri alışımlı elektron mikroskop izlem yöntemlerinden geçirildi. Kalın kesitler toluidin mavisi ile boyanarak fotoşık mikroskopta, ince kesitler ise uranyl asetat – kurşun sitrat ile boyanarak Carl Zeiss EM900 elektron mikroskopta değerlendirildi.

Bulgular: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, obstrüksiyon uygulanan annelerin yavrularında, mikrovilluslarda bozulma, mitokondriyonlarda şişme ve emilim yapan hücrelerde iri vakuollerin şekillenmesi gibi çeşitli yapısal değişiklikler gözlemlendi. Bu değişikliklerin süre artımına koşut daha da belirginleştiği dikkati çekti. Kas yapısı normal olarak belirlendi.

Sonuç: Sonuç olarak; süt verme evresinde anneye uygulanan ince bağırsak obstrüksiyonun, annenin emilim mekanizmasında olaylandırdığı aksaklıklar nedeniyle, uygulanan obstrüksiyondan yavruların da etkilendiği kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: İnce bağırsak, obstrüksiyon, yeni doğan, ultrastrüktür.

ULTRASTRUCTURAL EFFECTS OF PARTIAL INTESTINAL OBSTRUCTION IN LACTATING RATS: EFFECTS OF OBSTRUCTION ON THE INTESTINE OF THEIR NEWBORN

Purpose: To investigate the possible effect of intestinal obstruction on the offspring of lactating mothers.

Materials and Methods: Pregnant Sprague-Dawley rats were used. Partial intestinal obstruction was induced on days 7 and 14 days of lactation. Surgery was performed on control animals without causing any obstruction. Then, 14 and 21 days after these applications, ileum tissue samples were taken from the animals and prepared for electron microscopic investigations. Thick sections were stained with toluidine blue and investigated under a light microscope; thin sections were stained with uranyl acetate-lead citrate and investigated under an electron microscope (Carl Zeiss EM900). Results: When compared with the control group, degeneration of the microvillus structure, mitochondrial swelling and appearance of giant vacuoles on the surface absorptive cells were detected in the offspring of rats with intestinal obstruction. These structural changes increased with the increasing duration of obstruction. Muscle structure seemed to be normal.

Conclusion: The offspring of lactating rats may be affected by obstruction induced in the mothers, which could cause deterioration of the absorption mechanism.

Key Words: Small intestine, obstruction, newborn, ultrastructure.

GİRİŞ

İnce bağırsak mukozası normal koşullar altında en çok gebelik ve süt verme sürecinde işlevsel ve yapısal değişim gösterir. Gebeliğin başlaması ile birlikte ince bağırsak yüzeyindeki hücreler ve villuslar hipertrofi ve hiperplaziye uğrarlar. Hücrelerin emilim gücü ve bezlerin salgı miktarında artış görülür. Bu durum süt verme evresinde de sürer ve evre sona erdiğinde ince bağırsaktaki yapısal ve işlevsel değişimler ortadan kalkar (1).

Bağırsak tıkanıklığı ise; ince bağırsakta lümenin kapanması ile özelleşmiş bir olgu olarak tanımlanır. Tıkanıklık tüm ya da kısmen olabilir. Bu tıkanıklık tipi bakteriyel enfeksiyonlara, beslenme yetersizliğine ve vücutun diğer bölümlerinde oluşabilecek kas sorunlarına neden olabilir. Bazı insanlarda mesane yakınmaları bildirilmiştir. Yalancı kronik bağırsak tıkanıklığı ise mide-bağırsak hareketlerinde oluşan ender bir hastalıktır (2, 3).

Kısmi bağırsak tıkanıklığı lümenin kısmen kapanmasıdır. Bunun sonucunda bağırsak içeriği lümeden güçlükle geçebilir. Bağırsak tıkanıklığı ileus (bağırsağın tamamen tıkanması) şeklinde de olaylanabilir. Bu olguda bağırsak işlevleri normal değildir, ancak anatomik sorunlar ya da mekanik nedenler de yaktır (4-7).

Bu çalışmada, süt verme evresinden başlayarak, bağırsak obstrüksiyonu uygulanmış anne siçanların yavrularında, ince bağırsak gelişimi sırasında oluşabilecek yapısal değişikliklerin belirlenmesi amaçlandı.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada, Başkent Üniversitesi Deneysel Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezinden elde edilen, ağırlıkları 200-250 g arasında değişen Sprague-Dawley cinsi 25 gebe siçan kullanıldı. Kısmi tıkanıklık oluşturmak için, laktasyon evresinin 7. ve 14. günlerinde, ketasol anestezisi altında, anne siçanların karın ön bölgeleri orta hat boyunca açıldı ve ileoçekal bağlantıdan başlayarak ileum'da yaklaşık 5 cm'lik bölge 1-2 mm genişlik olacak şekilde steril ince bir parafilm ile çevrelendi. Parafilm ipek iplikle sabitlenerek bu şekilde ileum üzerinde kısmi tıkanıklık gerçekleştirildi (8-11). İnce bağırsak daha sonra karın boşluğuna yerleştirilerek ve karın ön duvarı dikilerek kapatıldı. Cerrahi girişimi izleyen ilk günde anne siçanların katı besin alması engellendi. Kontrol grubundaki deneklerin annelerinin de aynı stresi yaşamaları için, yalnızca karın ön duvarı açılarak bağırsaklar dışarı çıkarıldı. Hiçbir cerrahi girişimde bulunulmadan tekrar karın boşluğuna yerleştirilerek, karın ön duvarı dikildi.

Yavru denekler cerrahi girişimden sonra, bir gün süreyle annelerinden ayrı tutuldu. Uygulamayı izleyen 14. ve 21. günlerde deney ve kontrol grubundaki yavrular kurban edildi. Deneklerin karın bölgeleri orta çizgi boyunca açıldı. İleoçekal bağlantının

* Bu çalışma 18-21 Haziran 2005 tarihinde Mersin'de yapılan 7.Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresinde poster bildirisi olarak sunulmuştur.
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı.

yukarısında kalan ileum bölgesi çıkartılarak doku örnekleri alındı.

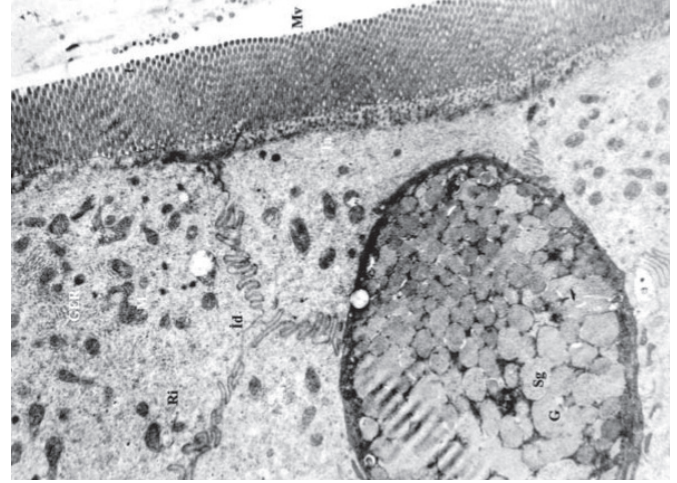
İleum dokuları %2'lik fosfat tamponlu gluteraldehit içine alındı. Daha sonra alışılagelmiş elektron mikroskop takibinden geçirilen dokular araldite gömüldü. Hazırlanan bloklardan LKB Leica ultramikrotom ile 1 mikron kalınlığında kesitler alındı ve toluidin blue ile boyandı. Olympus BH2 fotoşık mikroskobu ile incelenen kalın kesitlerin resimleri çekildi ve bu bölgeler işaretlenerek formvar kaplı bakır gridler üzerine 0.5 mikronluk ince kesitleri alındı. Kontrast sağlamak için alınan kesitler, uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyanarak Carl Zeiss EM 900 elektron mikroskopta değerlendirilerek resimlendirildiler.

BULGULAR

Normal gruptaki annenin yavrusundan alınan doku örneklerinin yarı ince kesitlerinde yüzey epitelinde emilim yapan hücreler uzun silindirik şekilleri ve oval çekirdekleri ile ayırt edilirken goblet hücrelerinin yer yer açık yer yer koyu boyanan salgı içeriğine sahip olduğu belirlendi. Çizgili kenar düzenli yapıdaydı. Lamina propria bağ dokusu liflerinin erişkine karşın daha az olduğu gözlemlendi (Resim 1A). Bu grubun elektron mikroskop incelemelerinde emilim yapan hücrelerde mikrovilluslar iyi gelişmişti. Apikal sitoplazma da terminal ağ normaldi. Hücrelerin yan yüzlerinde apikale yakın bağlantı birimleri (sıkı ve ara bağlantılar) gözlenirken daha alt bölümlerde interdigitasyon tipi bağlantılar yaygındı. Emilim yapan epitel hücrelerinde GER tubulusları, serbest ribozomlar ve mitokondriyonlar boldu. Goblet hücre yapısı normaldi (Resim 1B). Aynı gruba ait kas katmanında düz kas hücrelerinin gelişkine karşın daha ince uzun yapıda olduğu, çekirdeklerinin de daha heterokromatik görüldüğü dikkat çekiciydi. Sitoplazmada miyofibriller düzenli olarak dağılmıştı. Hücreler arası bağ dokusu gelişkinlere karşın daha fazlaydı (Resim 1C).

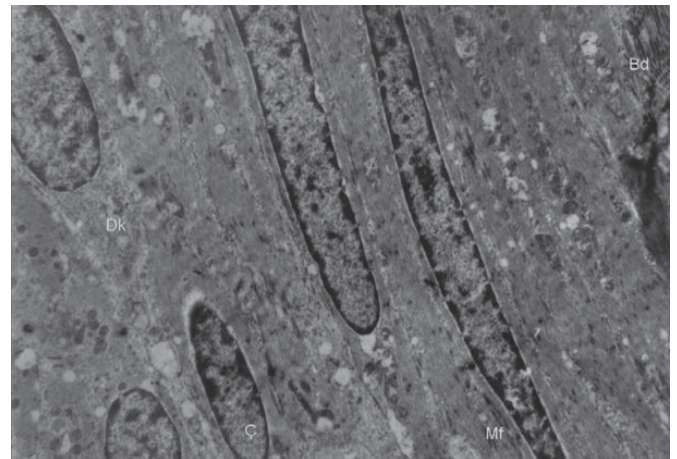


Resim 1A: Normal kontrol grubundaki annenin yavrusundan alınan ince bağırsak dokusunun yarı ince kesitinde olağan yapısı ile emilim yapan hücreler (E), çizgili kenar oluşturan mikrovilluslar (Mv), açık boyanan sitoplazmaları ile Goblet hücreleri (G) görülüyor. (Toluidin mavisi X 400).

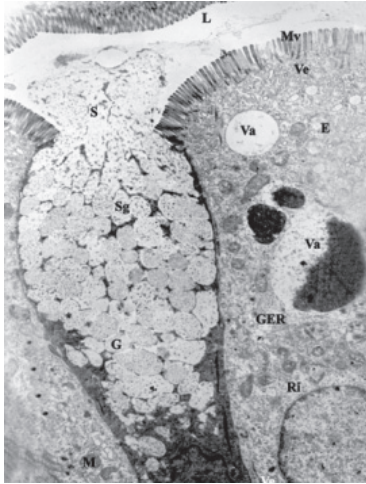


Resim 1B: Aynı gruba ait elektron mikroskop resminde, emilim yapan hücreler iyi gelişmiş mikrovillus (Mv) ve belirgin terminal ağ (Ta) yapısı ile izleniyor. Hücre yan yüzlerinde apikale yakın bölgede bağlantı birimleri (Bb) ile bazale doğru interdigitasyon (İd) tipi bağlantı birimleri görülüyor. Sitoplazmada granüllü endoplazmik retikulum tubulusları (GER), serbest ribozomlar (Ri) ve mitokondriyonlar (M) belirgin olarak izleniyor. Normal yapısı ile Goblet hücresi (G) ve salgı granülleri (Sg) görülüyor. (Uranil asetat- Kurşun sitrat X 9000).

Süt verme evresinin 7. gününde ince bağırsak obstrüksiyonu uygulanan ve 21 gün sonra bağırsak dokuları alınan annenin yavrularında elektron mikroskop incelemelerinde goblet hücrelerinin normal yapıda olduğu ve çoğunlukla salgı içeriklerini lümene boşalttıkları izlendi. Goblet hücrelerinin salgı granülleri, tanecikli bir yapıdaydı ve granüller genelde birbirleriyle birleşmişti. Emilim yapan hücrelerin mikrovillusları da çoğunlukla normal yapıdaydı. Emilim yapan hücrelerde oldukça iri bir zarla çevrili ve büyük yoğun boyalı partiküllerden oluşan bir öz içeren vakuoller dikkati çekti. Bu vakuollerin daha küçükleri de vezikül biçiminde aynı yoğun öz bölgeyi içeriyordu. Bunların yanı sıra apikal sitoplazmada irili ufaklı



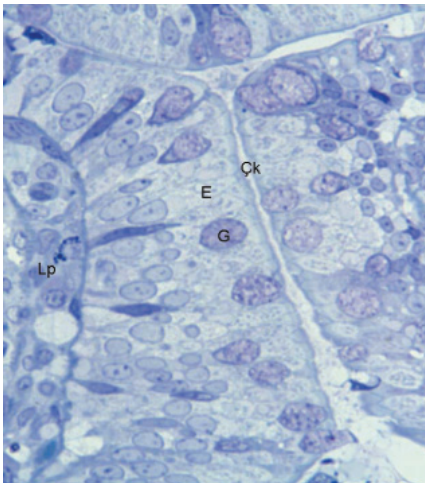
Resim 1C: Aynı gruba ait kas dokusunun elektron mikroskopik resminde ince ve uzun yapıdaki düz kas hücreleri (DK) heterokromatik çekirdekleri (Ç) ve sitoplazmalarında dağınık olarak görülen miyofibrilleri (Mf) ile izleniyor. Hücreler arası bağ dokusu miktarının gelişkine karşın daha fazla olduğu dikkati çekiyor. (Uranil asetat- Kurşun sitrat X 9000).



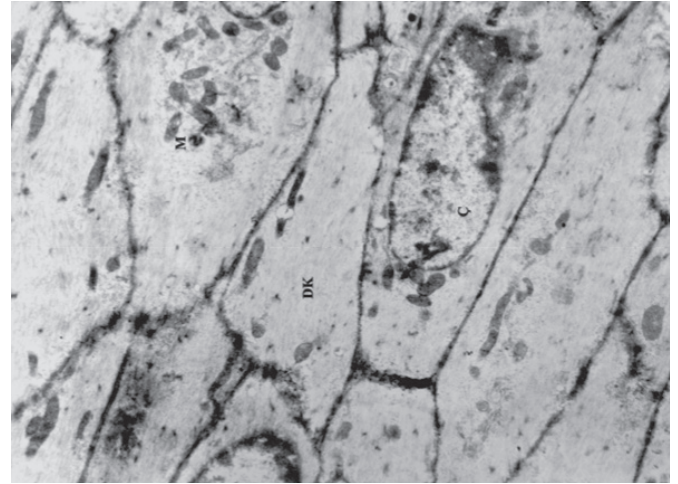
Resim 2A: Süt verme evresinin 7.gününde obstrüksiyon uygulanan annenin yavrularından alınan ince bağırsak dokusunun elektron mikroskop resmi. Goblet hücresi (G), salgısı (S) lümene (L) boşaltırken izleniyor. Salgı granüllerinin (Sg) tanecikli (*) bir görünüme sahip oldukları ve birbirleri ile kaynaştıkları görülüyor. Emilim yapan hücrelerde (E) sitoplazmada yoğun bir öz içeren vakuoller (Va), veziküller (Ve), kısa granüllü endoplazmik retikulum tubulusları (GER), serbest ribozomlar (Ri) ve mitokondriyonlar (M) dikkati çekiyor. (Uranil asetat- Kurşun sitrat X 9000)

veziküller ve vakuoller yaygındı. Mitokondriyonlar normal yapıdaydı. GER tubulusları oldukça kısaydı (Resim 2A). Aynı gruba ait ince bağırsak kas katmanında kas hücreleri genelde kontrollere eşdeğer ince yapı sergiliyordu (Resim 2B).

Süt verme evresinin 14.gününde ince bağırsak obstrüksiyonu uygulanan ve 14 gün sonra bağırsak örnekleri alınan annenin yavrularında da yarı ince kesitlerde emilim yapan hücreler, goblet hücreleri, villus bağ dokusu oldukça normaldi. Emilim yapan hücrelerde çizgili kenar oldukça belirgindi (Resim 3A). Aynı grubun elektron mikroskop incelemelerinde terminal ağda belirgin bir düzensizlik görülüyordu. Mikrovilluslarda

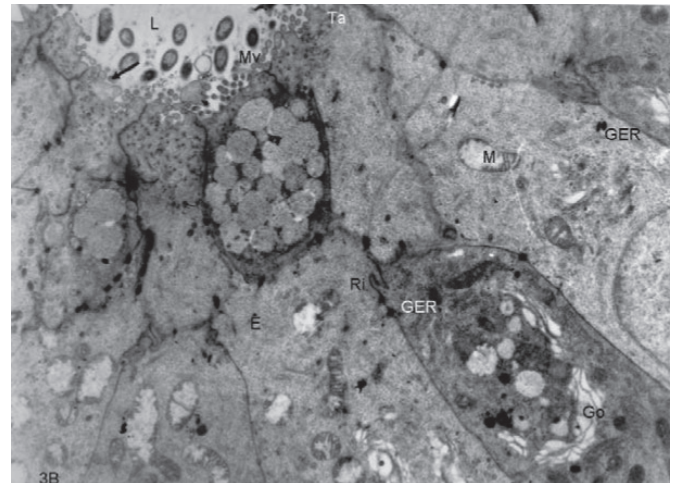


Resim 3A: Süt verme evresinin 14.gününde obstrüksiyon uygulanan annenin yavrularından alınan ince bağırsak dokusunun yarı ince kesitinde emilim yapan hücrelerde (E) çizgili kenar (ÇK) belirgin olarak izleniyor. Goblet hücreleri (G) ve lamina propria (Lp) normal yapıda (Toluidin mavisi X 400).

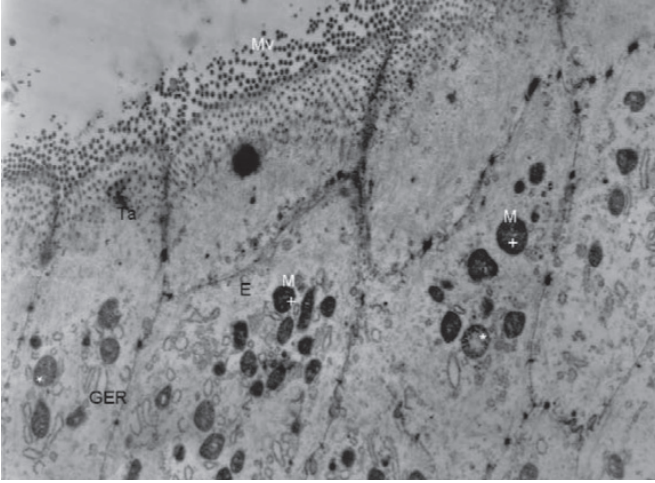


Resim 2B: Aynı gruba ait kas dokusunun elektron mikroskop görünüşünde düz kas hücreleri (DK) heterokromatik çekirdekleri (C) ve uzun ve oval mitokondriyonları (M) ile görülüyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat X 9000).

düzensizlik yer yer kaybolma ve kaybolan bölgelerde de şişme gözlemlendi. Lümeninde salgı birikimi izlendi (Resim 3B). Emilim yapan hücrelerde elektron yoğun normal mitokondriyonların yanı sıra elektron geçirgen mitokondriyonlarda gözleniyordu. Yine sitoplazmada kısa, genişlemiş granüllü endoplazmik retikulum tubulusları, serbest ribozomlar belirgindi. Bazı emilim yapan hücrelerin daha yoğun sitoplazmalı olduğu görüldü. Bu hücrelerde GER, serbest ribozomlar yaygındı. Golgi kompleksi son derece aktifti ve apikal sitoplazmada geniş yer kaplıyordu (Resim 3C). Aynı grubun kas dokusu normaldi. Bağ dokusunda hafif bir artış görülüyordu (Resim 3D).



Resim 3B: Aynı gruba ait elektron mikroskop resminde emilim yapan hücrelerde mikrovilluslarda (Mv) ve terminal ağ (Ta) yapısında belirgin bir düzensizlik (→) izleniyor. Emilim yapan hücrelerde (E) oldukça iri mitokondriyonlar (M), sitoplazmada kısa, genişlemiş granüllü endoplazmik retikulum tubulusları (GER), serbest ribozomlar (Ri) belirgindi (Uranil asetat- Kurşun sitrat X 13200).



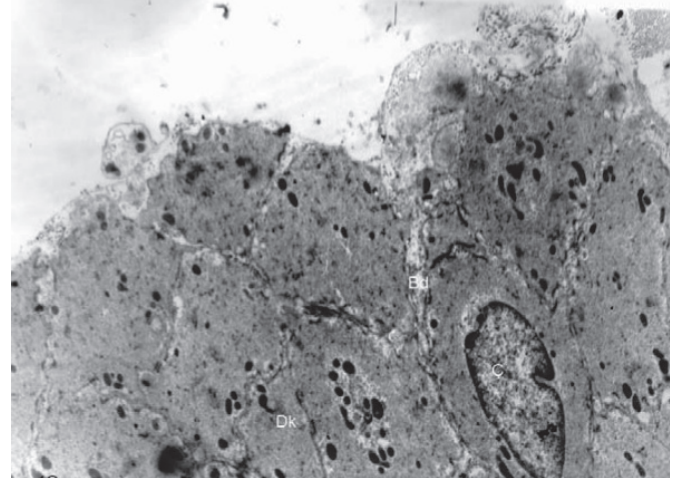
Resim 3C: Aynı gruba ait elektron mikroskop resminde emilim yapan hücrelerde mikrovilluslar (Mv), terminal ağ (Ta), sitoplazmada elektron yoğun görünümlü normal yapıdaki mitokondriyonlar (+), elektron geçirgen mitokondriyonlar (*), kısa ve genişlemiş tubuluslarıyla granüllü endoplazmik retikulum (GER) ve serbest ribozomlar (Ri) izleniyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat X 13200).

TARTIŞMA

İnce bağırsak morfolojisi ile ilgili birçok çalışmada yaşa koşut değişimler araştırılmıştır. Bu çalışmalarda yaşın bireysel villus genişliği, kripta ve hücre çoğalma hızı üzerinde etkili olmadığı belirtilmiştir. Ancak kripta ve villus sayısının yaşa koşut olarak arttığı, bunun da, 2. yaşa kadar gelişen mukozal büyüme ile ilişkili olabileceği kanısına varılmıştır. Ek olarak bağırsak kripta hücre proliferasyonunun, toplam kripta sayısındaki azalmayı dengeleyebilmek için olduğu belirtilmiştir (11-14).

İnce bağırsak mukozası üzerinde yapılan birçok çalışma da yavru sıçanlar üzerinde yürütülmüştür. Bu çalışmalarda embriyonik dönem ve doğum sonrası sıçanların villus gelişimleri incelenmiştir. Araştırmacılar gebeliğin son haftasında ve doğumdan sonraki 3-4 hafta içinde hızlı gelişim gösterdiklerini vurgulamıştır. Araştırmacılar gelişimin 17. günün de villus öncüllerinin oluşmaya başladığını ve 18. günde parmakşekil kazandıklarını saptamışlardır. Bu araştırmalarda, doğumdan sonraki 22. günde mikrovillusların epitel hücrelerin üst yüzünü tamamen örtmeye başladıkları ve 28. günde mukozanın yetişkindeki normal şeklini kazanmaya başladığı belirtilmiştir (15-17).

Bizim çalışmamızda obstrüksiyon uygulanan anne sıçanların yavrularının, bu cerrahi girişimden ne şekilde etkilenebilecekleri araştırılmıştır. Süt verme evresindeki kontrol grubu deneklerimizin yavrularının, emilim yapan hücrelerinde mikrovillusların iyi geliştiğini ve terminal ağın normal görünümde olduğunu saptadık. Hücreler arası bağlantı birimlerini tümüyle normal yapıda gözledik. Hem emilim yapan hücrelerde hem de goblet hücrelerinde yapının tümüyle normal olduğunu ve düzenli geliştiğini saptadık. Buna karşın annelerine süt verme evresinin 7. gününde ince bağırsak obstrüksiyonu uygulanan deneklerin yavrularında ince bağırsakta emilim yapan hücrelerin apikal sitoplazmaları irili ufaklı bir-



Resim 3D: Aynı gruba ait kas dokusunun elektron mikroskop görüntüsünde normal yapıdaki düz kas hücresi (DK), heterokromatik çekirdeği (Ç) görülüyor (Uranil asetat- Kurşun sitrat X 9000).

çok vezikül ve vakuol kapsamaktaydı. GER tubulusları oldukça kısaydı. Bununla birlikte kas hücrelerinin kontrol grubuyla eşdeğer yapı gösterdiği gözlemlendi. Süt verme evresinin 14. gününde ince bağırsak obstrüksiyonu uygulanan deneklerin yavrularında ise emilim yapan hücrelerin mikrovilluslarında düzensizlik yer yer kaybolma ve kaybolan bölgelerde de şişme belirgindi.

Literatürde sadece yetişkin denekler üzerine yapılmış çalışmalara rastlanmış olup, yavrularda oluşabilecek bir değişiklik üzerine hiçbir araştırma bulunamadı. Bu nedenle bizim çalışmamız yetişkin sıçanların yavruları üzerinde kurgulandı ve süt verme evresindeki anne deneklere uygulanan cerrahi girişimden, yavruların ne şekilde etkilenebileceğini TEM düzeyinde araştırıldı. Yavruların anneye uygulanan ince bağırsak obstrüksiyonundan, belirgin bir şekilde etkilendiği gözlemlendi. Yavruların ince bağırsaklarında emilim yapan hücrelerin mikrovilluslarında düzensizlik ve kayıplar saptandı. Sonuç olarak süt verme evresinde anneye uygulanan ince bağırsak obstrüksiyonunun, annenin emilim mekanizmasında aksaklıklara neden olduğundan, uygulanan obstrüksiyondan, yavruların da etkilendiği kanısına varıldı.

TEŞEKKÜR

Deneylerimiz sırasında katkılarından ve desteğinden dolayı üniversitemiz Plastik Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç. Dr. M. Sühan AYHAN'a teşekkür ederiz.

Yazışma Adresi

Araş. Gör. Fatma Helvacıoğlu
G.Ü.T.F. 06500 Beşevler-Ankara
Tel: 0312 202 47 26 Fax: 0312 212 46 47

KAYNAKLAR

1. Shamirzaev NK, Nazarova DE. Morphofunctional changes in the small intestinal mucosa in dynamics of physiological pregnancy and lactation. *Pediatr Res* 2001; 49: 189-196.
2. Petrakins I, Sciacca V, Vrachasstakis M, Chalkiadakis G. Separate sac of peritoneum: A cause of intestinal obstruction. *Am J Gast* 1999; 94: 518-519.
3. Prall RT, Bannon MP, Brarucha AE. Meckels diverticulum causing intestinal obstruction. *Am J Gast* 2001; 96: 3426-3427.
4. Lewiski MJB, Brown SP, Murchison JJ. Small bowel obstruction the water soluble follow-through revisited. *Clin Rad* 2003; 58: 393-397.
5. Miller G, Bomanj J, Shrier I, Gordon PH. Etiology of small bowel obstruction. *Path J Surg* 2000; 180: 33-34.
6. Peck JJ, Milleson J, Phelan J. The role of computed tomography with contrast and small bowel follow-through in management of small bowel obstruction. *Am J Surg* 1999; 177: 375-378.
7. Tien Y, Lee P, Chang K. Enterolith an unusual case of affect loop obstruction. *J Gast* 1999; 94: 1391-1392.
8. Gabelle G, Bertoni S. Hypertrophy of mucosa and serosa in the obstructed intestine of rats. *J. Anat.* 2001; 199: 725-734.
9. Gabelle G. Hypertrophy of intestinal smooth muscle cell. *Tiss. Res.* 1984; 235: 275-283.
10. Gabelle G. Hypertrophy of intestinal smooth muscle. *Tiss. Res.* 1975; 163: 199-214.
11. Goodland RA, Wright NA. Changes in intestinal cell proliferation, absorptive capacity and structure in young, adult, and old rats. *J. Anat.* 1990; 173: 109-118.
12. Michailova K, Wassilev W, Wedel T. Scanning and transmission electron microscopic study of visceral and parietal peritoneal regions in the rat. *Annals of Anatomy* 1999; 181: 253-260.
13. Penzes L, Regius O. Changes in the intestinal microvillus surface area during reproduction and aging in female rats. *J Anat.* 140: 389-396.
14. Onori P, Franchiito A, Sferra R, Vetusch Gaudio E. Peyer's patches epithelium in the rat. A morphological, immunohistochemical, and morphometrical study. *Dig. Dis. Sci.* 2001; 46: 1095-1104.
15. Webler R, Ecknauer R, Vadakel T. Intestinal morphology and cell production in aging rats. *Jour Geron* 1982; 37: 151-155.
16. Hadzijahic N, Renchan WE, Chan KM, Zhang M, Fogel R. Myenteric plexus destruction alters morphology of rat intestine. *Gastroenterology* 1993; 105: 1017-1028.
17. Mathan M, Hermos JA, Trier JS. Structural features of epitheliome-senchymal interface of rat duodenal mucosa during development. *J Cell Bio* 1972; 52: 577-588.