T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARELERDE, GEBELİĞİN FARKLI DÖNEMLERİNDE İNCE BAĞIRSAK DOKUSUNDAKİ DEĞİŞİKLİKLERİN HİSTOLOJİK, ENZİM HİSTOKİMYASAL VE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ

Erhan ŞENSOY

DOKTORA TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Yasemin ÖZNURLU

KONYA-2013

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARELERDE, GEBELİĞİN FARKLI DÖNEMLERİNDE İNCE BAĞIRSAK DOKUSUNDAKİ DEĞİŞİKLİKLERİN HİSTOLOJİK, ENZİM HİSTOKİMYASAL VE İMMÜNOHİSTOKİMYASAL YÖNTEMLERLE BELİRLENMESİ

Erhan ŞENSOY

DOKTORA TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ (VET) ANABİLİM DALI

Danışman
Doç. Dr. Yasemin ÖZNURLU

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 09202056 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2013

1. GİRİŞ

Fareler; omurgalılar şubesinin, memeliler sınıfının, kemiriciler takımında yer alan omnivor hayvanlardır. Aktif ve yüksek bir metabolizmaya sahip olan farelerin, kromozom sayısı 2n: 40'tır (Çay 1975). Kolay yetiştirilmesi, yetiştirme masrafının az olması, gebelik süresinin kısa olması, genetik çeşitliliğinin bulunması ve çok sayıda üretilebilmesi nedeniyle fareler histolojik ve embriyolojik çalışmalarda önemli bir yere sahiptir. Farelerde çiftleşmeden sonra vajinada sperm ve vajinal salgıların pıhtılaşmasıyla vajinal plak şekillenmektedir. Bu plağın şekillenmesi gebeliğin başladığını göstermektedir (Çay 1975, Zutphen ve ark 2003).

Çizelge 1.1. Farelerle ilgili genel bilgiler (Zutphen ve ark 2003).

Gebelik süresi:	19–21 gün
Doğum ağırlığı:	1-2 gr
Laktasyon süresi:	18-21 gün
Erginlik ağırlığı:	30-40 gr
Yavru sayısı:	6–12 adet
Ortalama ömürleri:	18-24 ay

1.1. Gebelik Döneminde Memelilerde Meydana Gelen Değişimler

Gebeliğin başlangıcından itibaren, yani fertilizasyondan hemen sonra tüm organizmada önemli değişimler meydana gelir. Bu değişimlerin hangi organlarda daha fazla hangilerinde daha az gerçekleştiğinin araştırılması, değişimlerin anneye ve yavruya olan etkilerinin belirlenmesi önemlidir (Fell 1977, Rolls ve ark 1979).

Gebelikte anne vücudunda meydana gelen değişimler türe özgü olarak farklılık gösterse de memelilerde görülen değişimlerin çoğu ortaktır (Robinson 1986). Memelilerde gebelik döneminde bazı organların büyüklüğünde ve fonksiyonunda değişimler görülür (Hiramatsu ve Yasugi 2004). Gebelik dönemindeki koyunlarla yapılan çalışmalarda; meme dokusunun gebelik ve süt verme dönemlerinde hipertrofiye uğradığı, uterus ağırlığının arttığı, duvarının inceldiği ve hacminin genişlediği belirtilmiştir (Hytten ve Paintin 1963, Anderson ve ark 1970, Robinson 1986). Gebelik sürecinin sonunda olan bir koyunun karaciğerinin, gebe

olmayana göre %23 daha ağır olduğu ifade edilmektedir (Lodge ve Heaney 1973, Robinson 1986). Ratlarla yapılan çalışmalarda, gebelik ve süt verme döneminde; başta ince bağırsaklar olmak üzere bazı doku ve organların ağırlıklarında anlamlı artışların meydana geldiği, ayrıca ince bağırsak duvarının kalınlaştığı saptanmıştır (Hytten ve Leitch 1971, Burdett ve Reek 1979, Robinson 1986). Ratlarda gebelik döneminde, ince bağırsakta mukozal epitel hücrelerinin bölünme hızının arttığı, ağırlığının %30–40 oranında bir artış gösterdiği ve ince bağırsak dokusunun protein oranının %140–150 oranında arttığı ifade edilmektedir (Burdett ve Reek 1979). Casirola ve Ferraris (2003), hiç doğum yapmamış, bir kere doğum yapmış ve birden çok doğum yapmış fare grupları ile yaptıkları çalışmada; ince bağırsakların uzunlukları, ağırlıkları ve villus yüksekliklerinde görülen değişimleri incelemişlerdir. İnce bağırsak uzunluğu ve ağırlığının gebelik sürecinde %30–40 oranında arttığını, villus yüksekliğinin ise gebelik boyunca artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Araştırıcılar sonuç olarak; hiç doğum yapmamış gruba göre, tek doğum yapanlarda söz konusu değerlerin arttığını, birden çok doğum yapanlarda ise bu artışların maksimum seviyeye ulaştığını belirtmişlerdir. Millican ve ark (1987), farelerde gebelik ve süt verme dönemlerinde karaciğerde, gastrointestinal sistemde ve iskelet kaslarında hipertrofi meydana geldiğini; süt verme döneminin 15. gününde karaciğerin %8,3 sindirim sisteminin %12 ağırlaştığını bildirmektedir. Sorkun ve Özdamar (2005), gebelik döneminde farelerde ince bağırsak epitelinde hiperplazi ile bağırsağın total emilim kapasitesinde artışlar görüldüğünü belirtmişlerdir. Araştırıcılar, gebelik sürecinde gastrin salgılayan hücrelerin artmasıyla, ince ve kalın bağırsakta kadeh hücre sayısında artış, villus ve kriptlerde olgunlaşma görüldüğünü ifade etmişlerdir.

Ratlarda ince bağırsaklar gebelik ve özellikle süt verme döneminde yapısal ve işlevsel açıdan değişiklik gösterir. Gebelik süresince besin tüketimindeki hızlı artış süt verme döneminde de artarak devam eder. Ratlarda besin tüketimi gebelik döneminde %35, süt verme döneminde %350 artar (Palmer ve Rolls 1980). Farelerin gebelik ve süt verme dönemlerinde besin ihtiyaçlarının önemli derecede arttığı, beyaz ve esmer yağ dokusunda lipogenezisin azaldığı ifade edilmiştir (Baumann ve Eliot 1983, Millican ve ark 1987). Besin ihtiyacının artması; ince bağırsaklarda ağırlık artışına, ince bağırsaktaki bezlerin salgı miktarında ve villusların emilim gücünde artışa neden olmaktadır (Baumann ve Eliot 1983, Millican ve ark 1987). Bağırsakta görülen bu değişiklikler artan besin alımı ile paralel şekilde gerçekleşmektedir.

Gebelik döneminde bazı hormon ve enzim seviyelerinde meydana gelen değişimler, başta sindirim sistemi olmak üzere vücuttaki tüm sistemlerde değişimlere yol açar (Steeb 1995). Gebelikte sindirim sisteminde görülen değişimlerden büyük oranda progesteron hormonu sorumludur. Progesteron hormonu sindirim sistemindeki düz kasları gevşetir, östrojen de daha az belirgin olmak üzere benzer etkiye sahiptir. Bu durum sindirim sistemini doğrudan etkilemekte ve sindirim aktivitesinin yavaşlamasına neden olmaktadır. Koyunlarda gebelik döneminde, gebelik öncesi döneme göre rumende besin tutulmasında azalma olduğu belirtilmiştir (Robinson 1986). Ratlarda, ince bağırsaklarda ve pankreasta bazı enzim (alkalen fosfataz, asit fosfataz, isositrik dehidrogenaz, glikoz-6-fosfataz) seviyelerinde, gebelik ve süt verme dönemlerinde artış olduğu, süt verme döneminin 3. haftasında bu enzim değerlerinin maksimum dereceye ulaştığı ifade edilmektedir (Fell 1977, Rolls ve ark 1979, Palmer ve Rolls 1980). Buna karşın Burdett ve Reek (1979), ratlarda isositrik dehidrogenaz ve glikoz–6-fosfataz enzimlerinin gebelik döneminde spesifik aktivitelerinin olmasından dolayı yükseldiğini, fakat süt verme döneminde belirtilen enzim değerlerinde azalma olduğunu bildirmişlerdir. Younoszai ve Ranshaw (1976), normal ve diyabetik farelerin gebe ve gebe olmayan bireylerinde, proksimal, distal ve orta bağırsakta laktaz, sükraz ve maltaz enzimlerinin etkilerini araştırmışlardır. Araştırıcılar; gebelik döneminde insülin uygulanmasının diyabetik ratlarda, bağırsak hipertrofisini engellediğini ve mukozal disakkaridaz aktivitesinde azalma meydana getirdiğini, normal ratlarda ise disakkaridaz aktivitesinin artmasına neden olduğunu belirtmişlerdir. Obez farelerde ince bağırsak alkalen fosfataz aktivitesinin sütten kesildikten sonra da artmaya devam ettiği ifade edilmektedir (Mozes ve ark 2004).

Anne vücudunda protein sentezinin en hızlı olduğu dönem gebelik ve süt verme dönemidir (Millican ve ark 1987). Gri foklarda doğumdan sonra üretilen protein ve yağ oranı bakımından zengin olan besleyici anne sütü sayesinde yavruların günde ortalama 1,5 kg canlı ağırlık kazandıkları ifade edilmektedir (Robinson 1986). Ratlarda ince bağırsaklardaki protein oranının; gebelik döneminde %30–40, süt verme döneminde ise %140–%150 oranında arttığı ifade edilmektedir (Burdett ve Reek 1979). Bu değişimler; gebelik ve süt verme dönemlerindeki ratlarda dipeptitlerin spesifik aktivitelerinde önemli artışlara neden olmakta, buna bağlı olarak protein yoğunluğu ve mukozal epitelyumun ağırlığı da paralel şekilde artırmaktadır (Burdett ve Reek 1979). Gebelik öncesi günlerde, farelerin kanındaki protein miktarı 640 mg/gün iken, gebeliğin 18. gününde 1590 mg/güne, süt vermenin 15. gününde ise

2100 mg/güne yükseldiği belirtilmiştir (Millican ve ark 1987). Liuzzi ve ark (2003), ratlarda gebelik döneminde ince bağırsak, karaciğer ve meme dokusunda çinko taşıyıcı proteinlerin varlığını araştırdıkları çalışmalarında; özellikle zinc transporter-4 proteinin gebelik sürecinde artış gösterdiğini belirtmektedirler. Bu dönemde karaciğerde ve sindirim sisteminde protein sentezinin artmasının nedeni, fetüsün ve plasentanın gelişimidir.

Gebelikte bazal metabolizmanın artmasıyla enerji ihtiyacı da artar. Gebe sığırların enerji ihtiyacının gebe olmayanlara göre en az %50 oranında arttığı ifade edilmiştir (Prentice ve ark 1996). Buna karşın, gebelikte bazal metabolizmanın artmasıyla enerji ihtiyacının artmayacağı, hatta azalacağını belirten çalışmalar da vardır. Scheaffer ve ark (2003), sığırlarda yaptıkları çalışmada gebe sığırların karaciğer ve ince bağırsak dokularında gebe olmayanlara göre protein oranının azaldığını, enerji tüketiminin düştüğünü ifade etmektedirler. Bu azalmanın nedenini; anne vücudunun gebelikte bazal metabolizmasını daha etkin olarak kullanması ve metabolizmasının etkinliğini artırması olarak açıklamışlardır. Çalışmada, karaciğer ve ince bağırsaktaki büyüme ve hücre proliferasyonundaki kısmi farklılıklar da enerji kullanımını azaltan etmenler olarak sıralanmıştır.

1.2. İnce Bağırsak Embriyolojisi

Memelilerde ince bağırsağın gelişimi vitellüs kesesinin bir bölümünün embriyo içerisinde katlanması ile başlar (Helvacıoğlu 2004). Primitif (ilkel) bağırsak adı verilen bu yapı; ön, orta ve son bağırsak bölümlerine ayrılır. Sefalik bölgede ön bağırsak, vitellüs kesesi ile ilişkisini sürdüren kısımda orta bağırsak ve klokal membran ile ilişkili olan bölgede ise son bağırsak yer alır. Ön bağırsak; özafagus, mide, duodenumun 1/3'lük proksimal bölümü, karaciğer, safra kesesi ve pankreası oluşturur. Orta bağırsak; duodenumun 2/3'lük kaudal bölümünü ve transvers kolonun 2/3'lük proksimalini yapar. Ön bağırsağın distali ve orta bağırsağın başlangıcı duodenumu oluştururken, jejunum ve ileum orta bağırsaktan gelişir (Larsen 1993, Moore ve Persaud 1998, Helvacıoğlu 2004, Sadler 2005). Son bağırsak ise transvers kolonun 1/3'lük distalinden başlayarak colon ascendes, colon sigmoidea, ve colon descendes'i şekillendirir (Larsen 1993, Moore ve Persaud 1998, Helvacıoğlu 2004, Sadler 2005). Bağırsak kanalı epiteli endodermden, bağırsak duvarının kas, bağ dokusu ve peritoneal yapıları splanchnic mezodermden gelişir (Moore and Persaud 2002, Sadler 2005).

Dunn (1967), fötal dönemde farede ince bağırsak gelişimini incelediği çalışmasında, 13. günde ince bağırsak epitelini kuşatan mezenşimde bir değişimin olmadığını, 14. ve 15. günde bağırsak epiteli hücrelerinin uzamaya başladığını ve lümenin küçüldüğünü, 16. günde epitelin çok katlı olduğunu ve lümenin daraldığını ifade etmiştir. 17. günde ince bağırsak çapının arttığını, lümenin genişlediğini, epitelin nispeten inceldiğini ve epitel alanının genişlediğini, 18. günde villus oluşum sürecinin başladığını ve hücrelerde mitokondriyon, ribozom ve endoplazmik retikulum başta olmak üzere organel sayılarında artış görüldüğünü bildirmiştir. Aynı araştırıcı, 19. günde ince bağırsağın tüm bölümlerinde villusların çok ince bir halde görülebilir olduğunu, 20. günde villusların kalınlaştığı ve sayısının artmaya devam ettiğini, mikrovillusların uzadığını ve sayılarının artarak terminal ağın (web) şekillendiğini ve 21. günde ince bağırsak mukozal membranının farklılaşmasını tamamladığını ifade etmiştir. Araştırıcı, özellikle 14. ve 17. günler arasında mitozun çok hızlı olduğunu belirtmiştir.

Steeb (1995), ratlarda postnatal dönemde ince bağırsak gelişimini incelediği çalışmasında, doğumdan sonraki 2. günde villus epitelinde mitozun hızlandığını ve kadeh hücrelerinin sayısının arttığını, 5. günde ise kriptlerin derinleştiği ve kadeh hücrelerinin sayısının daha da arttığını ifade etmiştir. Aynı araştırıcı, 11. günde villusların belirgin olarak uzadığı, kadeh hücre sayısının artmaya devam ettiği; 15. günde ise ince bağırsak epitelindeki kadeh hücre sayısının daha da artarak kriptlerde yoğunlaştığını bildirmiştir. Yirminci günde kadeh hücrelerinin ince bağırsakta oldukça fazlalaştığı ve distal bağırsak bölgelerinde proksimale nazaran daha fazla olduğu; 30. günde ince bağırsak villus yüksekliğinin ve kript derinliğinin proksimalde distalden daha az olduğu ve Lieberkühn kriptlerinin oldukça fazla olduğunu belirtmiştir. Özdemir ve ark (2004), kobaylarla yaptıkları çalışmalarında, duodenumda gözlenen villusların, kriptlerin doğuşta mevcut olduğunu, yaşın ilerlemesiyle bu yapıların sayısında ve büyüklüklerinde artışların tespit edildiğini belirtmişlerdir. On dördüncü günde villus yüksekliğinde ve kript derinliğinde önemli artışların gözlendiği belirtilen çalışmada; villuslardaki kadeh hücrelerinin, kriptlerdeki kadeh hücrelerinden daha uzun ve dar oldukları ifade edilmiştir. Wang ve ark (2003), yeni doğan yavru ratların ince bağırsak gelişimlerini inceledikleri çalışmalarında; doğumdan sonra 3. aya kadar hem villus yüksekliğinde, hem de PCNA pozitif hücre sayısında artış olduğunu, 3. ayda her iki parametrenin maksimum seviyeye ulaştığını, 3. aydan sonra değerlerin zamanla azalarak normal seviyelerde seyrettiğini bildirmişlerdir.

1.3. İnce Bağırsak Anatomisi

Memelilerde ince bağırsak, sindirim yanında emilimin de gerçekleştiği, bu faaliyetlerde rol alan enzim ve hormonları salgılayan sindirim sisteminin en uzun bölümüdür. Pyloris ve sekum arasında uzanan ince bağırsak; karın ve pelvis boşluğunun orta ve alt kısmında kıvrımlar halinde bulunur ve başlangıç yerinden bitiş yerine doğru gidildikçe çapı daralır (Moore ve Persaud 2002, Hatiboğlu 2003, Doğan 2008). Ön tarafta omentum majus ve karın ön duvarı ile komşudur (Doğan 2008). Küçük bir bölümü pelvis boşluğuna girerek rektum önünde yer alır (Dursun 2001, Sunar 2008). İnce bağırsak, pyloristen başlayarak valvula ileocaecalis'e kadar uzanır. Pyloris, ince bağırsak içeriğinin mideye; valvula ileocaecalis ise, kalın bağırsak içeriğinin ince bağırsağa geçişini önler (Hatiboğlu 2003). İnce bağırsak; duodenum, jejunum ve ileum olmak üzere üç bölüme ayrılır. Duodenumun bulbusu intraperitoneal, geri kalan kısmı ise ikincil retroperitonealdir. Jejunum ve ileum ise intraperitonealdir (Arıncı ve Elhan 2006, Doğan 2008).

1.3.1. Duodenum Anatomisi

İnce bağırsağın en geniş çaplı, en kısa, en kalın duvarlı ve en az hareketli olan bölümüdür (Hatiboğlu 2003, Doğan 2008). Memelilerde açıklığı sola bakan ″C″ harfine benzeyen yarım halka şeklindedir ve ″C″nin konkavına caput pancreatis oturur. Bulbus kısmı dışında, arka yüzü peritonsuz olduğu için karın arka duvarına yapışıktır. Duodenumun tümü göbek düzeyinin yukarısında bulunur (Gökmen 2003, Arıncı ve Elhan 2006, Doğan 2008).

1.3.2. Jejunum Anatomisi

İnce bağırsağın 2/5'lik proksimal kısmını oluşturan jejunum, mesenterium denilen yelpaze şeklinde iki katlı bir periton yaprağı ile karın arka duvarına asılıdır (Gökmen 2003). Jejunum bağırsakların esas kısmı olup, mesenteriumun tutunduğu şerit biçimindeki dar çizgisi dışında her tarafı peritonla örtülüdür (Doğan 2008). Karın boşluğu içinde kıvrımlar yaparak yerleşmiş olan jejunum ve ileum arasında kesin bir sınır yoktur (Gökmen 2003, Arıncı ve Elhan 2006, Doğan 2008).

1.3.3. İleum Anatomisi

İleum karın boşluğunun hemen ortasında yer alır ve çapı en az olan ince bağırsak bölümüdür (Gökmen 2003, Arıncı ve Elhan 2006, Doğan 2008). Duvarı ince ve daha az damarlı olduğu için mukozası daha soluk görünür. Mesenteriumun iki yaprağı arasında kalan bölümü dışında ileumun her tarafı periton ile örtülüdür (Ekin 2007).

1.4. İnce Bağırsaktaki Mukozal Yüzey Farklılaşmaları

İnce bağırsakta emilim yüzeyini artırmak için, dairesel katlantılar ya da spiral kıvrımlar (Plika Sirkülarisler, Kerkring plikaları), bağırsak villusları ve mikrovilluslar olmak üzere üç çeşit yüzey farklılaşması görülmektedir. Dairesel katlantılar yüzey alanını 3, villuslar 10, mikrovilluslar 20 kat artırmaktadır. Tümü birden yüzey alanını yaklaşık 600 kat artırmaktadır (Erdoğan ve ark 1996, Junqueria ve ark 1998, Gartner ve Hiatt 2001, Doğan 2008).

1.4.1. Dairesel Katlantılar (Plika Sirkülarisler)

Dairesel (spiral) katlantılar, mukozayla submukozayı kapsayan ve bu tabakaların birlikte yaptığı sirküler, spiral ya da yarım ay şeklindeki mikroskobik kıvrımlar olup; bağırsak eksenine dik olarak yerleşmiş yapılardır (Loehry ve Creamer 1969, Sunar 2008). Jejunumun proksimal bölümünde çok sayıda ve büyük olup, makroskobik olarak izlenebilirler (Arıncı ve Elhan 2006, Doğan 2008). İleumun ortasına kadar olan bölümde sayıları giderek azalır, hacimsel olarak küçülürler ve ileumun distal bölümüne doğru da kaybolurlar (Junqueria ve ark 1998, Yener 1998, Gartner ve Hiatt 2001, Gökmen 2003, Doğan 2008, Sunar 2008).

1.4.2. Villuslar

Damardan zengin, parmak şeklinde küçük çıkıntılar olan villuslar, ince bağırsağın tüm yüzeyinde bulunur ve bağırsağın iç yüzeyine kadife görünümü verirler. Bir villusun apeks, korpus ve basis olmak üzere üç kısmı vardır. Her villus etrafından kript denilen epitel çöküntüsüyle çevrelenir. Villus boyu ile kript derinliği arasındaki oran, ince bağırsağın fonksiyonel matürasyonu ile bağıntılıdır. Duodenumda ve jejunumda çok sayıda geniş ve

yassı; ileumda ise sayıları az ve silindirik şekillidirler (Erdoğan ve ark 1996, Gartner ve Hiatt 2001, Arıncı ve Elhan 2006, Doğan 2008). Villuslar tek katlı prizmatik epitel hücreleri ile örtülmüştür. Villusların yapısında bulunan elastik lifler, kas tellerinin yayılışı ve lokalizasyonu villusların fonksiyonu bakımından çok önemlidir (Erdoğan ve ark 1996).

1.4.3. Mikrovilluslar

Mikrovilluslar, bağırsak villuslarının abzorptif epitel hücrelerinin apikal yüzlerini örten epitel hücrelerinin yüzey özelleşmeleridir. Bir miktar sitoplazma ile birlikte hücre zarının lümene doğru yaptığı parmaksı çıkıntılar olup, boyları 1µm'nin altındadır (Akay 2004, Kierszenbaum 2006, Doğan 2008). Mikrovillusların yüzeyinde glikokaliks örtüsü bulunur. Mikrovilluslar ve glikokaliks ışık mikroskobunda açık bir şekilde görülememekle birlikte, enine çizgiler halinde sezilebilir ve bu yüzden mikrovilluslu yüzeylere fırça kenar ya da çizgili kenar da denir. Mikrovilluslar hücre yüzeyine dik olarak yerleşmiştir ve eşit boydadırlar. Bu nedenle çizgili kenar ya da fırça kabuk olarak isimlendirilirler (Erdoğan ve ark 1996, Gartner ve Hiatt 2001, Ross ve ark 2003, Akay 2004, Doğan 2008).

1.5. İnce Bağırsak Histolojisi

İnce bağırsaklar içten dışa doğru; tunika mukoza, tunika muskularis ve tunika seroza olmak üzere üç tabakadan meydana gelmektedir (Sturkie 1965, Leeson ve Leeson 1966, Bloom ve Fawcett 1975, Yener 1998, Tanyolaç 1999, Junqueira ve Carneiro 2005, Sunar 2008).

1.5.1. Tunika Mukoza

Tunika mukoza; lamina epiteliyalis, lamina propriya, lamina muskularis ve submukoza olmak üzere dört tabakadan oluşur.

Lamina epiteliyalis

Tek katlı yüksek prizmatik hücrelerden oluşmuştur (Erdoğan ve ark 1996). Bu bağırsak bölümünde; emilim yapan hücreler, kadeh hücreleri, enteroendokrin hücreler, kök

hücreler, M-hücreleri ve Paneth hücreleri olmak üzere altı tip hücre vardır (Erdoğan ve ark 1996, Hatiboğlu 2005, Doğan 2008).

Emilim yapan hücreler (Enterositler)

Epiteldeki hücrelerin çoğunluğunu oluşturan, prizmatik şekilli hücrelerdir (Erdoğan ve ark 1996, Doğan 2008). Son sindirim ürünlerinin ve suyun emilmesi, sindirim yüzeyinin korunması ve yağ asitlerinin trigliseritlere ve sonuçta şilomikronlara çevrilmesi gibi görevleri vardır (Erdoğan ve ark 1996, Gartner ve Hiatt 2001, Doğan 2008). Enterositlerin apikal yüzünde çizgili kenarı oluşturan mikrovilluslar bulunur. Apikal sitoplazmada gelişmiş terminal ağ görülür. Hücre sitoplazmasında gelişmiş golgi kompleksi, mitokondriyonlar, granüllü ve granülsüz endoplazmik retikulum iyi gelişmiş organellerdir (Çelik ve Açıkgöz, 2006).

Bağırsağın kript epitel hücreleri devamlı çoğalıp yeni enterositler oluşturarak villusların tepesine göç ederler. Bu göç esnasında yaşlanan enterositlerin villus tepesinden lümene dökülmeleri sonucunda bağırsaklarda sürekli bir yenilenme süreci gerçekleşmektedir. Kriptlerden villus tepesine doğru gerçekleşen bu göç sürecinde hücreler farklılaşarak; sindirim, emilim ve müsin sekresyonu fonksiyonları kazanırlar (Uni ve ark 2006, Özaydın 2009). Bu göçe; enterositlerdeki enzimatik profil ve mitokondriyal enzimlerin neden olduğu sanılmaktadır (Burdett ve Reek 1979). Omurgalılar arasında enterosit proliferasyon alanı ve enterosit göç oranları farklılık gösterir (Burdett ve Reek 1979). Çoğu memelide proliferasyon olayı, villusların bazalindeki kriptler ile sınırlıdır. Villusların apeksine doğru göç eden hücreler fonksiyonel bakımdan özelleşerek bölünme yeteneklerini kaybederler. Aşağı sınıf omurgalılarda (amfibi, kaplumbağa) proliferasyon mukozal kıvrımlar arasında gerçekleşir ve yüksek yapılı omurgalılardaki kadar belirgin proliferasyon bölgesi bulunmaz. İnce bağırsak kriptleri çoğu memelide, prenatal dönemde düz seyirli intervillus epitelinden gelişir. Kanatlıda prenatal dönemde DNA sentezi ve hücre proliferasyonu villusların tüm uzunluğu boyunca yaygınken, kuluçkadan çıkıştan sonra kript bölgesiyle sınırlıdır (Uni ve ark 2006, Özaydın 2009).

Kadeh hücreleri (Goblet hücreleri)

Kadeh hücreleri tek hücreli endoepiteliyal bezler olup, emilim yapan prizmatik epitel hücrelerinin arasında bulunurlar. Kadeh hücrelerinin çekirdeği basıklaşarak, hücrenin dar olan

bazal kısmında konumlanmıştır (Diler ve ark 2009). Hücrenin 2/3'lük apikal kısmı, açık boyanan salgı granülleriyle dolu olması nedeniyle genişlemiştir (Erdoğan ve ark 1996, Doğan 2008). Kadeh hücrelerinin sayısı duodenumda az olup, ileuma doğru gidildikçe artar (Bloom ve Fawcett 1975, Ross ve Romrell 1995, Junqueira ve Carneiro 2005, Sunar 2008). İleum villuslarındaki kadeh hücrelerinin sayısı, jejunumdakilerin yaklaşık iki katıdır (James ve ark 1988). Kadeh hücrelerinin sayısı yaşla birlikte artmaktadır (Wang ve ark 2003). Kadeh hücreleri, kriptlerin bazalindeki pluripotent kök hücrelerden ya da oligomukus hücrelerinden farklılaşırlar (Uni ve ark 2006, Özaydın 2009). Bu hücreler 2-3 günlük bir süreçle villus ucuna doğru göç ederek buradan lümene dökülürler. Bu nedenle kadeh hücreleri kısa ömürlü olup, sürekli yenilenirler (Uni ve ark 2006, Özaydın 2009).

İntestinal kanal epiteli bir mukus katmanı ile kaplıdır. Bu katman lüminal içerik ve epitel hücreleri arasında yerleşmiştir (Allen ve ark 1993, Gu ve ark 2002). Kadeh hücreleri mukus katmanının korunması için müsin glikoproteinleri üretir (Loehry ve Creamer 1969, Sunar 2008). Müsin glikoproteinleri; kadeh hücreleri ile bez epitel hücreleri tarafından salgılanan mukus örtünün büyük kısmını oluşturan kompleks ve heterojen moleküllerdir (Rose 1992, Diler ve ark 2009). Asidik ve nötral alt tipleri bulunan müsinler aynı zamanda sülfatlı ve non-sülfatlı gruplarıyla ayırt edilirler. Müsin molekülleri kadeh hücrelerinden salgılanmadan önce membranla çevrili iri granüllerde toplanır ve kadeh hücresinin apikal yüzeyinden ya ekrin sekresyonla veya bileşik ekzositozla salgılanırlar (Forstner ve ark 1995). Müsin tipi glikoproteinler birçok bakteri türünün agregasyonuna yol açar ve patojenik bakterilerin bağırsak epiteline tutunmasını engeller. (Gartner ve Hiatt 2001, Kierszenbaum 2006, Ekin 2007, Sinanoğlu 2007, Doğan 2008). Mukus katmanı, bu özelliklerinden dolayı enfeksiyonda yangısal cevabı düzenleyen vücut savunma mekanizması öğelerinden birisi olarak görev yapar (Allen ve ark 1993, Adipmoradi ve ark 2006, Sunar 2008, Özaydın 2009).

Enteroendokrin hücreler

Gümüş ve krom tuzlarıyla boyandıkları için Arjentaffin ya da Arjirofilik hücreler olarak da bilinirler (Erdoğan ve ark 1996, Eroschenko 2001, Hatiboğlu 2005, Doğan 2008). Çoğunlukla bağırsak bezlerinin (Lieberkühn kriptlerinin) bazalinde lokalize olan bu hücre tipi, ince bağırsak hücre topluluğunun %1'ini oluşturur (Gustafsson 2005). Tüm gastrointestinal kanala yayılmış olup, sayıları duodenumdan ileuma gidildikçe azalır. Enteroendokrin hücreleri epitel hücrelerinden ayıran fark; sitoplazmalarının bazaline

yerleşmiş olan gümüşle boyanan ince granülleri ve granüllerin üst kısmında yer alan çekirdekleridir. Enteroendokrin hücreler; sekretin, gastrin, kolesistokinin gibi bazı gerçek peptit hormonları üretirler. Enteroendokrin hücre sistemindeki lokal hormonların çoğu ince bağırsaktan, özellikle de duodenum mukozasından salgılanır. Bu hücrelerden amin içerenlerin saptanmasında argentaffin, polipeptid içerenlerin saptanmasında ise argirofil boyama yöntemleri uygun olmaktadır (Erdoğan ve ark 1996, Eroschenko 2001, Hatiboğlu 2005, Doğan 2008).

Enteroendokrin hücreler salgılarını kana ya da hedef hücreye verirler. İki farklı tip enteroendokrin hücre vardır. Bunlardan birincisi olan açık tip hücreler (spherical to spindle shaped open type); bağırsaklarda bulunurlar ve yuvarlaktan mekiğe kadar değişen şekle sahiptirler. İkinci tip hücreler ise kapalı tip hücreler (round to spherical shaped closed type); ovalden yuvarlağa kadar değişen şekle sahip olup midede bulunurlar (Ku ve ark 2004, Özaydın 2009). Açık tip hücreler lümen içeriğini denetlerler, apikal yüzeylerinde mikrovilluslar bulunur ve hücreler lümene kadar ulaşırlar (Eroschenko 2001, Doğan 2008). Kapalı tip hücreler; aralarında gastrik inhibitör peptid, sekretin, motilin ve kolesistokininin de yer aldığı hormonları salgılarlar. Bu hormonlar, gastrik ve pankreatik salgıların salınımını, bağırsak hareketlerini ve safra kesesinin kasılmasını denetler (Eroschenko 2001). Kapalı tip enteroendokrin hücrelerin apikal yüzleri epitel hücreleriyle örtülüdür ve lümene ulaşamazlar (Erdoğan ve ark 1996, Gartner ve Hiatt 2001, Ross ve ark 2003, Doğan 2008). Gastrit ve kanser gibi bazı hastalıklarda gastrointestinal endokrin hücrelerin dağılım ve sayılarında önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Beslenme alışkanlıklarının, gastrointestinal endokrin hücrelerin dağılımlarında ve sıklığında değişime yol açabileceği ifade edilmektedir (Belaiche ve ark 1993, Delwaide ve ark 1993, Scanziani ve ark 1993, Romero ve ark 1996, Ku ve ark 2005, Özaydın 2009).

Kök hücreler

Kriptlerin alt yarımında bulunan, mitotik aktiviteleri çok yüksek olan hücrelerdir. Kök hücreler; kadeh, Paneth ve epitel hücrelerine farklılaşarak onların yenilenmesini sağlarlar. Yeni oluşan hücrenin villusun tepesine kadar ilerleyip yerleşme süresi yaklaşık 5-7 gündür. Kök hücrelerin sitoplazmasında serbest ribozomlar ve bazale yerleşmiş ökromatik çekirdek yer alır. Apikal sitoplazmada salgı granülleri, mitokondriyumlar ve granüllü endoplazmik retikulum da bulunur (Gartner ve Hiatt 2001, Ross ve ark 2003, Doğan 2008).

M-hücreleri (Membran hücreleri)

Bağırsak lümeninden lamina propriyaya antijen taşıyan ve fagositoz yapabilen özelleşmiş epitel hücreleridir. (Erdoğan ve ark 1996, Junqueria ve ark 1998, Eroschenko 2001). M-hücreleri yassı şekilli olup, Peyer plakları üzerindeki epitel hücrelerinin arasında yerleşirler (Gartner ve Hiatt 2001, Doğan 2008). Az gelişmiş fırçamsı kenara sahip olan bu hücrelerin sitoplazmaları pinositik veziküller bakımından zengindir (Baştürk ve Boyacıoğlu 2005). Mukozal bağışıklığın sağlanmasında ve antijen sunumunda görev yaparlar (Takeuchi ve Gonda 2004). M-hücreleri ve bağırsak epitel hücrelerinin arasında intraepiteliyal lenfositler (İELs) bulunur; çoğu olguda buradaki lenfositler makrofajlarla birlikte sıkıca paketlenmiş durumdadırlar. M-hücreleri, makromolekül düzeyindeki intralüminal antijenleri apikal yüzeyleriyle lümenden alıp, veziküller halinde, ince olan sitoplazmalarından geçirerek bazal yüzlerinden lamina propriyaya verirler. Alınan bu antijenler, bazal yüze komşu konumda yuvalanmış ve bir arada sıkıca paketlenmiş olan lenfositler ile makrofajlara iletilir ve sonuç olarak bölgedeki lenf foliküllerinin germinal merkezinde bulunan plazmasitlerin Ig-A yapması sağlanır. Bu yolla şekillenen antikorlar, intralüminal toksinler yayan bakteri ve virüsleri nötralize ederek mukozal immunitede rol oynarlar (Tanyolaç 1999, Gartner ve Hiatt 2001).

Paneth hücreleri

Bağırsak bezlerinin en büyük hücreleri olan Paneth hücreleri, piramidal şekilli seröz hücrelerdir ve eozinofilik boyanırlar. Bağırsak bezlerinin tabanında yerleşik olup, ortalama yaşam süreleri yaklaşık 20 gündür (Liuzzi ve ark 2003). Sitoplazmaları asidofiliktir, gelişmiş Golgi kompleksine, granüllü endoplazmik retikuluma ve iri mitokondriyumlara sahiptirler. Apikal sitoplazmadaki salgı granülleri homojendir (Eroschenko 2001, Ross ve ark 2003). Paneth hücreleri; epitelin lümene bakan yüzeyini patojen mikroorganizmalardan koruyan Tümör Nekroz Faktör-α (TNF-α) ve lizozim gibi hücre ürünlerini salgılarlar. Paneth hücreleri ince bağırsak florasının denetlenmesinde ve düzenlenmesinde rol oynar (Canpolat ve Vardı 1999). Salgı aktiviteleri bağırsaktaki bakteriyel ortamla yakın ilişkilidir. Paneth hücresi eksikliğinde bakterilerin bağırsaktaki yayılımı artar (Erdoğan ve ark 1996, Junqueria ve ark 1998, Eroschenko 2001, Gartner ve Hiatt 2001, Ross ve ark 2003, Doğan 2008).

Lamina propriya

Kollagen iplikler yanında, elastik ve retikulum ipliklerini de içeren, hücreden zengin bir bağdokusu özelliğindedir. Bu bağdokusu içinde intestinal kriptler (Lieberkühn kriptleri) olarak adlandırılan ve anüse kadar devam eden oluşumlar bulunur. Çevresi gevşek bağ dokusu ile doldurulmuş olan bu kriptlerde bağırsak yüzey hücreleri, kadeh hücreleri, enteroendokrin hücreler, Paneth hücreleri ve matriks (kök hücre) hücreleri bulunmaktadır (Bloom ve Fawcett 1975, Dursun 2002, Sunar 2008).

Lamina propriyada yer alan lenfoid hücreler ve makrofajlar; antijenlere, mikroorganizmalara ve diğer yabancı materyallere karşı immünolojik bir bariyer oluşturduklarından lamina propriya immünolojik açıdan önemlidir (Aslankoç 2002). Lenf folliküllleri çoğu kez submukozadan lamina propriyaya doğru yayılırlar. Bu folliküller, tek tek veya gruplar (Peyer plakları-agregat lenf folliküllleri) halindedir. İntestinal tonsiller de denilen agregat lenf folliküllleri çoğunlukla ince bağırsağın ileum bölümünde yer almaktadır (Erdoğan ve ark 1996, Eroschenko 2001, Gartner ve Hiatt 2001, Doğan 2008).

Lamina muskularis

Birbirine dik konumda lokalize olan düz kas tellerinin oluşturduğu iki katman halindedir. Bu katmanlardan ayrılan kas telleri lamina propriyaya girerek kriptler arasında ve ince bağırsaklarda villusların uç kısmına kadar uzanırlar. Kaslar sindirim sırasında kasılarak; villus boyunun kısalıp uzamasını sağlarlar. Böylece sindirim kanalındaki yiyecekler karıştırılarak, ileri doğru itilir ve besin maddelerinin emilimi sağlanır (Erdoğan ve ark 1996, Gartner ve Hiatt 2001, Doğan 2008).

Submukoza

Gevşek bağ dokusudan oluşan kalın bir katmandır. Tek tek ya da gruplar halindeki lenf foliküllerini içerir. Bağırsakların sadece memelilerin duodenum bölümünün başlangıç kısmının submukozasında duodenal bezler (Brunner bezleri) bulunur (Browne 1922, Bloom ve Fawcett 1975, Sunar 2008). Duodenal bezler dallı tubulo alveoler bezler olup, asit mide

içeriğini nötralize eden bir salgı salgılar. Ayrıca, urogastron yaparak da midede HCl salgılanmasını engeller ve ince bağırsak kript epitelindeki proliferasyonu hızlandırırlar (Erdoğan ve ark 1996, Junqueria ve ark 1998, Eroschenko 2001, Gartner ve Hiatt 2001, Doğan 2008).

1.5.2. Tunika Muskularis

İçte sirküler (dairesel), dışta longitudinal doğrultulu düz kas tellerinden oluşan iki katman halindedir. İki kas katı arasındaki gevşek bağ dokuda sinir pleksusları, kan ve lenf damarları bulunur. İçteki kas katmanının kasılmasıyla, mideden gelen besinlerin sindirim enzimleriyle karışması ve mukoza ile ilişkisi sağlanır. Dıştaki kas katmanının kasılması ile bağırsak içeriği lümende ilerler (Erdoğan ve ark 1996, Junqueria ve ark 1998, Gartner ve Hiatt 2001, Doğan 2008).

1.5.3. Tunika Seroza

Vücut boşluklarındaki organların üzerini örten ince bir zardır. Bağ dokusunda sinir pleksusları, kan ve lenf damarları ile damarların yakınında mast hücreleri bulunur (Erdoğan ve ark 1996, Gartner ve Hiatt 2001, Kierszenbaum 2006, Doğan 2008).

1.6. Alkalen Fosfataz (ALP) Enzimi

Fosforik asit esterlerinin hidrolitik parçalanmasını katalizleyen enzimlere fosfataz grubu enzimleri denir. Bu grupta yer alan enzimler optimum aktivite gösterdikleri pH derecesine göre; Asit fosfatazlar (ACP) ve Alkalen fosfatazlar (ALP) olmak üzere iki gruba ayrılırlar (Henry 1996, Kaplan ve Pesce 1996, Uzunoğlu 1998). Asit fosfatazlar asidik pH'da (pH: 5), alkalen fosfatazlar alkali pH'da (pH: 10) maksimum aktivite gösterirler. Uluslararası Biyokimya Birliğinin (IUB) adlandırma sistemine göre alkalen fosfataz enziminin sistematik adı; Ortofosforik Monoester Fosfohidrolaz (Alkalen Optimum) E.C.3.1.3.1'dir (Burtis ve Ashwood 1999). Alkalen fosfatazlar tabiatta çok yaygın olarak bulunurlar. İnsan ve hayvan dokularının hemen hemen hepsinde, bazı bitki türlerinde, balıklarda, bakteri ve mantarlarda tespit edilmiştir (Simonopoulos ve Jencks 1994, Türköz ve Üstdal 1994, Uzunoğlu 1998). Alkalen fosfataz enzimi 20. yüzyılın başlarında ilk defa pirinçten izole edilmiştir (Simonopoulos ve Jencks 1994). Kanda ALP varlığı ilk kez Demuth tarafından 1925 yılında

(Jensen ve ark 1968, Uzunoğlu 1998); plasental-ALP ise ilk defa Fishman ve arkadaşları tarafından 1968 yılında tespit edilmiştir (Posen ve ark 1969, Kaplan 1972, Fishman 1974, Shane ve Suzuki 1974, Uzunoğlu 1998, Leitner ve ark 2001). Alkalen fosfatazın aktif bölgesinde iki Zn^{+2} iyonu ve bir Mg^{+2} iyonu bulunur. Enzim dimetrik yapıda olup, prostetik grubunu Zn^{+2} iyonu oluşturur (Ciancaglini ve ark 1992, Coleman 1992, Janeway ve ark 1993, Ma ve Kantrowitz 1994, Uzunoğlu 1998). Zn^{+2} iyonu; hem enzimin katalitik aktivitesini sağlar hem de, substrata bağlanmasında görev alır. (Ciancaglini ve ark 1992, Uzunoğlu 1998). Aktif bölgede yer alan serin aminoasidi, enzimin fosforilasyon dönüşümünü sağlar. İnce bağırsak alkalen fosfatazı için spesifik aktivatör sodyum deoksikolatdır. Alkalen fosfatazın molekül ağırlığı yaklaşık 120 kD'dur (Burtis ve Ashwood 1999).

Memelilerde alkalen fosfatazın başlıca kaynağı; karaciğer, ince bağırsak, pankreas, kemik, tiroid bezi, plasenta, meme bezleri, diş minesi ve testislerdir (Sakharov ve ark 1988, Klumpp ve Schultz 1990, Kumandaş ve Kurtoğlu 1992, Kaplan ve Pesce 1996, Uzunoğlu 1998). Doğada ALP'nin 11 farklı izoenzimi tespit edilmiş olmasına karşın insan serumunda 4 izoenzimi tespit edilmiştir. Bunlar kemik, karaciğer, ince bağırsak (intestinal) ve plasental izoenzimlerdir (Kaplan 1972, Fishman 1974, Shane ve Suzuki 1974, Galski ve ark 1981, Okamoto ve ark 1990, Uzunoğlu 1998, Burtis ve Ashwood 1999). Normal karaciğer fonksiyonu olan bir erişkinde serum ALP aktivitesinin %50'si karaciğer, %50'si kemik kökenlidir (Duman ve Erden 2004). Hayvan türleri arasında oldukça farklı değerler gösteren serum ALP aktivitesinin yaş, beslenme, açlık, çevresel değişimler gibi faktörlerin etkisi altında kalabileceği vurgulanmaktadır (Matsusawa ve ark 1993, Turgut 1995, Çenesiz ve ark 2011). Farklı kaynaklardan gelen ALP'nin moleküler yapıları farklılık göstermesine karşın hepsi glikoprotein yapısındadır (Coleman 1992, Ma ve Kantrowitz 1994, Uzunoğlu 1998). Alkalen fosfatazların karbonhidrat içerikleri de farklılık gösterir. Plasental alkalen fosfatazda fruktoz, mannoz, galaktoz bulunur (Eguchi 1995, Uzunoğlu 1998). İnsan karaciğer, kemik ve plasental alkalen fosfatazlarında siyalik asit bulunurken; ince bağırsak alkalen fosfatazında siyalik asit bulunmaz. Karaciğer alkalen fosfatazındaki siyalik asidin görevi bu enzimin aktivitesini düzenlemektir (Kaplan ve Pesce 1996, Uzunoğlu 1998). Fırça kenarda lokalize olan intestinal ALP, kolesterol, lipid, vitamin-D, kalsiyum, aminoasit ve glikoz absorbsiyonu olaylarında görev almaktadır (Uysal 2003). Oldukça stabil olan ALP aktivitesi bu özelliği nedeniyle ince bağırsak mukoza epiteli yüzey matürasyonu ve kondisyonunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Gu ve ark 2002, Özaydın 2009).

ALP aktivitesi, etkisini plazma membranı üzerinde gösterir (Uzunoğlu 1998, Özaydın 2009). ALP enzimi, emilim yapan hücrelerin hücre zarının dış yüzeyinde bulunur ve aktif taşıma olayını düzenler (Calbreath 1992, Kaplan ve Pesce 1996, Uzunoğlu 1998). Ayrıca, mikrovillus membranı ile emilim yüzeyi arasındaki enerji transferinin gerçekleşmesini sağlar (Fernley 1971, Palmer ve Rolls 1980). İnsanda ALP m-RNA ekspresyonu gebeliğin 7. haftasında plasenta dokusunda başlar ve giderek artar. ALP fetüsün gelişiminde önemli oranda rol alır (Uzunoğlu 1998). Gebeliğin son yarısında oluşan enzimlerin %50'si plasental orijinli olup, bunlardan en önemlisi ALP'dir (Jensen ve ark 1968, Shane ve Suzuki 1974, Uzunoğlu 1998). Gebeliğin plasental ve maternal dolaşımın henüz tam kurulmadığı erken döneminde gelişen sitotrofoblast ve onun endometriyumdaki besininin kaynağı arasındaki tek enzim ALP'dir (Posen 1967, Shane ve Suzuki 1974). Bu enzim fötal dolaşımdan çok maternal dolaşımla ilgilidir. Gebeliğin ilerlemesiyle birlikte artan ALP miktarı, büyüyen ve gelişen fetüs için önemlidir. ALP'nin fetüsün ihtiyaçlarının maksimum derecede karşılanmasında fonksiyonu olduğu düşünülmektedir (Okamoto ve ark 1990, Uzunoğlu 1998). Düşük yapan bireylerde plasentadaki ALP seviyesinin gebeliğin ilerleyen haftalarında artması gerekirken artmadığı, düşük seviyelerde kaldığı belirtilmektedir (Levine 1961, Jeacock ve ark 1963).

1.7. Proliferating Cell Nuclear Antigen (Prolifere Hücre Çekirdek Antijeni, PCNA)

Cyclinlerin bir üyesi olarak da bilinen PCNA; DNA'yı sararak yüzük gibi bir yapı oluşturan hücredeki yuvarlak şekilli (ring-shaped) tek proteindir (Kelman 1997, Avunduk ve ark 2000, Özaydın 2009). Bu şekliyle PCNA, farklı tipteki katalitik ve regülatör proteinler için kayan bir platform görevi yapar (Tsurimoto 1999, Er 2007). 36 kD molekül ağırlığında ve 261 aminoasit içeren endojen bir protein olan PCNA, hem hayvan hem de bitki hücrelerinde bulunur (Foley ve ark 1991, Sağol 1996, Loor ve ark 1997, Wang ve ark 2003, Essers ve ark 2005). İnsanda PCNA geni 20. kromozomda yer alır. İnsan ile rat PCNA proteinleri birbirinden sadece 4 amino asit faklıdır. İnsanla drosophila PCNA proteinleri %70 oranında, insanla maya PCNA proteinleri %30 oranında benzerlik gösterir (Baserga 1991). İmmünohistokimyasal boyamalarda önemli ölçüde çekirdekte ve az miktarda da sitoplazmada lokalize olduğu tespit edilen PCNA'nın, lenfoma ve osteosarkoma hücrelerinde, yüksek derecede farklılaşma kapasitesine sahip olan fötal hücrelerde ve plasentanın sitotrofoblastlarında bulunduğu bildirilmektedir (Karahan ve ark 2008).

PCNA, nükleik asit metabolizmasının replikasyon ve onarım mekanizmasında önemli rol oynar (Hall ve ark 1990, Soyuer ve ark 2002). Hücre bölünmesinde rol alan proteinleri koordine eder ve onların görevlerini düzenler (Maga ve Hübscher 2003). PCNA hücrede bulunan, DNA sentezini katalize eden ve DNA tamiriyle görevli olan DNA-polimeraz enziminin kofaktörüdür (Kelman 1997). PCNA yapım hızı, hücre siklusunun G1 fazının ortasından itibaren hızla artar. S fazı boyunca yüksek seviyesini korur ve G2/M fazında düşmeye başlar. Bu nedenle hücredeki PCNA seviyesi, proliferatif hücrelerin tespit edilmesinde bir belirteç olarak kullanılır (Foley ve ark 1991, Şen ve ark 2002, Özaydın 2009). Çekirdekteki PCNA'nın hücre çoğalmasındaki rolü kısmen anlaşılmış olmasına rağmen, sitoplazmadaki PCNA fonksiyonu yeterince anlaşılamamıştır (Karahan ve ark 2008). PCNA'nın DNA sentezinde direkt etkili olduğu bilinse de henüz tüm etkileri net olarak bilinememektedir (Matsumoto ve ark 1987). PCNA, hücre siklusunun ilerlemesinde DNA metabolizmasını koordine eder. İnterfazdaki hücrelerde PCNA çözünür formdadır ancak UV ışık gibi tetikleyiciler, çözünmeyen kromatin-PCNA kompleksi oluşumuna neden olur ki; hücre siklusunun S fazındaki PCNA bu formdadır. Prolifere hücre çekirdek antijeninin çözünmez forma geçmesi de PCNA temelli DNA polimeraz aktivitesi için bir göstergedir. (Hall ve ark 1990, Soyuer ve ark 2002, Maga ve Hübscher 2003).

PCNA; bir hücrenin yaşamından ya da ölümünden sorumlu olan temel moleküllerden birisidir. Kortikosteroidlerden deksametazon tedavisinin, PCNA ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir (Tsurimoto 1999, Er 2007). Deksametazonun G1/S fazında PCNA ekspresyonunu inhibe ettiği sanılmaktadır (Tsurimoto 1999). PCNA, bu olaylarda p53 ile sıkı ilişki içindedir. Hücrede p53 yokluğunda PCNA miktarı yüksek ise DNA replikasyonu; p53 varlığında PCNA miktarı yüksek ise DNA tamiri gerçekleşir. PCNA'nın olmadığı ya da çok az olduğu durumlarda hücrenin apoptozise gittiği bildirilmiştir (Matsumoto ve ark 1987). Bununla birlikte PCNA'nın RNA transkripsiyonuyla da ilişkili olduğu sanılmaktadır (Tsurimoto 1999, Er 2007).

Bu çalışmada; farelerde gebeliğin farklı dönemlerinde ince bağırsaklarda meydana gelen histolojik ve histometrik değişiklikler (villus yüksekliği, genişliği, kript derinliği, kadeh hücre sayısı) ile ALP ve PCNA seviyeleri araştırılmıştır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

Araştırmada kullanılan materyal ve uygulanan yöntemler Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurulu (SUVEK) tarafından 29.05.2009 tarihli ve 2009/32 sayılı etik kurul kararı ile onaylanmıştır. Bu çalışma BAP tarafından 09202056 numaralı proje numarasıyla desteklenmiştir.

2.1. Hayvan Materyali

Çalışmada, 14 haftalık ortalama 20-25 gr ağırlığında 24 adet dişi Swiss Albino fare kullanıldı. Hayvanlar araştırma boyunca standart koşullar altında (oda sıcaklığı 20±1ºC, nispi nem %50±10, 12/12 saat aydınlık-karanlık periyodunda) yem ve su kısıtlaması yapılmaksızın günlük bakıma alındılar. Bir gece boyunca çiftleşmeye bırakılan dişi fareler günlük olarak vajinal tıkaç oluşumu yönünden kontrol edildiler. Vajinal tıkaç oluşan dişi fareler gebeliklerinin sıfırıncı (0.) gününde kabul edilip ayrı kafeslere aktarılarak takibe alındılar. Her grupta 6'şar adet olacak şekilde gebe olmayan-kontrol grubu ile gebeliğin birinci, ikinci ve üçüncü haftalarının ortalarına karşılık gelecek şekilde erken, orta ve geç gebelik dönemi (sırasıyla gebeliğin 3, 10 ve 17.günleri) olmak üzere fareler 4 gruba ayrıldı. Gebe olmayan fareler yaşatılmayarak, 14 haftalık olarak kullanıldı. Fareler tartıldıktan sonra eter ile bayıltıldılar, ardından sakrifiye edilen hayvanlardan ince bağırsak doku örnekleri (duodenum, jejunum, ileum) alındı.

2.2. Yöntem

Doku örneklerinin alınması ve histolojik işlemler, S.Ü.Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı Araştırma laboratuvarında gerçekleştirildi. Doku örnekleri hassas terazi ile tartıldı ve rölatif bağırsak ağırlığı [(bağırsak ağırlığı/canlı ağırlık)x100] hesaplandı. Klasik histolojik incelemeler ve immünohistokimyasal yöntemlerin uygulanacağı dokular fosfat tamponlu formal-salinde (0,1 M PBS, pH: 7,4), alkalen fosfataz demonstrasyonu gerçekleştirilecek dokular ise formal-kalsiyumda tespit edildi. Fosfat tamponlu formal-salin solüsyonunda tespit edilen doku örnekleri bilinen histolojik yöntemler uygulanarak; yıkama, dehidrasyon ve parlatma işlemlerini takiben parafinde bloklandılar. Hazırlanan bloklardan 6

µm kalınlığında ve her boyama yöntemi için alınan üçer kesit aşağıdaki boyama yöntemleriyle boyandı.

A) Genel histolojik yapının belirlenmesi ve villusların histomorfometrik analizlerinin (villus yüksekliği, villus genişliği, kript derinliği, villus yüksekliği/kript derinliği ve kas genişliği) yapılması için kesitler Crossmon'un üçlü boyasıyla boyandı (Culling ve ark 1985).

B) Kadeh hücrelerinin belirlenmesi için kesitlere Periodic-Acid Schiff (PAS) (Bancroft ve ark 1994) reaksiyonu uygulandı. PAS yöntemiyle boyanan kesitlerde nötral müsin salgılayan kadeh hücreleri demonstre edildi. Bu amaçla, parafinizasyon ve rehidrasyondan sonra kesitler %0,5'lik periodik asitte 15 dakika inkübe edildikten sonra distile su ile yıkandı ve 30 dakika Schiff ayıracında inkübe edildi. Kesitler alkol serisinden geçirilerek dehidre edildi ve ksilen serisinden geçirilerek sentetik resin (Entellan, Merck) kullanılarak lamelle kapatıldı. Mikroskobik incelemede, her preparatta 7 adet villus boyunca 100 µm'lik uzunluğundaki epitel içinde bulunan PAS (+) kadeh hücresi sayısı belirlendi. Ortalama kadeh hücresi yoğunluğu tespit edildi ve sonuçlar hücre sayısı/birim epitel uzunluğu (100 µm) olarak ifade edildi.

C) Enterositlerin fonksiyonel olgunlaşmasının bir göstergesi olan intestinal-alkalen fosfataz (i-ALP) demonstrasyonu simultaneous azo-coupling metoduyla gerçekleştirildi (Lojda ve ark 1979). Formal kalsiyum solüsyonunda 24 saat süreyle tespit edilen dokular +4ºC'deki Holt solüsyonuna aktarıldı ve doku örnekleri bu solüsyonda 22 saat bekletildi. Bu doku örneklerinden kriyostatta (Leica) alınan 12 µm kalınlığındaki kesitler, önceden formol jelatin ile muamele edilen lamlara çekilerek oda sıcaklığında (20ºC) 30 dakika süreyle kurutuldu. İçinde 25 mg Naphtol ASBI phosphate (N–2125, Sigma) çözdürülen 10 ml N, N-Dimethyl formamide 10 ml distile su ile karıştırılarak pH: 8'e ayarlandı. Bu karışıma 300 ml distile su ve 180 ml 0,2 M Tris HCL tamponu (pH: 8,3) ilave edilerek Naphtol ASBI stok solüsyonu hazırlandı. İnkübasyon solüsyonu, 10 ml Naphtol ASBI stok solüsyonunda 10 mg Fast Red TR (F–8764, Sigma) çözdürülmesi ile elde edildi. Süzülen inkübasyon solüsyonu içerisinde doku kesitleri, oda sıcaklığında 45 dakika süreyle kontrollü bir şekilde bekletildi. Fırça kenarda kırmızı renkte ALP reaksiyonunun şekillenmesiyle inkübasyon işlemi sona erdirildi ve 3 kez distile su ile yıkanan preparatlara %1'lik methyl-green ile çekirdek boyası yapıldı. Kontrol preparatları, demonstrasyon işleminden önce kesitlerin 3 dakika süreyle kaynar suda tutulmasıyla hazırlandı. Hazırlanan preparatlar dijital kameralı ışık mikroskobuyla (Nikon Eclipse, E–400 equipped with Nikon DS Camera Control Unit DS-L1

with DS Camera Head DS-5M) incelendi ve gerekli görülen bölgelerin dijital görüntüleri kaydedildi. Görüntüler, dijital analiz görüntüleme programıyla (BS200 PRO, 2005) renk yoğunluğunun ölçülmesiyle analiz edilerek, parametrelerin sayısal verileri elde edildi.

D) Hücre proliferasyon hızının belirlenmesi amacıyla, proliferasyon evresindeki hücrelere özgü Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) immünohistokimyasal yöntemle belirlendi (Uni ve ark 2000). Doku kesitlerinin immunohistokimyasal boyanması strept avidin-Biotin peroksidaz kompleks (sABC) prosedürü kullanılarak gerçekleştirildi. Bu amaçla poli-L-lizinli lamlara 6 µm kalınlığında alınan dokular bir gece boyunca 37 ºC'de etüvde bekletildikten sonra deparafinize ve rehidre edildi. Antijenik yapıların açığa çıkarılması (antijen retrieval) için sitrat buffer (pH: 6) içindeki kesitler mikrodalga fırında kontrollü bir şekilde tutuldu. Endojen peroksidaz aktivasyonunun inhibisyonu için %3'lük hidrojen peroksit solüsyonunda 20 dakika bekletilen kesitler normal keçi serumu ile 5 dakika inkübe edilerek nonspesifik bağlanma bölgeleri bloke edildi. Takiben kesitler, önce primer antikor (PCNA için Gene Tex GTX71945, 1:100), daha sonra biotinli keçi polivalan antikoruyla (antijen spesifitesi; fare, tavşan, rat, kobay) 30 dakika inkübe edildi. Buffer solüsyonuyla yıkanan kesitler streptavidin-peroksidaz ile oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Kromojen olarak DAB hazırlanarak doku üzerine damlatıldı ve 5 dakika inkübe edildi. Mayer's hematoksilen ile zıt boyama yapılarak alkol ve ksilenden geçirilen dokular entellanla kapatılıp ışık mikroskobunda incelendi. 10 farklı kriptte toplam 100 hücre sayılarak PCNA pozitivitesi hesaplandı ve sonuçlar (%) olarak ifade edildi.

2.3. Değerlendirme ve İstatistiksel Analizler

Elde edilen veriler SPSS 10 programı ile One-Way Anova testi ve ardından çoklu karşılaştırma testlerinden Duncan testiyle analiz edilerek, grupların ortalama değerleri arasındaki farkların önem dereceleri belirlendi. $p<0,05$ değeri önemli kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Gebeliğin Farklı Dönemlerinde Vücut ve Rölatif İnce Bağırsak Ağırlıkları

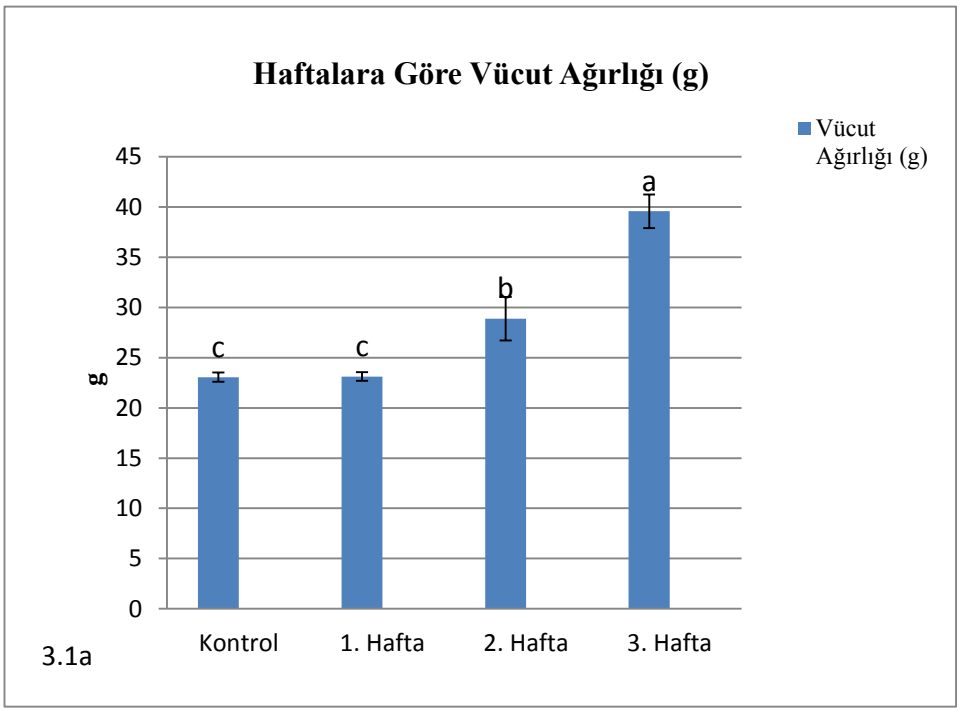
Gebeliğin farklı dönemlerinde ortalama vücut ağırlıkları ve rölatif ince bağırsak ağırlıkları Çizelge 3.1. ve Şekil 3.1a ve Şekil3.1b'de'de verilmiştir.

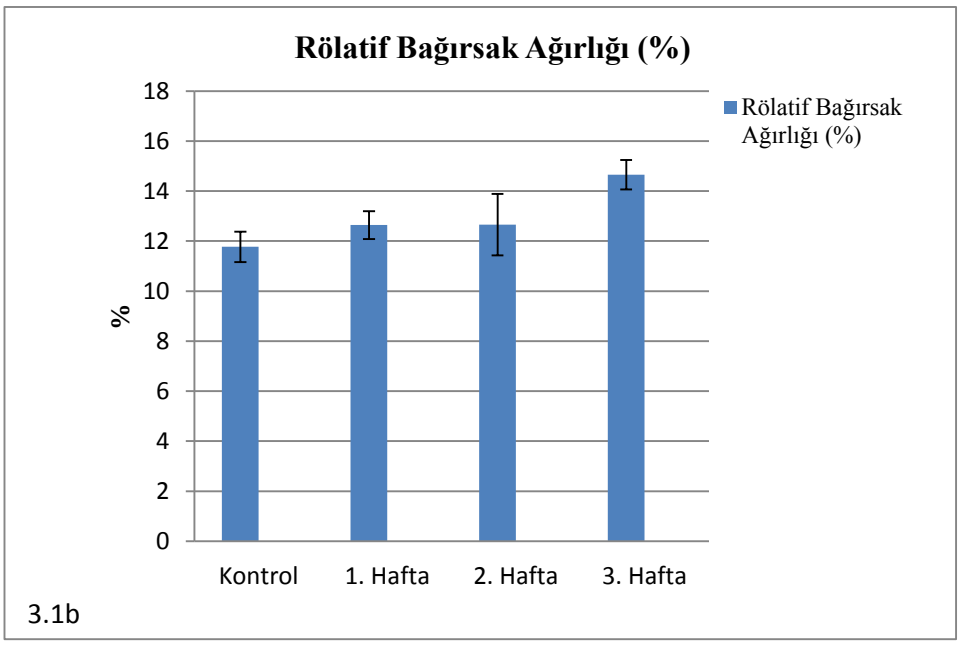
Çizelge 3.1. Çalışmanın farklı dönemlerinde gebe olmayan kontrol ve gebe hayvanların ortalama vücut ağırlıkları (g) ve rölatif bağırsak ağırlıkları (%).

Gruplar (n=6)	Vücut Ağırlığı (g, X±SE)	Rölatif İnce Bağırsak Ağırlığı (%, X±SE)
Kontrol	23,06±0,47 [c]	11,77±0,61
1. Hafta	23,13±0,44 [c]	12,64±0,56
2. Hafta	28,89±2,17 [b]	12,66±1,23
3. Hafta	39,58±1,66 [a]	14,65±0,59

[a-c] Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir (P<0,05).

Gebeliğin ilerleyen haftalarındaki ortalama vücut ağırlığı değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı bir artış gözlendi (p<0,05). Benzer şekilde ortalama rölatif bağırsak ağırlıklarında da gebe gruplarda kontrol grubuna göre artış gözlenmesine karşın; bu artışın istatistiksel olarak anlam taşımadığı belirlendi (p>0,05).





Şekil 3.1. Çalışmanın farklı dönemlerinde haftalara göre vücut ağırlıkları ve rölatif bağırsak ağırlıkları.

3.2.Villuslardan Elde Edilen Histometrik Veriler

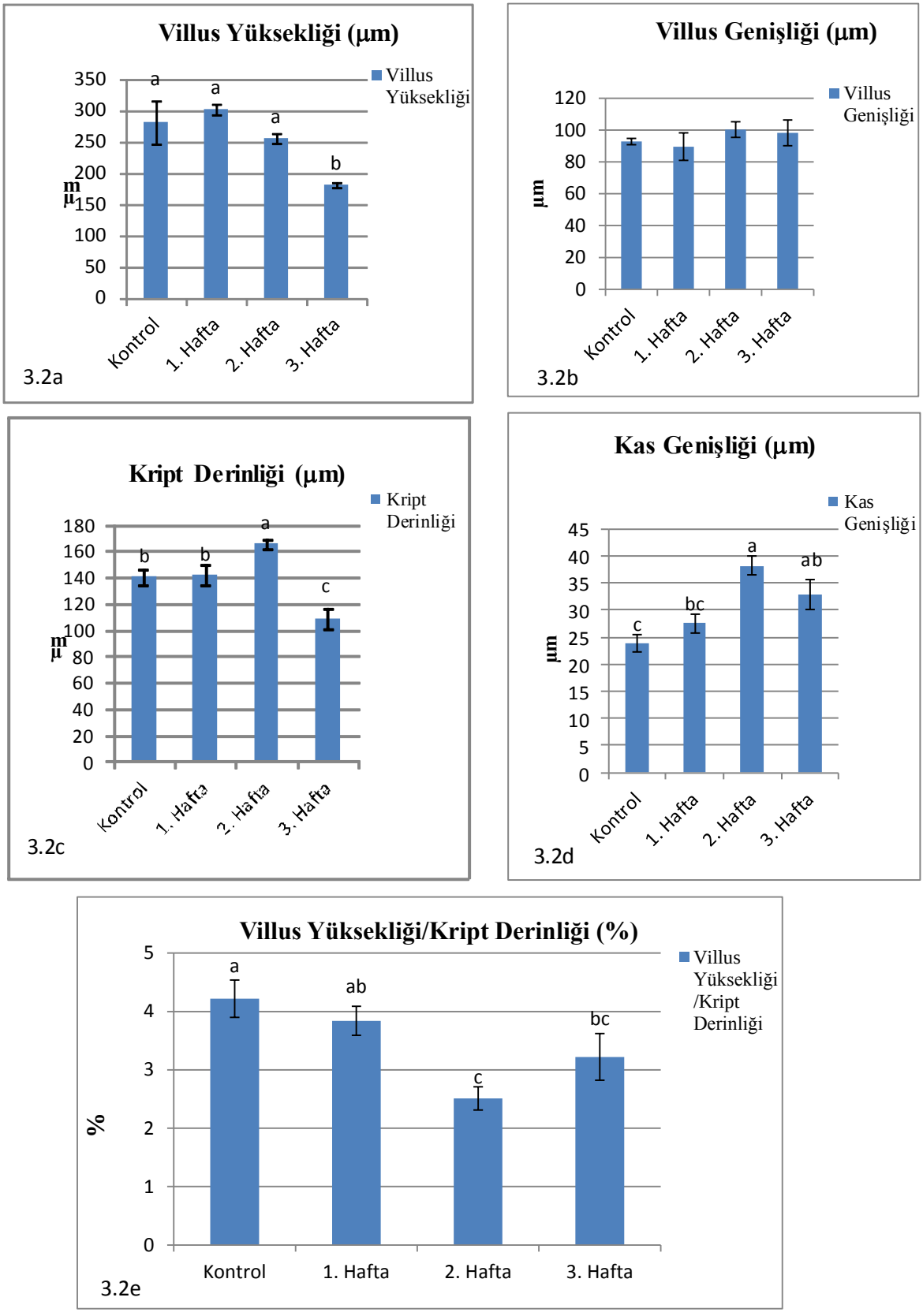
3.2.1. Duodenumdan Elde Edilen Veriler

Gebeliğin farklı dönemlerinde duodenum dokusundan elde edilen ölçüm sonuçları Çizelge 3.2. ve Şekil 3.2.'de verilmiştir. Villus yüksekliği değerlerinde kontrol grubuna göre 1. haftada artış gerçekleşirken, 2. ve 3. haftalarda azalma gözlendi. Ancak bu değişimin istatistiksel açıdan önem taşımadığı belirlendi ($p>0,05$). Villus genişliği değerlerinde de istatistiki açıdan fark gözlenmedi ($p>0,05$) (Şekil 3.3, 3.4, 3.5 ve 3.6). Kript derinliğinde ve kas genişliğinde 1. ve 2. haftalarda görülen artışın, 3. haftada kısmen azalmasına karşın kontrol grubu değerlerinden yüksek olduğu görüldü ($p<0,05$). Villus yüksekliği/Kript derinliği oranlarının ise gebeliğin ilerleyen haftalarında kontrol grubuna göre tedrici olarak azaldığı gözlendi ($p<0,05$).

Çizelge 3.2. Çalışmanın farklı dönemlerinde duodenumdan elde edilen histometrik veriler (X±SE).

Gruplar (n=6)	Villus Yüksekliği (μm)	Villus Genişliği (μm)	Kript Derinliği (μm)	Kas Genişliği (μm)	Villus Yük./ Kript Der. (%)
Kontrol	467,82±35,66	92,85±2,00	112,200±5,72^{c}	23,81±1,59^{c}	4,22±0,32^{a}
1. Hafta	501,68±8,87	89,63±8,60	126,81±4,81^{bc}	27,53±1,76^{bc}	3,84±0,25^{ab}
2. Hafta	414,11±26,13	100,30±4,89	148,31±4,44^{a}	38,18±1,80^{a}	2,51±,020^{c}
3. Hafta	399,61±33,30	98,31±8,09	134,26±9,43^{ab}	32,79±2,79^{ab}	3,22±0,40^{bc}

$^{a-c}$ Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir ($P<0,05$).



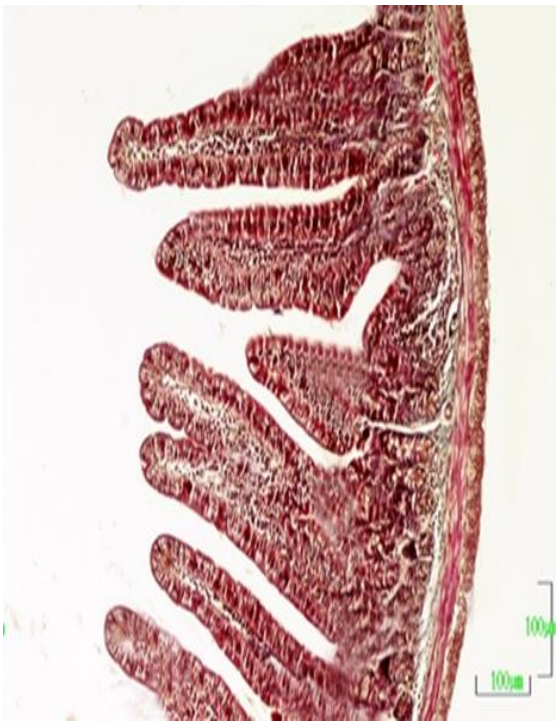
Şekil 3.2. Çalışmanın farklı dönemlerinde duodenumdan elde edilen villus parametreleri.



Şekil 3.3. Kontrol grubuna ait bir farenin duodenum kesiti görülmektedir. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 100 μm.



Şekil 3.4. Gebeliğin birinci haftasındaki bir farenin duodenum kesiti görülmektedir. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 100 μm.



Şekil 3.5. Gebeliğin ikinci haftasındaki bir farenin duodenum kesiti görülmektedir. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 100 μm.



Şekil 3.6 Gebeliğin üçüncü haftasındaki bir farenin duodenum kesiti görülmektedir. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 100 μm.

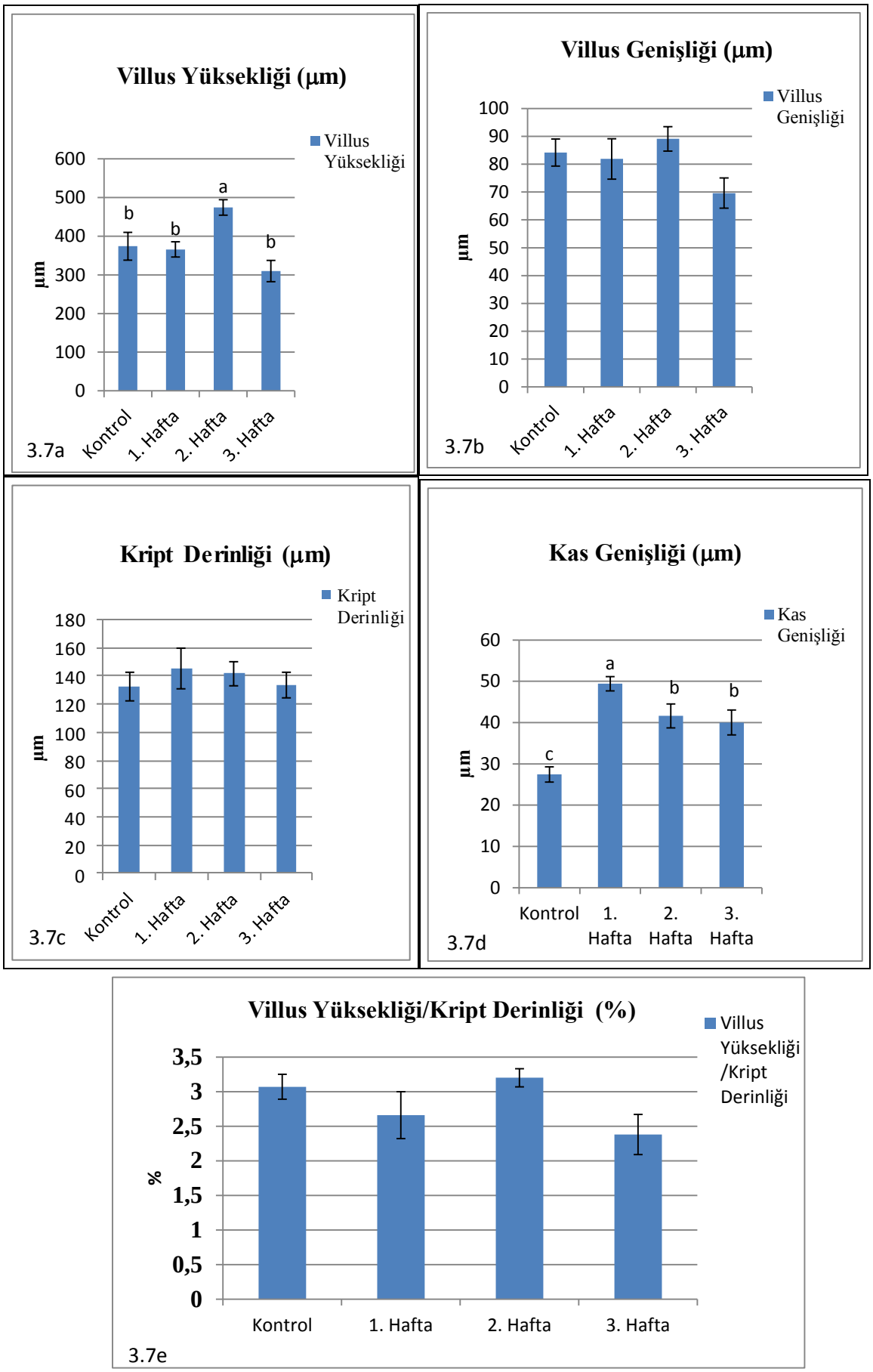
3.2.2. Jejunumdan Elde Edilen Veriler

Jejunumdan elde edilen veriler Çizelge 3.3. ve Şekil 3.7a,b,c,d,e'de verilmiştir. Villus yüksekliğinin kontrol grubuna göre gebeliğin 1. haftasında azaldığı, 2. haftasında arttığı ve 3. haftada en düşük seviyede olduğu görüldü. Belirtilen değişimlerin istatistiksel açıdan önemli olduğu saptandı ($p<0,05$). Villus genişliği değerlerinin de villus yüksekliği değerlerine benzer şekilde olduğu ancak bu değerlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi ($p>0,05$; Şekil 3.8, 3.9, 3.10 ve 3.11). Kript derinliği değerlerinde; kontrol grubuna göre 1. ve 2. haftalarda artış olduğu, 3. haftada ise bir azalma olduğu görüldü. Ancak istatistiki açıdan bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). Kas genişliği değerleri ise; kontrol grubuna göre gebeliğin ilerleyen haftalarında istatistiki açıdan önemli bir artış gösterdi ($p<0,05$). Villus yüksekliği/Kript derinliği oranlarında; istatistiksel anlamda fark olmadığı görüldü ($p>0,05$).

Çizelge 3.3. Çalışmanın farklı dönemlerinde jejunumdan elde edilen histometrik veriler (X±SE).

Gruplar (n=6)	Villus Yüksekliği (μm)	Villus Genişliği (μm)	Kript Derinliği (μm)	Kas Genişliği (μm)	Villus Yüksek./ Kript Der. (%)
Kontrol	374,00±36,13^{b}	84,20±4,86	132,44±10,44	27,43±1,85^{c}	3,07±0,18
1. Hafta	365,79±19,55^{b}	81,90±7,25	145,37±14,17	49,40±1,70^{a}	2,66±0,34
2. Hafta	474,55±20,08^{a}	89,11±4,42	141,61±8,32	41,62±2,90^{b}	3,20±0,13
3. Hafta	309,77±27,48^{b}	69,63±5,45	133,59±8,96	40,01±3,03^{b}	2,38±0,29

$^{a-c}$ Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir ($P<0,05$).



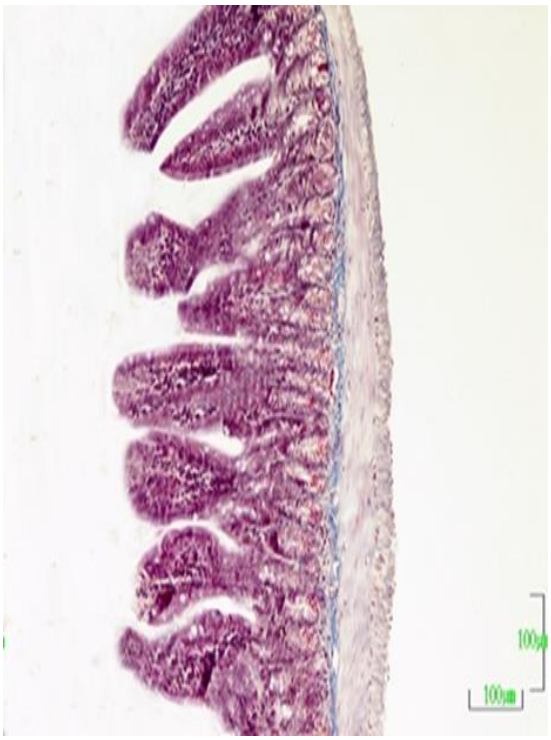
Şekil 3.7. Çalışmanın farklı dönemlerinde jejunumdan elde edilen villus parametreleri.



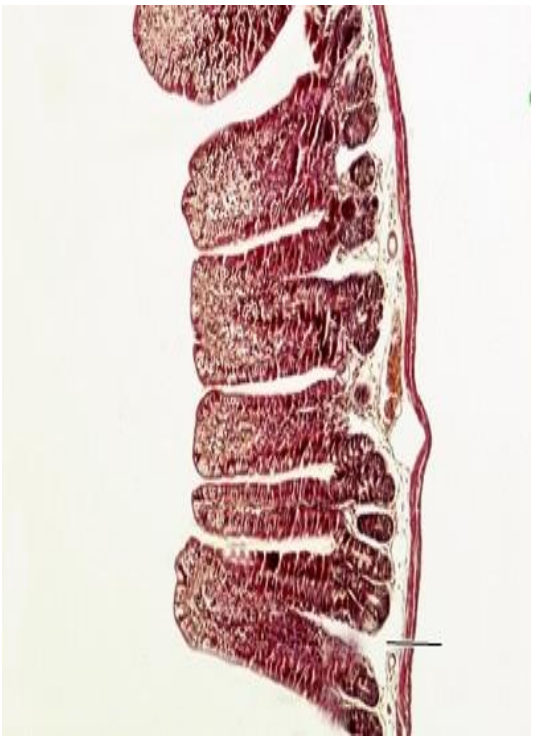
Şekil 3.8. Kontrol grubuna ait bir farenin jejunum kesiti görülmektedir. Üçlü boyama.
Büyütme çizgisi: 100 μm.



Şekil 3.9. Gebeliğin birinci haftasındaki bir farenin jejunum kesiti görülmektedir. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 100 μm.



Şekil 3.10. Gebeliğin ikinci haftasındaki bir farenin jejunum kesiti görülmektedir. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 100 μm.



Şekil 3.11. Gebeliğin üçüncü haftasındaki bir farenin jejunum kesiti görülmektedir. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 100 μm.

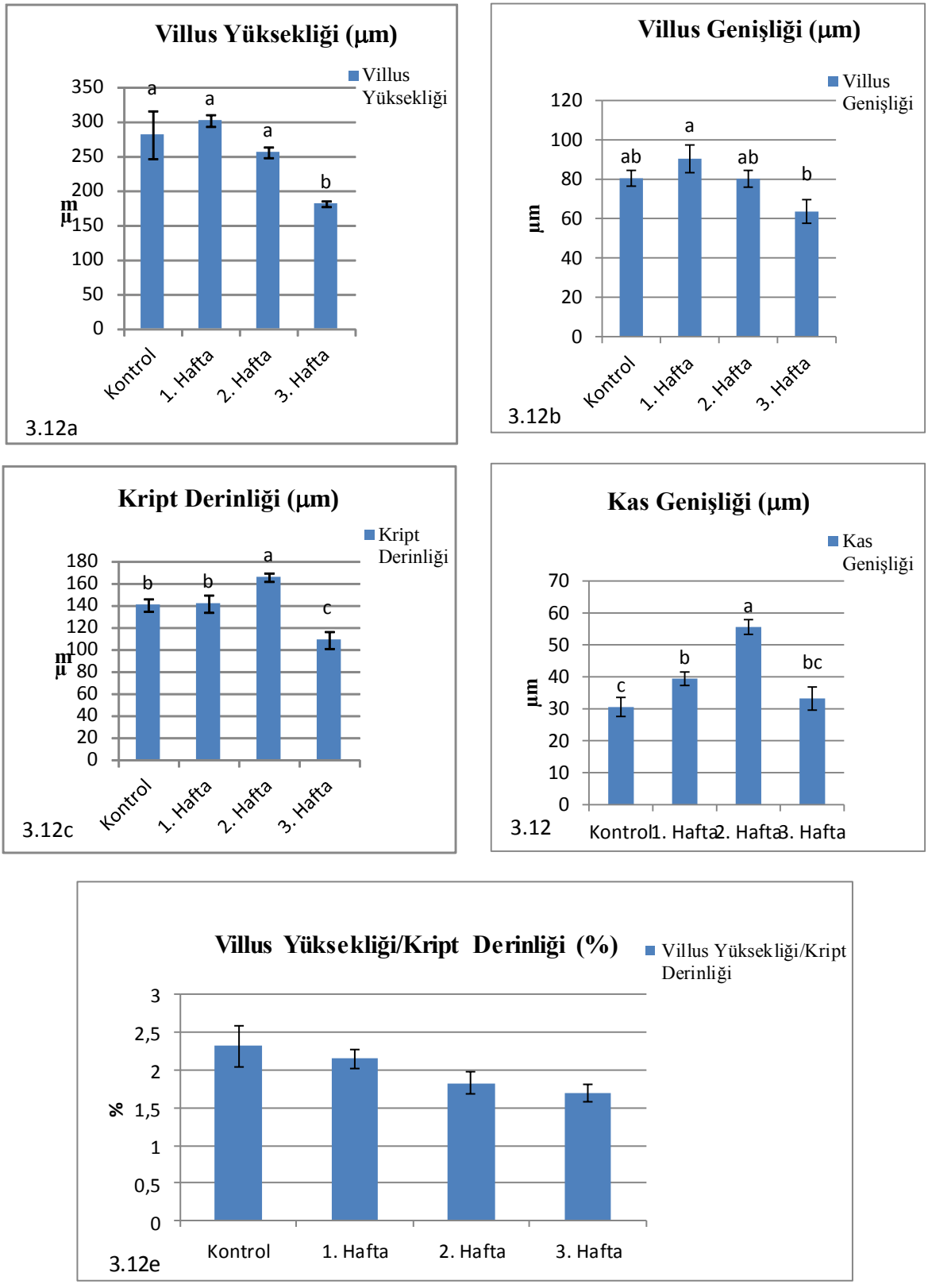
3.2.3. İleumdan Elde Edilen Veriler

Gebeliğin farklı dönemlerinde ileumdan elde edilen veriler Çizelge 3.4. ve Şekil 3.12a,b,c,d,e'de verilmiştir. Villus yüksekliği değerlerinin diğer haftalara göre 3. haftada en düşük seviyede olduğu görüldü ($p<0,05$). Villus genişliği değerlerinin de villus yüksekliğine benzer şekilde olduğu görüldü ($p<0,05$; Şekil 3.13, 3.14, 3.15 ve 3.16). Kript derinliğinin kontrol ve 1. haftaya göre 2. haftada arttığı, 3. haftada ise azaldığı gözlendi ($p<0,05$). Kas genişliğinin de 2. haftada diğer gruplara göre en yüksek seviyede olduğu belirlendi ($p<0,05$). Villus yüksekliği/Kript derinliği oranlarında kontrol grubuna göre diğer gruplarda bir azalma olduğu ancak bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ($p>0,05$).

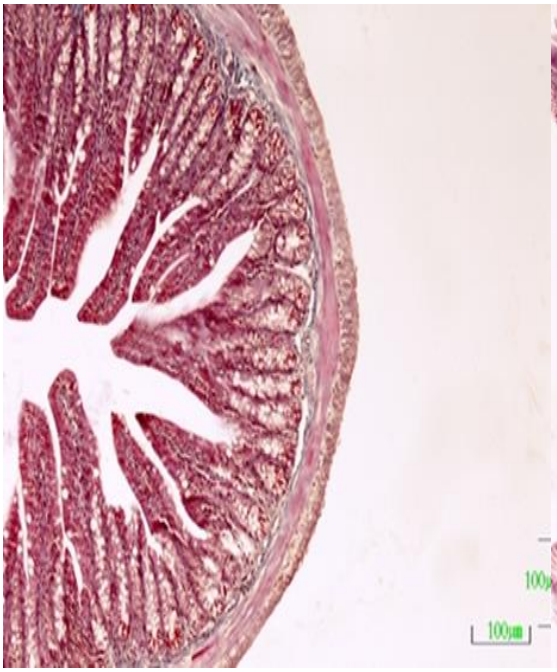
Çizelge 3.4. Çalışmanın farklı dönemlerinde ileumdan elde edilen histometrik veriler (X±SE).

Gruplar (n=6)	Villus Yüksekliği (μm)	Villus Genişliği (μm)	Kript Derinliği (μm)	Kas Genişliği (μm)	Villus Yük./ Kript Der. (%)
Kontrol	281,24±34,50^{a}	80,50±4,03^{ab}	140,42±5,58^{b}	30,57±3,01^{c}	2,32±0,27
1. Hafta	301,98±8,56^{a}	90,35±7,07^{a}	141,70±7,86^{b}	39,41±2,12^{b}	2,15±0,13
2. Hafta	255,76±7,87^{a}	80,26±4,27^{ab}	165,66±3,90^{a}	55,58±2,31^{a}	1,83±0,14
3. Hafta	181,23±4,00^{b}	63,55±6,02^{b}	108,67±7,75^{c}	33,23±3,62^{bc}	1,70±0,11

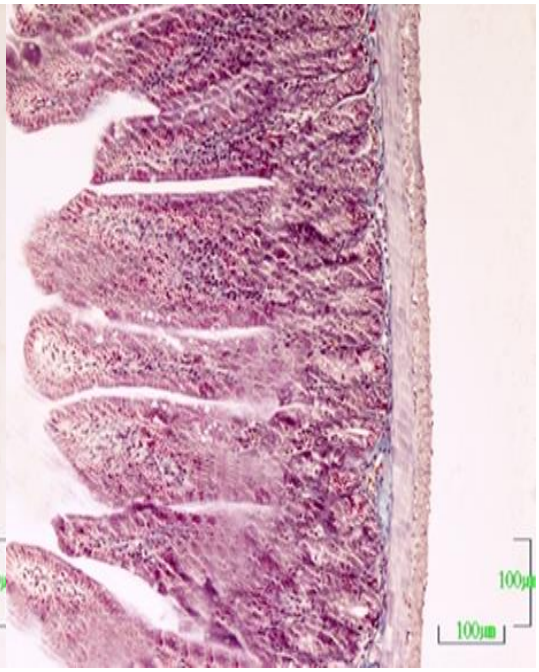
$^{a-c}$ Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir ($P<0,05$).



Şekil 3.12. Çalışmanın farklı dönemlerinde ileumdan elde edilen villus parametreleri.



Şekil 3.13. Kontrol grubuna ait bir farenin ileum kesiti görülmektedir. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 100 μm.



Şekil 3.14. Gebeliğin birinci haftasındaki bir farenin ileum kesiti görülmektedir. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 100 μm.



Şekil 3.15. Gebeliğin ikinci haftasındaki bir farenin ileum kesiti görülmektedir. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 100 μm



Şekil 3.16. Gebeliğin üçüncü haftasındaki bir farenin ileum kesiti görülmektedir. Üçlü boyama. Büyütme çizgisi: 100 μm.

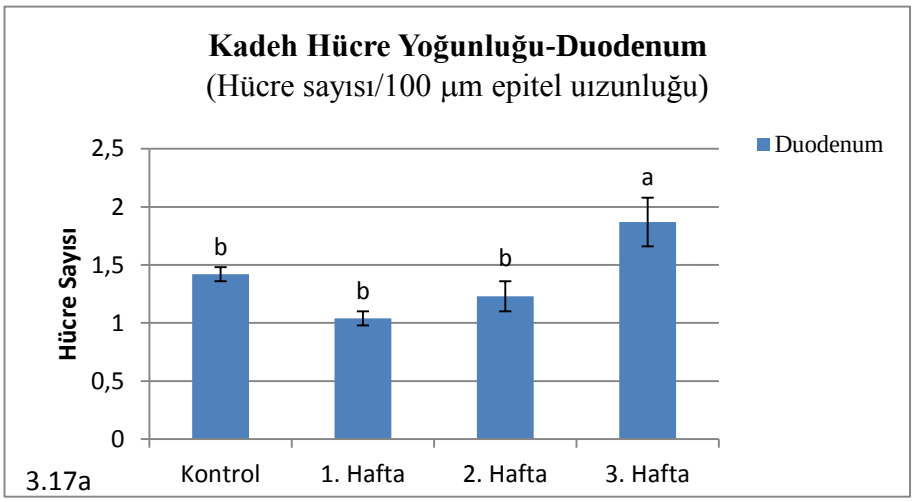
3.3. Kadeh Hücreleri Üzerinde Yapılan İnceleme Sonuçları

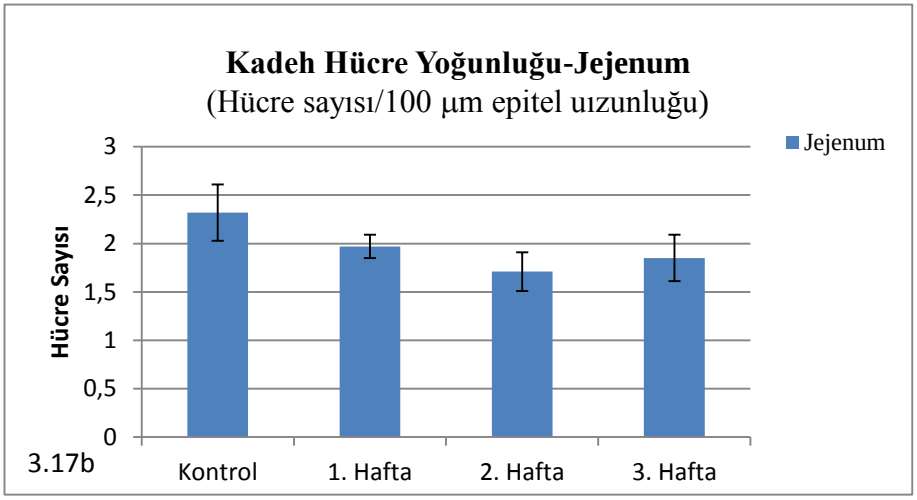
PAS reaksiyonu yöntemiyle boyanan kesitlerde nötral müsin salgılayan kadeh hücreleri demonstre edildi. Kadeh hücrelerinin villus boyunca epitel içinde lokalize oldukları gözlendi. Gebeliğin farklı dönemlerinde PAS (+) kadeh hücresi yoğunlukları Çizelge 3.5. ve Şekil 3.17'de verilmiştir. Duodenumda kadeh hücre sayısının kontrol grubuna göre gebeliğin 1. ve 2. haftalarında azaldığı, buna karşın 3. haftada arttığı ve bu değişimlerin istatistiksel açıdan önemli olduğu görüldü ($p<0,05$; Şekil; 3.18, 3.19, 3.20 ve 3.21). Jejunumda kadeh hücre sayısının kontrol grubuna göre gebeliğin 1. haftasından itibaren bütün gruplarda azaldığı ancak bu değişimin istatistiksel olarak önemli olmadığı görüldü ($p>0,05$; Şekil 3.22, 3.23, 3.24 ve 3.25). İleumda ise kontrol grubuna göre gebeliğin 1. ve 2. haftalarında azalma görülürken, 3. haftada artarak kontrol grubu seviyelerine geldiği tespit edildi ($p<0,05$; Şekil 3.26, 3.27, 3.28 ve 3.29).

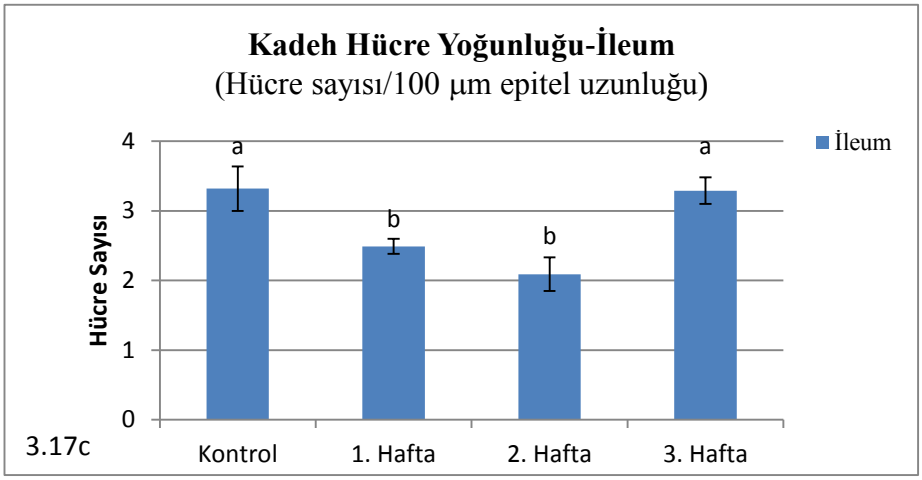
Çizelge 3.5. Grupların PAS (+) kadeh hücresi yoğunlukları (hücre sayısı/birim epitel uzunluğu-100 µm; X±SE).

Gruplar (n=6)	Duodenum	Jejunum	İleum
Kontrol	1,42±0,06^{b}	2,32±0,29	3,32±0,32^{a}
1. Hafta	1,04±0,06^{b}	1,97±0,12	2,49±0,11^{b}
2. Hafta	1,23±0,13^{b}	1,71±0,20	2,09±0,24^{b}
3. Hafta	1,87±0,21^{a}	1,85±0,24	3,29±0,19^{a}

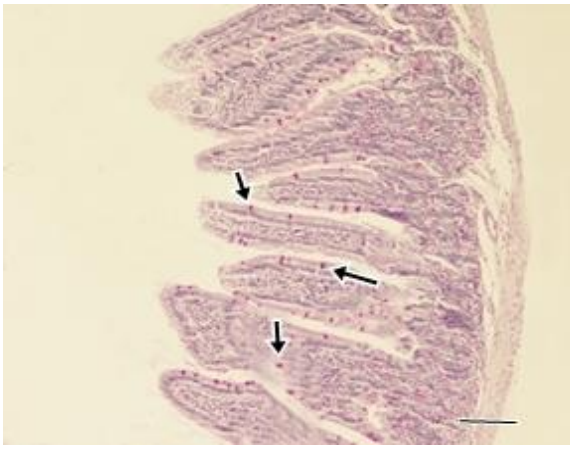
$^{a-b}$ Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir ($P<0,05$).



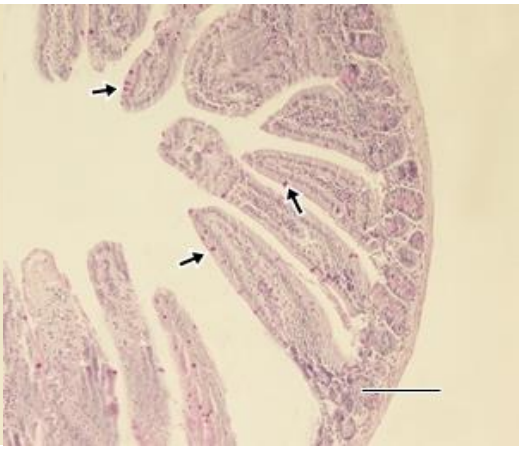




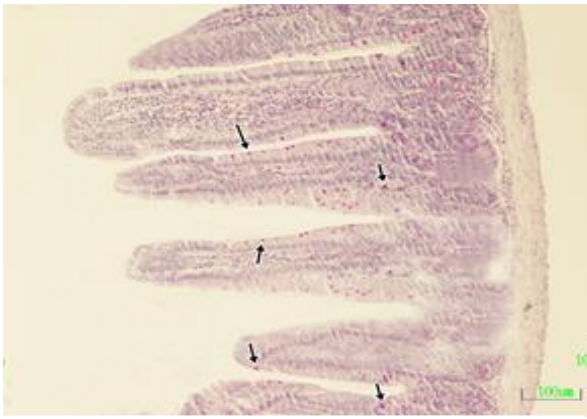
Şekil 3.17. Çalışmanın farklı dönemlerinde duodenum, jejunum ve ileumdaki kadeh hücre sayısı.



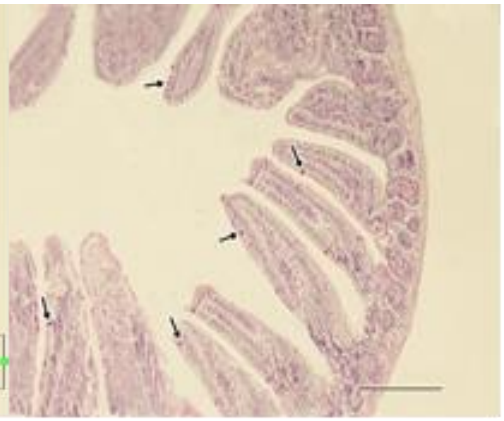
Şekil 3.18. Kontrol grubuna ait bir farenin duodenum kesitinde PAS reaksiyonu görülmektedir. Oklar: PAS (+) kadeh hücreleri. PAS. Büyütme çizgisi 100 µm.



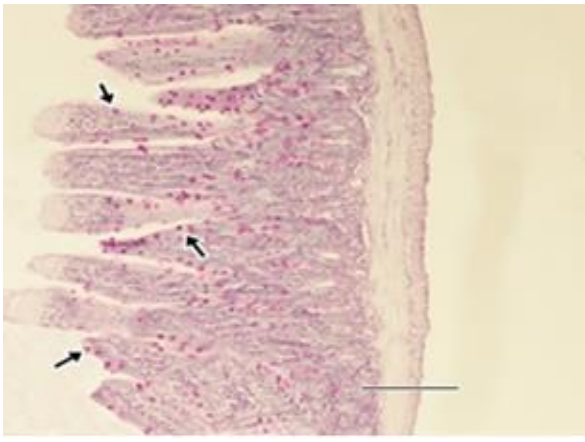
Şekil 3.19. Gebeliğin birinci haftasındaki bir farenin duodenum kesitinde PAS reaksiyonu görülmektedir. Oklar: PAS (+) kadeh hücreleri. PAS. Büyütme çizgisi 100 µm.



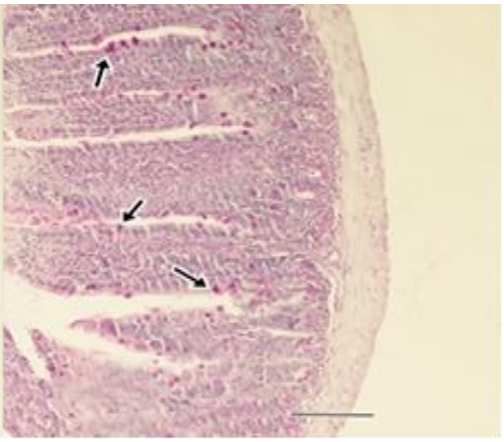
Şekil 3.20. Gebeliğin ikinci haftasındaki bir farenin duodenum kesitinde PAS reaksiyonu görülmektedir. Oklar: PAS (+) kadeh hücreleri. PAS. Büyütme çizgisi 100 µm.



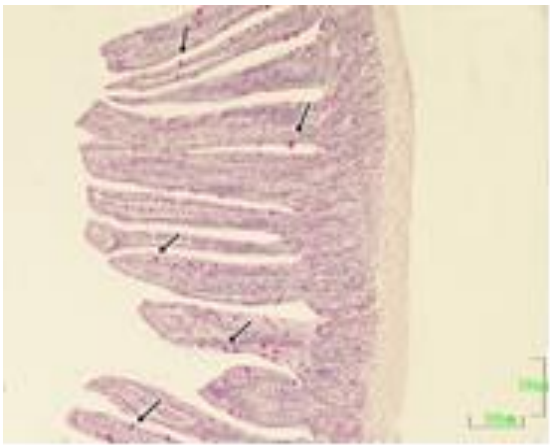
Şekil 3.21. Gebeliğin üçüncü haftasındaki bir farenin duodenum kesitinde PAS reaksiyonu görülmektedir. Oklar: PAS (+) kadeh hücreleri. PAS. Büyütme çizgisi 100 µm.



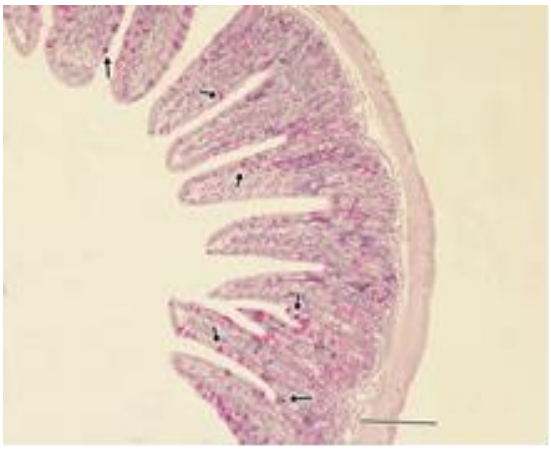
Şekil 3.22. Kontrol grubuna ait bir farenin jejunum kesitinde PAS reaksiyonu görülmektedir. Oklar: PAS (+) kadeh hücreleri. PAS. Büyütme çizgisi 100 µm.



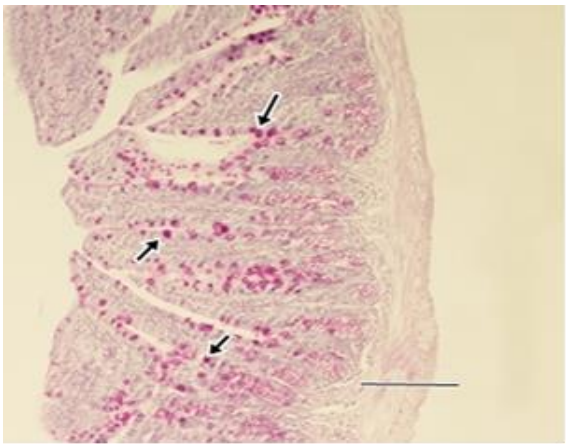
Şekil 3.23. Gebeliğin birinci haftasındaki bir farenin jejunum kesitinde PAS reaksiyonu görülmektedir. Oklar: PAS (+) kadeh hücreleri. PAS. Büyütme çizgisi 100 µm.



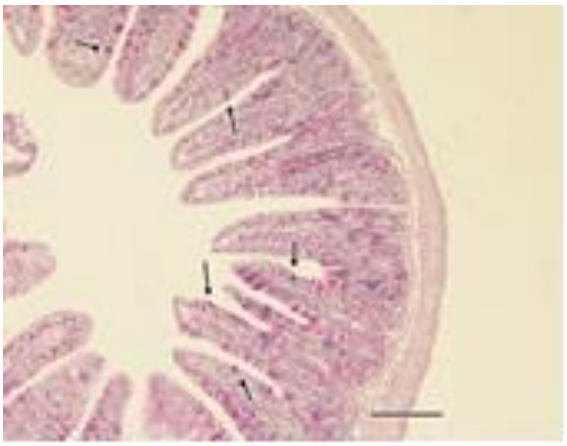
Şekil 3.24 Gebeliğin ikinci haftasındaki bir farenin jejunum kesitinde PAS reaksiyonu görülmektedir. Oklar: PAS (+) kadeh hücreleri. PAS. Büyütme çizgisi 100 µm.



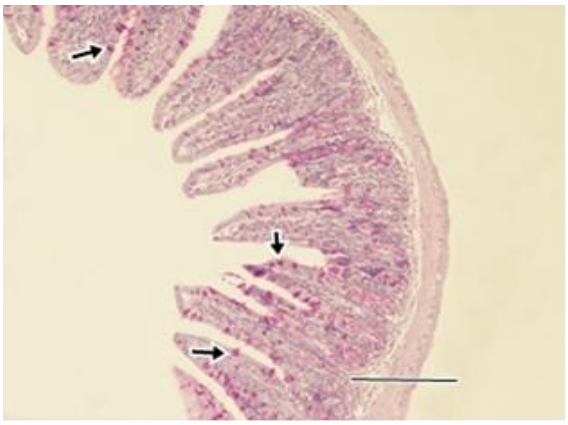
Şekil 3.25. Gebeliğin üçüncü haftasındaki bir farenin jejunum kesitinde PAS reaksiyonu görülmektedir. Oklar: PAS (+) kadeh hücreleri. PAS. Büyütme çizgisi 100 µm.



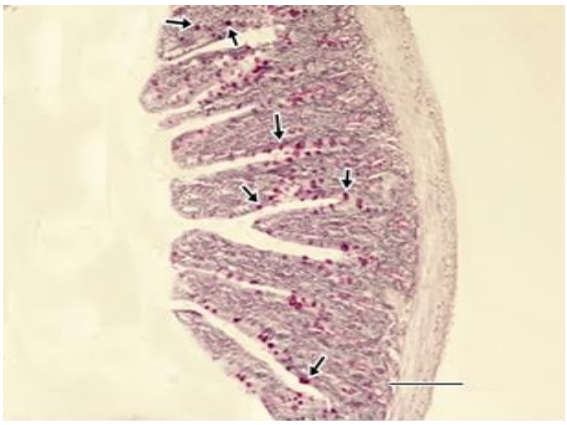
Şekil 3.26. Kontrol grubuna ait bir farenin ileum kesitinde PAS reaksiyonu görülmektedir. Oklar: PAS (+) kadeh hücreleri. PAS. Büyütme çizgisi 100 µm.



Şekil 3.27. Gebeliğin birinci haftasındaki bir farenin ileum kesitinde PAS reaksiyonu görülmektedir. Oklar: PAS (+) kadeh hücreleri. PAS. Büyütme çizgisi 100 µm.



Şekil 3.28. Gebeliğin ikinci haftasındaki bir farenin ileum kesitinde PAS reaksiyonu görülmektedir. Oklar: PAS (+) kadeh hücreleri. PAS. Büyütme çizgisi 100 µm.



Şekil 3.29. Gebeliğin üçüncü haftasındaki bir farenin ileum kesitinde PAS reaksiyonu görülmektedir. Oklar: PAS (+) kadeh hücreleri. PAS. Büyütme çizgisi 100 µm.

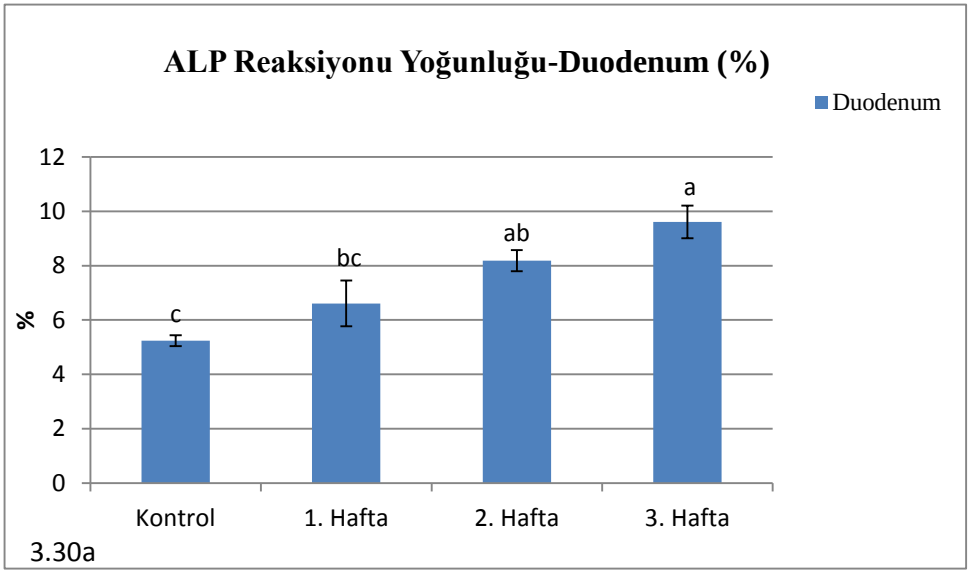
3.4. ALP Demonstrasyonu Bulguları

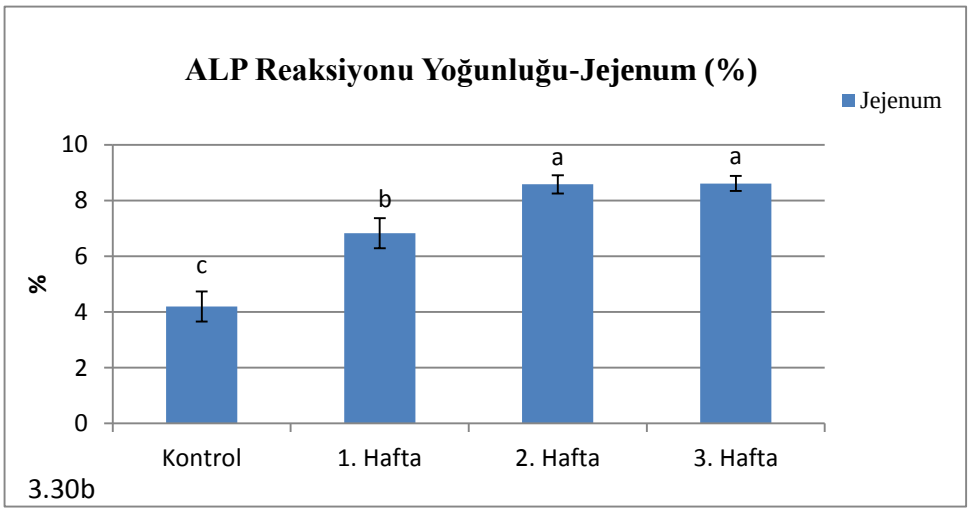
Enzimhistokimyasal boyama sonucunda kesitlerde ALP pozitivitesi, enterositlerin fırça kenarında lokalize olan kırmızı renkli reaksiyon halinde gözlendi. Kript epitelinde ALP aktivitesine rastlanmadı. Gebeliğin farklı dönemlerinde tespit edilen ALP reaksiyonu oranı Çizelge 3.6. ve Şekil 3.30a,b,c,d,e'de verilmiştir. Duodenum, jejunum ve ileumda fırça kenarda görülen nisbi ALP reaksiyonunun oranında kontrol grubuna göre gebeliğin ilerleyen haftalarında tedrici olarak bir artışın meydana geldiği dikkati çekti ($p<0,05$; Şekil 3.31, 3.32, 3.33, 3.34, 3.35, 3.36, 3.37, 3.38, 3.39, 3.40, 3.41 ve 3.42).

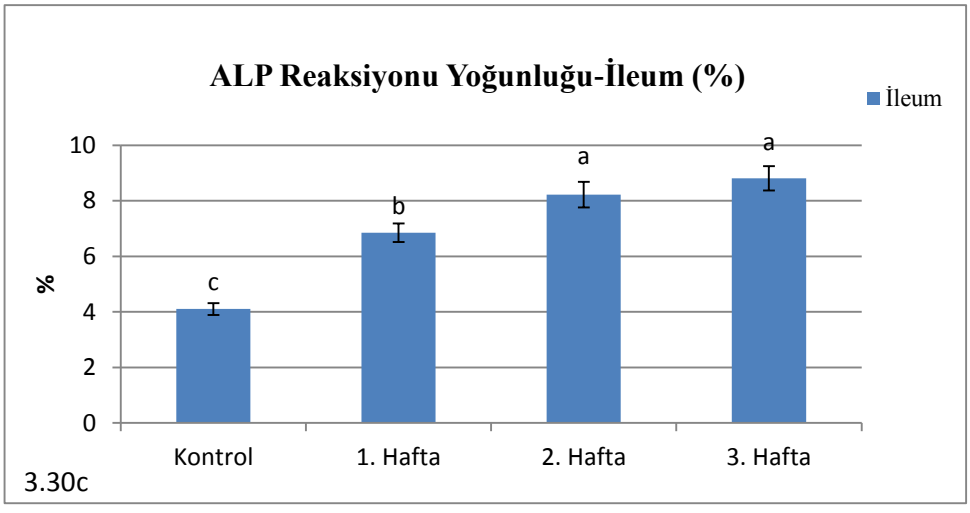
Çizelge 3.6. Çalışmanın farklı dönemlerinde tespit edilen nisbi ALP reaksiyonu yoğunlukları (%, X±SE).

Gruplar (n=6)	Duodenum	Jejunum	İleum
Kontrol	$5,24\pm0,20^{c}$	$4,20\pm0,54^{c}$	$4,10\pm0,21^{c}$
1. Hafta	$6,61\pm0,84^{bc}$	$6,83\pm0,54^{b}$	$6,85\pm0,33^{b}$
2. Hafta	$8,19\pm0,39^{ab}$	$8,58\pm0,33^{a}$	$8,22\pm0,46^{a}$
3. Hafta	$9,61\pm0,60^{a}$	$8,61\pm0,27^{a}$	$8,81\pm0,44^{a}$

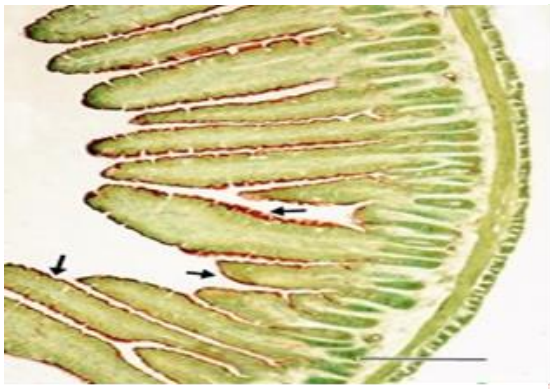
[a-c] Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir ($P<0,05$).



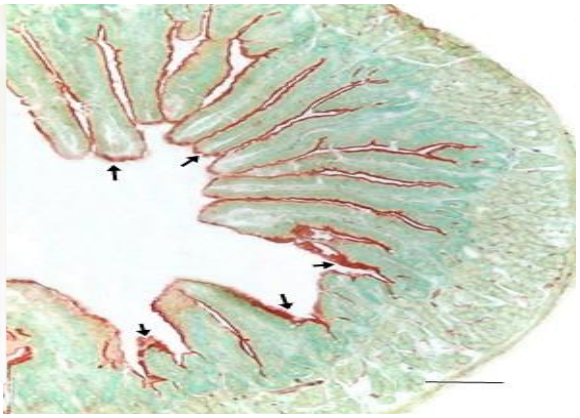




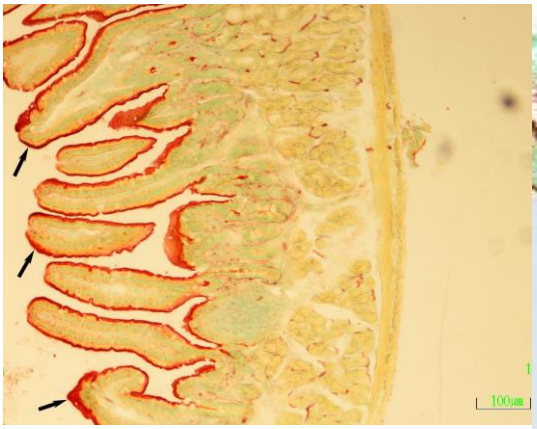
Şekil 3.30. Çalışmanın farklı dönemlerinde duodenum, jejunum ve ileumdaki ALP reaksiyonu yoğunluğu.



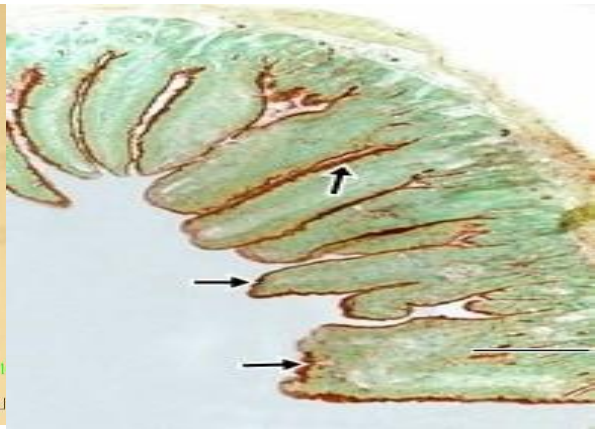
Şekil 3.31. Kontrol grubuna ait bir farenin duodenum kesitinde ALP reaksiyonu görülmektedir. ALP demonstrasyonu. Oklar: ALP pozitivite bölgeleri. Büyütme çizgisi: 100µm.



Şekil 3.32. Gebeliğin birinci haftasındaki bir farenin duodenum kesitinde ALP reaksiyonu görülmektedir. ALP demonstrasyonu. Oklar: ALP pozitivite bölgeleri. Büyütme çizgisi: 100 µm.



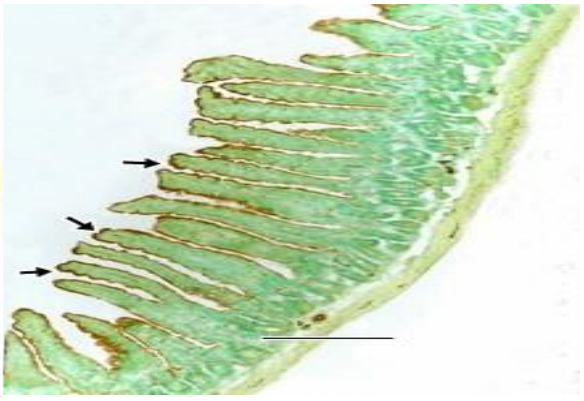
Şekil 3.33. Gebeliğin ikinci haftasındaki bir farenin duodenum kesitinde ALP reaksiyonu görülmektedir. ALP demonstrasyonu. Oklar: ALP pozitivite bölgeleri. Büyütme çizgisi: 100 µm.



Şekil 3.34. Gebeliğin üçüncü haftasındaki bir farenin duodenum kesitinde ALP reaksiyonu görülmektedir. ALP demonstrasyonu. Oklar: ALP pozitivite bölgeleri. Büyütme çizgisi: 100 µm.



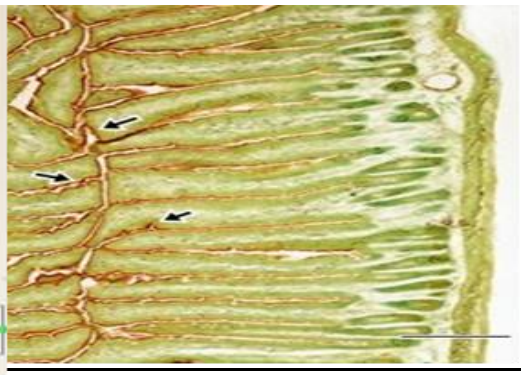
Şekil 3.35. Kontrol grubuna ait bir farenin jejunum kesitinde ALP reaksiyonu görülmektedir. ALP demonstrasyonu. Oklar: ALP pozitivite bölgeleri. Büyütme çizgisi: 100 µm.



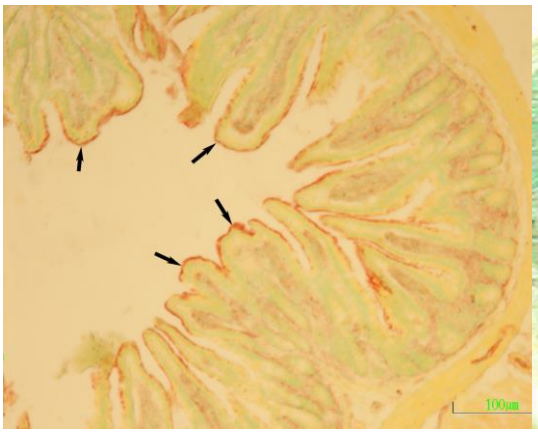
Şekil 3.36. Gebeliğin birinci haftasındaki bir farenin jejunum kesitinde ALP reaksiyonu görülmektedir. ALP demonstrasyonu. Oklar: ALP pozitivite bölgeleri. Büyütme çizgisi: 100 µm.



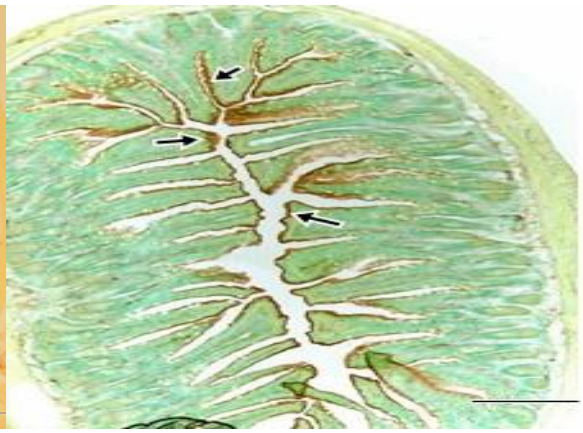
Şekil 3.37. Gebeliğin ikinci haftasındaki bir farenin jejunum kesitinde ALP reaksiyonu görülmektedir. ALP demonstrasyonu. Oklar: ALP pozitivite bölgeleri. Büyütme çizgisi:100µm.



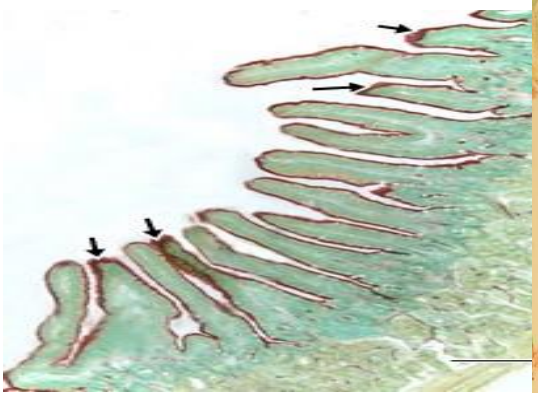
Şekil 3.38. Gebeliğin üçüncü haftasındaki bir farenin jejunum kesitinde ALP reaksiyonu görülmektedir. ALP demonstrasyonu. Oklar: ALP pozitivite bölgeleri. Büyütme çizgisi: 100 µm.



Şekil 3.39. Kontrol grubuna ait bir farenin ileum kesitinde ALP reaksiyonu görülmektedir. ALP demonstrasyonu. Oklar: ALP pozitivite bölgeleri. Büyütme çizgisi: 100 µm.



Şekil 3.40. Gebeliğin birinci haftasındaki bir farenin ileum kesitinde ALP reaksiyonu görülmektedir. ALP demonstrasyonu. Oklar: ALP pozitivite bölgeleri. Büyütme çizgisi:100µm.



Şekil 3.41 Gebeliğin ikinci haftasındaki bir farenin ileum kesitinde ALP reaksiyonu görülmektedir. ALP demonstrasyonu. Oklar ALP pozitivite bölgeleri.
Büyütme çizgisi:100µm.



Şekil 3.42 Gebeliğin üçüncü haftasındaki bir farenin ileum kesitinde ALP reaksiyonu görülmektedir. ALP demonstrasyonu. Oklar: ALP pozitivite bölgeleri. Büyütme çizgisi:100µm.

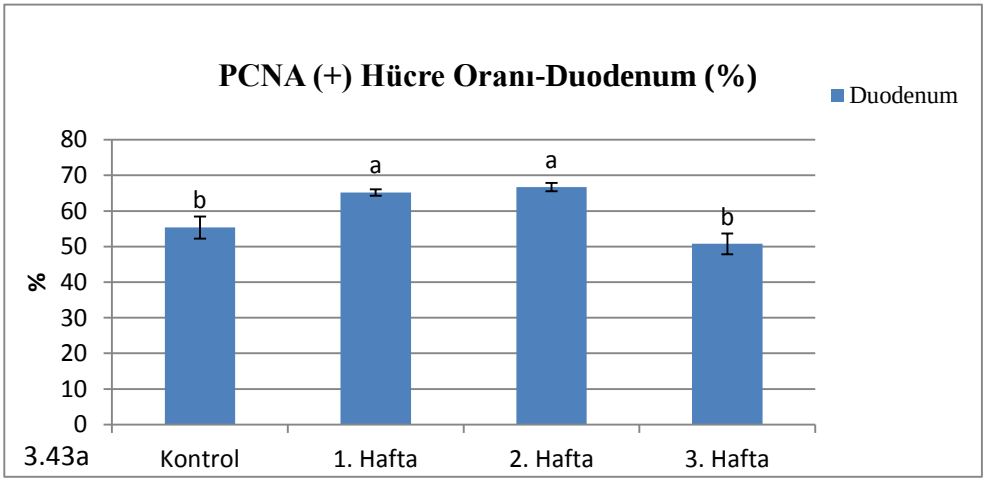
3.5. PCNA Bulguları

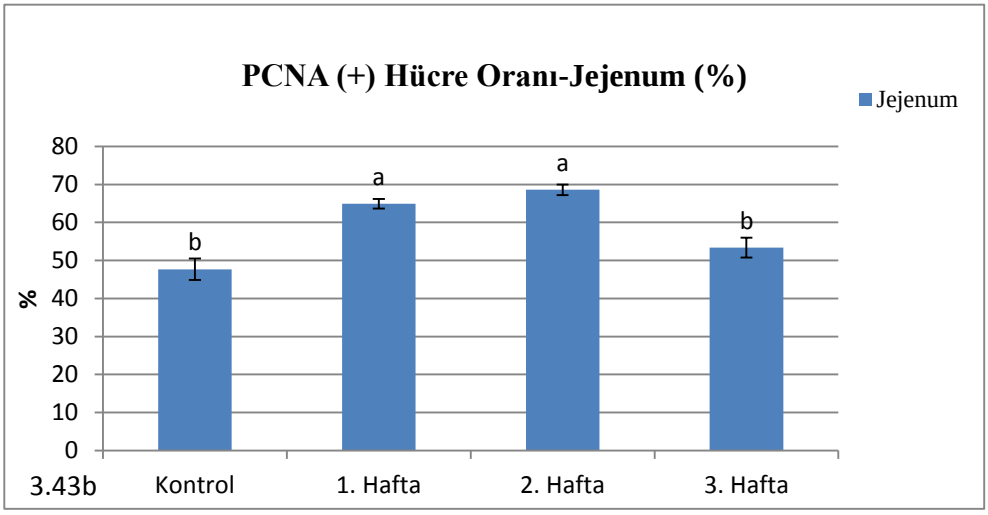
İmmünohistokimyasal boyama sonucunda DAB'a özgü kahverengi çekirdeğe sahip hücreler PCNA (+) hücreler olarak değerlendirildi. Gebeliğin farklı dönemlerinde tespit edilen PCNA (+) hücre Çizelge 3.7 ve Şekil 3.43a,b,c'de verilmiştir. Duodenum, jejunum ve ileumda PCNA (+) hücre oranında kontrol grubuna göre; gebeliğin 1. ve 2. haftalarında artış görülürken, 3. haftada azalma tespit edildi. Belirtilen değişimlerin istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü ($p<0,05$; Şekil 3.44, 3.45, 3.46, 3.47, 3.48, 3.49, 3.50, 3.51, 3.52, 3.53, 3.54 ve 3.55).

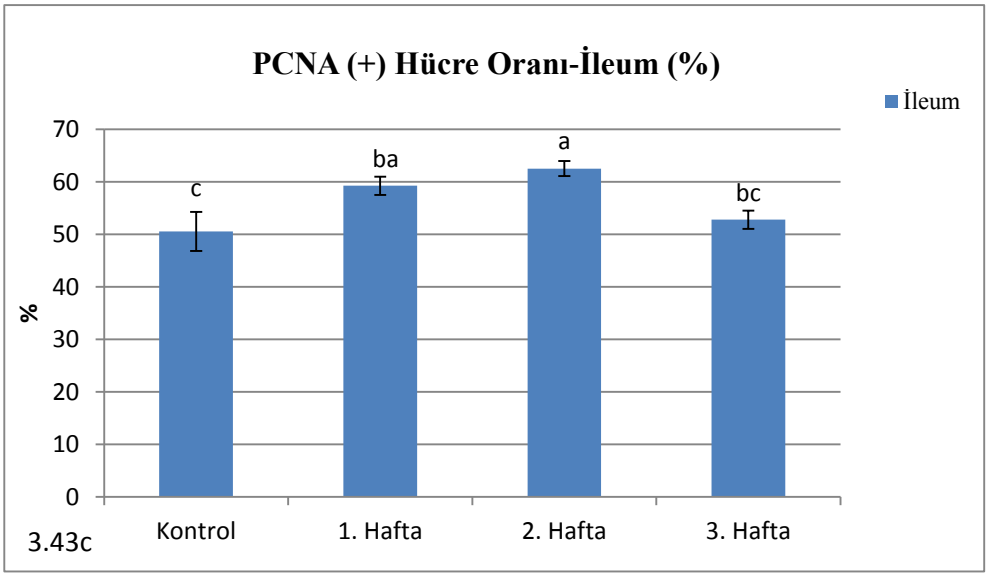
Çizelge 3.7. Çalışmanın farklı dönemlerinde tespit edilen PCNA (+) hücre oranları (%,X±SE).

Gruplar (n=6)	Duodenum	Jejunum	İleum
Kontrol	$55,37\pm3,10^{b}$	$47,70\pm2,82^{b}$	$50,57\pm3,73^{c}$
1. Hafta	$65,17\pm0,91^{a}$	$64,92\pm1,29^{a}$	$59,26\pm1,73^{ba}$
2. Hafta	$66,71\pm1,14^{a}$	$68,61\pm1,39^{a}$	$62,55\pm1,45^{a}$
3. Hafta	$50,78\pm2,93^{b}$	$53,37\pm2,59^{b}$	$52,79\pm1,75^{bc}$

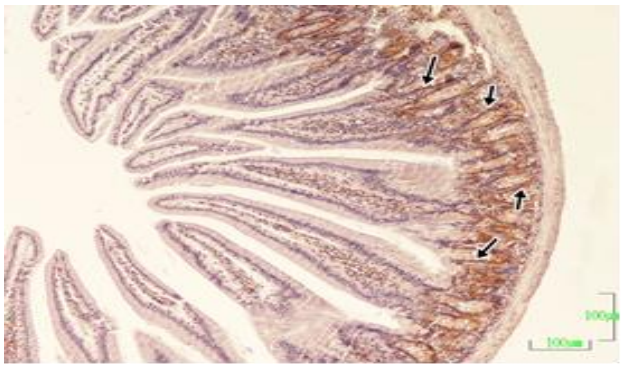
$^{a-c}$ Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir ($P<0,05$).



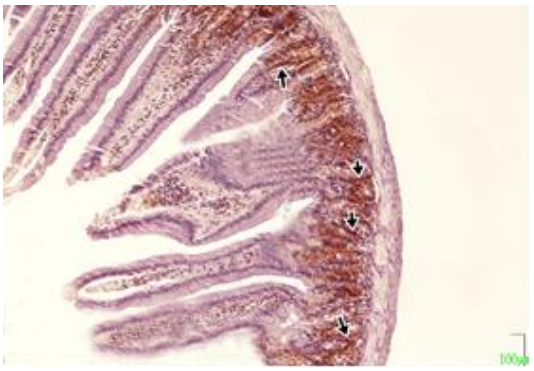




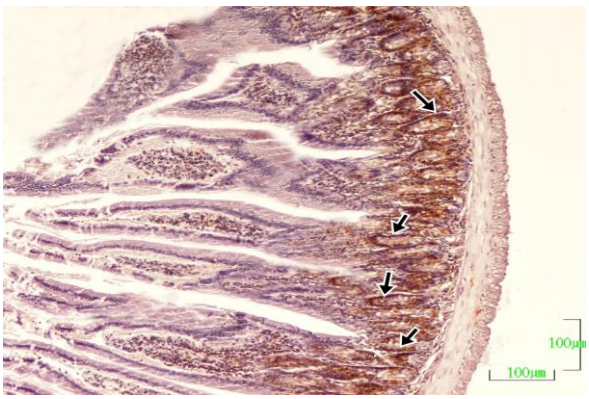
Şekil 3.43. Gebeliğin farklı dönemlerinde duodenum, jejunum ve ileumdan elde edilen PCNA (+) hücre sayısı.



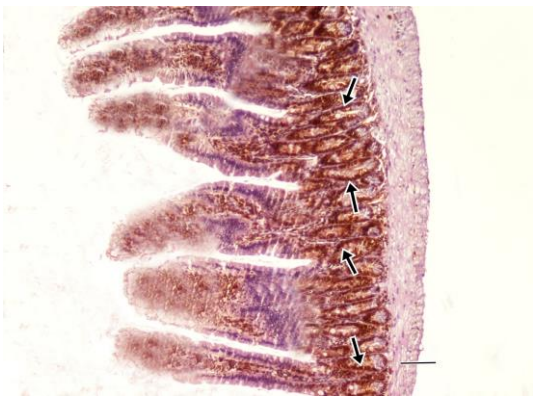
Şekil 3.44. Kontrol grubuna ait bir farenin duodenum kesitinde PCNA immünohistokimyasal boyaması görülmektedir. Oklar: PCNA (+) hücreler. PCNA immünohistokimyasal boyaması.
Büyütme çizgisi: 100 µm.



Şekil 3.45 Gebeliğin birinci haftasındaki bir farenin duodenum kesitinde PCNA immünohistokimyasal boyaması görülmektedir. Oklar: PCNA (+) hücreler. PCNA immünohistokimyasal boyaması.
Büyütme çizgisi: 100 µm.



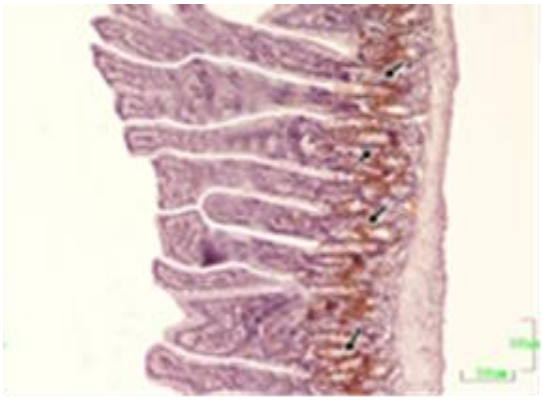
Şekil 3.46. Gebeliğin ikinci haftasındaki bir farenin duodenum kesitinde PCNA immünohistokimyasal boyaması görülmektedir. Oklar: PCNA (+) hücreler. PCNA immünohistokimyasal boyaması. Büyütme çizgisi: 100 µm.



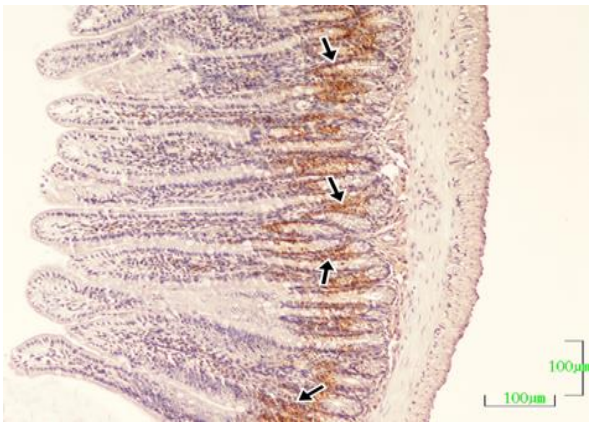
Şekil 3.47. Gebeliğin üçüncü haftasındaki bir farenin duodenum kesitinde PCNA immünohistokimyasal boyaması görülmektedir. Oklar: PCNA (+) hücreler. PCNA immünohistokimyasal boyaması.
Büyütme çizgisi: 100 µm.



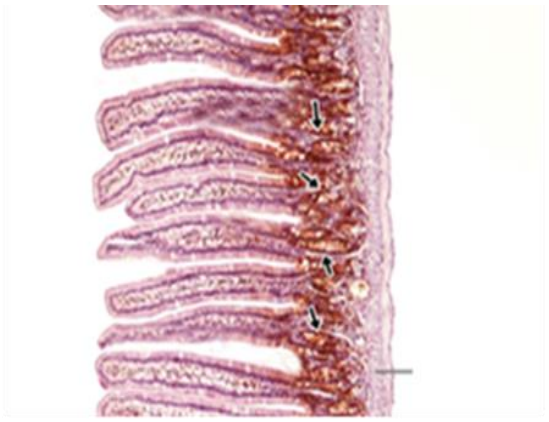
Şekil 3.48. Kontrol grubuna ait bir farenin jejunum kesitinde PCNA immünohistokimyasal boyaması görülmektedir. Oklar: PCNA (+) hücreler. PCNA immünohistokimyasal boyaması.
Büyütme çizgisi: 100 µm.



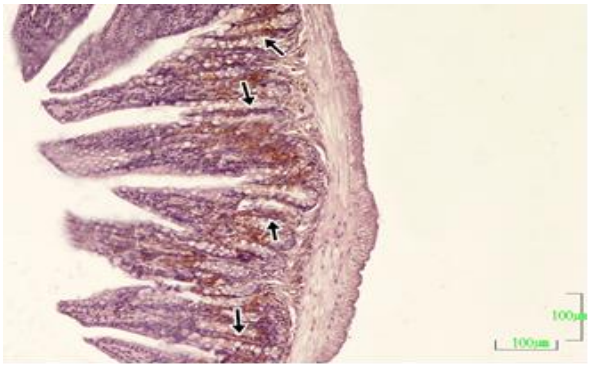
Şekil 3.49. Gebeliğin birinci haftasındaki bir farenin jejunum kesitinde PCNA immünohistokimyasal boyaması görülmektedir. Oklar: PCNA (+) hücreler. PCNA immünohistokimyasal boyaması. Büyütme çizgisi: 100 µm.



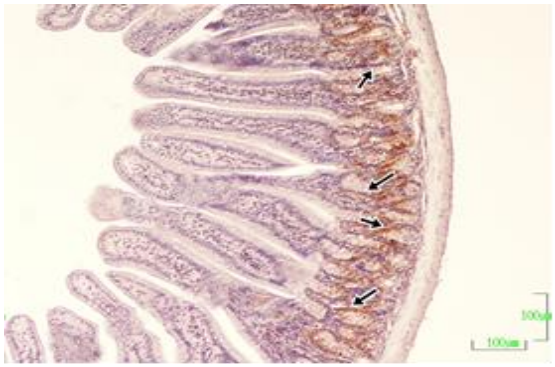
Şekil 3.50. Gebeliğin ikinci haftasındaki bir farenin jejunum kesitinde PCNA immünohistokimyasal boyaması görülmektedir. Oklar: PCNA (+) hücreler. PCNA immünohistokimyasal boyaması.
Büyütme çizgisi: 100 µm.



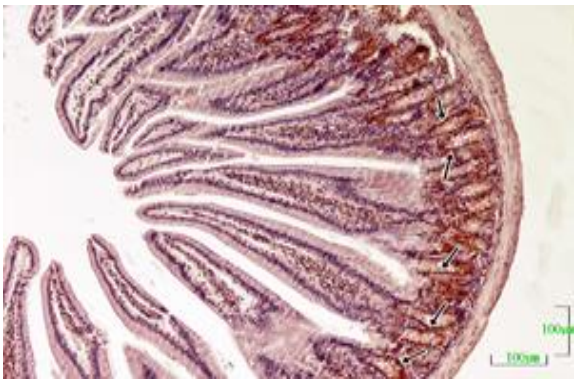
Şekil 3.51. Gebeliğin üçüncü haftasındaki bir farenin jejunum kesitinde PCNA immüno-histokimyasal boyaması görülmektedir. Oklar: PCNA (+) hücreler. PCNA immünohistokimyasal boyaması. Büyütme çizgisi: 100 µm.



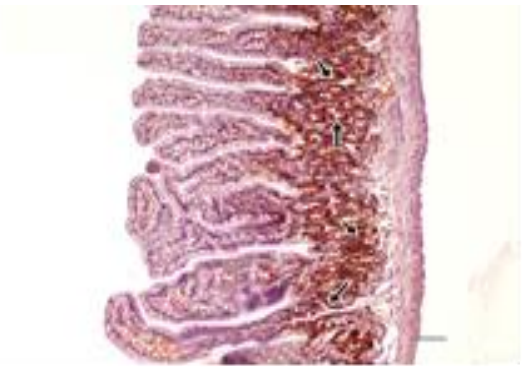
Şekil 3.52. Kontrol grubuna ait bir farenin ileum kesitinde PCNA immünohistokimyasal boyaması görülmektedir. Oklar: PCNA (+) hücreler. PCNA immünohistokimyasal boyaması.
Büyütme çizgisi: 100 µm.



Şekil 3.53. Gebeliğin birinci haftasındaki bir farenin ileum kesitinde PCNA immüno-histokimyasal boyaması görülmektedir..
Oklar: PCNA (+) hücreler. PCNA immüno-histokimyasal boyaması.
Büyütme çizgisi: 100 µm.



Şekil 3.54. Gebeliğin ikinci haftasındaki bir farenin ileum kesitinde PCNA immünohistokimyasal boyaması görülmektedir. Oklar: PCNA (+) hücreler. PCNA immünohistokimyasal boyaması.
Büyütme çizgisi: 100 µm.



Şekil 3.55. Gebeliğin üçüncü haftasındaki bir farenin ileum kesitinde PCNA immüno-histokimyasal boyaması görülmektedir. Oklar: PCNA (+) hücreler. PCNA immüno-histokimyasal boyaması.
Büyütme çizgisi: 100 µm.

4. TARTIŞMA

Gebelik sürecinde artan enerji ihtiyacının karşılanması için besin alımında artışın meydana geldiği annede, bu değişime uyum sağlayabilmek için başta sindirim sistemi olmak üzere hemen hemen tüm sistemlerin işleyişi ve organların yapısında değişimler görülür. Bu değişimler annenin organlarında hipertrofi ve ağırlık artışı şeklinde gerçekleşir. Gastrointestinal mukozada meydana gelen morfolojik değişimlerden, artan östrojen ve progesteron hormonları sorumludur (Mohammed ve Ibrahim 2004).

Cripps ve Williams (1975), albino ratlarda gebelik ve süt verme dönemlerinde canlı ağırlıkta, besin alımında, gastrointestinal sistemin anatomik ölçülerinde ve ince bağırsağın emilim kapasitesinde artışlar izlendiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar, besin alımının gebelikte %60, süt verme döneminde ise %250 oranında arttığını belirtmektedirler. Williamson (1986), gebelik ve süt verme dönemlerinde ratların vücut ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı artışlar meydana geldiğini belirtmiştir. Araştırıcı, süt verme döneminde besin alımının %300 arttığını, buna uyum sağlayabilmek için karaciğerde %40–%50, ince bağırsaklarda %100, meme dokusunda ise %400 oranında hipertrofi meydana geldiğini belirtmiştir. Young ve ark (1987), ratlarda gebelik ve süt verme dönemlerinde yetersiz beslenmenin anneye olan etkilerini araştırmışlardır. Ratlar, gebeliğin 5. gününden itibaren iki gruba ayrılmış; bir grup yeterli besinle, diğer grup ise %50 az besinle beslenmiştir. Süt verme döneminin 20. gününde normal beslenen ratların vücut ağırlıklarının, az besinle beslenen gruba göre daha fazla olduğu bildirilmiştir. Scheaffer ve ark (2004), gebe koyunlarda yeterli beslenmenin önemini araştırdıkları çalışmalarında, kontrol grubuna yeterli miktarda, diyet grubuna ise kısıtlı yem vermişlerdir. Araştırıcılar gebeliğin sonunda, diyet grubunun canlı ağırlığında kontrol grubuna göre azalma olduğunu; benzer şekilde ince bağırsak, dalak, kalp, böbrek, karaciğer ve uterus ağırlıklarında da azalma olduğunu bildirmişlerdir. Quıick ve Ong (1989), ratlarda ince bağırsak ağırlığının kontrol grubuna göre gebelik döneminde %20, süt verme döneminde ise %100 arttığını belirtmişlerdir. Boass ve ark (1992), ratlarda gebeliğin son haftası ile süt verme döneminin ilk haftasında görülen değişimleri araştırdıkları çalışmalarında, belirtilen sürelerde gebe ratların ince bağırsak ağırlıklarında %40 artış görüldüğünü bildirmişlerdir. Burdett ve Reek (1979), ratlarda gebelik ve süt verme dönemlerinde ince bağırsağın ağırlığında %50 artış meydana geldiğini bildirmektedir. Araştırmacılar, ağırlık artışının en fazla jejunumda gerçekleştiğini, duodenumdaki artışın ileumdaki artıştan daha fazla olduğunu ifade etmektedirler. Robinson (1986), gebe ratlarda

meydana gelen ince bağırsak ağırlık artışını %45 olarak ifade etmiştir. Buna karşın, Scheaffer ve ark (2001), gebeliğin sığırların canlı ağırlığına, karkas et ağırlığına ve iç organlarının ağırlığına olan etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, gebe sığırların canlı ağırlıklarının yanı sıra karaciğer, duodenum, jejunum ve kalın bağırsak ağırlıklarında kontrol grubuna göre anlamlı bir değişimin olmadığını, karkas et ağırlığında ise azalmanın olduğunu belirtmişlerdir.

Sunulan bu çalışmada da, farelerin ortalama canlı ağırlıklarında görülen değişimin diğer araştırıcıların bulgularıyla uyumlu olduğu tespit edildi. Haftalara göre ortalama canlı ağırlıklarda kontrol grubuna göre gebeliğin ilerleyen dönemlerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir artış gözlendi ($p<0,05$). Haftalara göre ortalama canlı ağırlık değerlerine benzer şekilde, ortalama rölatif bağırsak ağırlıklarında da gebe gruplarda kontrol grubuna göre artış gözlenmesine karşın, bu artışın istatistiksel olarak anlam taşımadığı belirlendi ($p>0,05$).

Cripps ve Williams (1975), albino ratlarda gebelik sürecinde ince bağırsaklarda su tutma yüzdesinde ve villus yüksekliklerinde kontrol grubuna göre artış meydana geldiğini bildirmiştir. Clarke (1977), gebe ratların ince bağırsak villus yüksekliğinde kontrol grubuna göre %50 artış meydana geldiğini belirtmiştir. Burdett ve Reek (1979), ratlarda gebelik ve süt verme dönemlerinde ince bağırsakta villus yüksekliğinde artış gözlendiğini; en fazla artışın jejunumda gerçekleştiğini, duodenumda meydana gelen artışın daha az, ileumdaki artışın ise en az olduğunu bildirmişlerdir. Harmatz ve ark (1993), farelerde gebelik ve süt verme dönemlerinde, ince bağırsak villus yüksekliği ve toplam villus alanında artışın olduğunu ifade etmektedirler. Mohammed ve Ibrahim (2004), ratlarda gebelik sürecinde jejunumun villus yüksekliği ve alanının arttığını, emzirme döneminde ise bu artışın maksimum seviyeye ulaştığını ifade etmişlerdir. Trahair ve ark (1986), koyunlarla yaptıkları çalışmada gebeliğin son döneminde villus yüksekliklerinin gebe olmayan gruba göre %30 artmış olduğunu belirtmektedirler. Araştırıcılar, kontrol grubunun kısa villusa sahip olmalarını kriptlerdeki mitotik aktivitenin, gebe grubun mitotik aktivitesinden daha yavaş olmasından kaynaklanabileceğini ifade etmektedirler. Victoria ve ark (2001), babunlarda gebeliğin ilerlemesiyle villus yüksekliğinde ve östrojen seviyelerinde artış olduğunu belirtmişlerdir.

Young ve ark (1987), ratlarda gebelik ve süt verme dönemlerinde yetersiz beslenmenin, anneye ve yavruya olan etkilerini araştırdıkları çalışmalarında; yetersiz beslenen anne ve yavruların ince bağırsak villus yüksekliklerinin kontrol grubuna göre daha az olduğunu bildirmişlerdir. Helvacıoğlu ve ark (2007), ratlarda süt verme döneminde deneysel

olarak oluşturulan kısmi bağırsak obstrüksiyonunun ince bağırsak yapısı üzerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmalarında; laktasyonun 7. gününde obstrüksiyon uygulanan ratların villus yüksekliğinin kontrol grubuna göre daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Mayhew ve ark (1994), insanda gebelik döneminin 12-41. haftaları arasında villusların yüksekliği ve ince bağırsağın toplam alan değişimini araştırdıkları çalışmalarında; gebeliğin ilerlemesiyle belirtilen değerlerde anlamlı artışların olduğunu belirtmişlerdir. Buna karşın; Firmansyah ve ark (1989), gebe ratlarda kontrol grubuna göre, ince bağırsak mukozasının hipertrofiye uğradığını ve villus yüksekliğinin kısaldığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Cairnie ve Bentley (1967), ratların süt verme döneminin 14. gününde; villus yüksekliğinin kontrol grubuna göre daha kısa olduğunu ve villus hücre sayısında %40 azalma meydana geldiğini ifade etmektedir.

Bu çalışmada da, duodenumun villus yüksekliği değerlerinde kontrol grubuna göre gebeliğin 1. haftasında artış gerçekleşirken, 2. ve 3. haftalarda azalma gözlendi ($p>0,05$). Jejunumun villus yüksekliğinin kontrol grubuna göre gebeliğin 1. haftasında azaldığı, 2. haftasında arttığı ve 3. haftada en düşük seviyede olduğu görüldü ($p<0,05$). İleumun villus yüksekliği değerlerinin kontrol grubu, gebeliğin 1. ve 2. haftalarına göre 3. haftada düştüğü görüldü ($p<0,05$). Sonuç olarak; araştırıcıların gebelik süreciyle paralel olarak villus yüksekliğinin ve alanının arttığını belirtmelerine karşın; sunulan çalışmada gebeliğin 3. haftasında belirtilen değerlerde azalma görüldü. Bu farklılığın nedeninin; çalışmada kullanılan hayvanların türü, yaşı, doğum, bir batındaki yavru ve laktasyon sayıları ile numunenin alındığı ince bağırsak bölgelerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Clarke (1977), ratların gebelik sürecinde kript derinliği değerlerinde artış görüldüğünü belirtmektedir. Cairnie ve Bentley (1967), süt verme döneminin 14. günündeki ratların kript hücre sayısında, kontrol grubuna göre %80 artış meydana geldiğini, kriptlerin boyutunda değişiklik gözlenmediğini ifade etmektedir. Buna karşın Firmansyah ve ark (1989), ratlarda gebelik döneminde kript derinliğinin azaldığını bildirmektedirler. Bu çalışmada da duodenumun kript derinliğinde gebeliğin 1. ve 2. haftalarında görülen artışın, 3. haftada kısmen azalmasına karşın kontrol grubu değerlerine göre yüksek olması dikkati çekti ($p<0,05$). Jejunumun kript derinliği değerlerinde; kontrol grubuna göre gebeliğin 1. ve 2. haftalarında artış olduğu, 3. haftada ise bir azalma olduğu dikkati çekti, ancak istatistiki açıdan bir fark gözlenmedi ($p>0,05$). İleumun kript derinliğinin kontrol ve gebeliğin 1. haftasına göre 2. haftasında arttığı, 3. haftada ise azaldığı gözlendi ($p<0,05$). Ayrıca

duodenumun villus yüksekliği/kript derinliği oranlarının gebeliğin ilerleyen haftalarında kontrol grubuna göre tedrici olarak azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,05$).

Burdett ve Reek (1979), gebelik döneminde ince bağırsak duvarı kas genişliğinin azaldığını ifade etmişlerdir. Firmansyah ve ark (1989), gebe ratlarda ince bağırsak mukozasının hipertrofiye uğradığını, kas genişliğinin azaldığını belirtmişlerdir. Helvacıoğlu ve ark (2007), laktasyonun 7. günündeki obstrüksiyon uygulanan ratların kas genişliğinin, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Sunulan bu çalışmada duodenumun kas genişliğinde gebeliğin 1. ve 2. haftalarında görülen artışın, 3. haftada kısmen azalmasına karşın kontrol grubu değerlerinden yüksek olduğu belirlendi ($p<0,05$). Jejunumun kas genişliği değerleri ise kontrol grubuna göre gebeliğin ilerleyen haftalarında istatistiki açıdan önemli bir artış gösterdi ($p<0,05$). İleumun kas genişliğinin de gebeliğin 2. haftasında diğer gruplara göre en yüksek seviyede olduğu belirlendi ($p<0,05$).

Kadeh hücreleri endoepitelyal unisellüler bez olarak nitelendirilir. Yüksek derecede polarize olan bu prizmatik hücreler, ince ve kalın bağırsakta temel olarak mukus üreten hücrelerdir. Bu hücreler teka olarak adlandırılan, intrasellüler kompartmanlarında membrana bağlı müsin granüllerini biriktirebilme özelliğine sahiptir. Kadeh hücrelerinin müsin salgısı asit veya nötr olması bakımından, memeli türleri arasında farklılıklar gösterir. Kadeh hücrelerinin bazal kısmı, olgun kadeh hücresinin karakteristik gövde şeklini gösterir ve müsin üreten organelleri içerir. Nükleus; granüllü endoplazmik retikulum (GER) ve golgi aygıtı tarafından apikalde çevrelenir. Nükleusu çevreleyen sitoplazma, mevcut serbest ribozomlar yüzünden yüksek derecede bazofiliktir (Akpolat 2007).

Aragona ve ark (1998), tavşanlarda yaptıkları çalışmada, gebe tavşanların kadeh hücresi sayısında kontrol grubuna göre istatistiksel anlamda bir değişimin olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar gebe tavşanların kadeh hücrelerinin ortalama çaplarının ve alanlarının kontrol grubuna göre daha yüksek değerlerde olduğunu ifade etmişlerdir. Sunulan çalışmada duodenumda; kadeh hücre sayısının kontrol grubuna göre gebeliğin 1. ve 2. haftalarında azaldığı, fakat 3. haftasında arttığı görüldü ($p<0,05$). Jejunumda ise kontrol grubuna göre gebeliğin tüm haftalarında kadeh hücre sayısının azaldığı belirlendi ($p>0,05$). İleumda da kontrol grubuna göre gebeliğin tüm haftalarında kadeh hücre sayısında azalma tespit edildi ($p<0,05$). Diğer araştırmacılar gebelikte kadeh hücre sayısında önemli bir değişimin olmadığını belirtmelerine karşın; sunulan çalışmada, duodenumda kadeh hücre

sayısının gebeliğin birinci ve ikinci haftalarında azalmasına karşın gebeliğin üçüncü haftasında arttığı gözlendi. Jejunum ve ileumda ise kadeh hücre sayısının gebelik süresince azaldığı tespit edildi.

Bir fırça kenar enzimi olan intestinal-alkalen fosfataz (i-ALP) aktivitesi oldukça stabil olduğu için, ince bağırsak epitelinin matürasyonu ve fonksiyonel kondisyonunun göstergesi olarak kabul edilir (Gu ve ark 2002, Özaydın 2009). Folley ve Greenbaum (1946), gebe ratların meme bezi dokusunda ALP seviyesinin gebelik süresince hızla yükselerek doğum esnasında maksimum seviyeye ulaştığını, süt verme döneminde aynı seviyelerde kaldığını ve sütten kesilme döneminde gerileyerek erken gebelik seviyelerine indiğini belirtmişlerdir. Manning ve ark (1966), ratların uterus dokusunda gebeliğin 5. ve 8. günlerinde ALP seviyesinde istatistiksel açıdan anlamlı artışlar tespit edildiğini, bu günlerin implantasyon günleri olması nedeniyle ALP artışının önemli olduğunu belirtmişlerdir. Murdoch ve ark (1978), ratlarda gebelik sürecinde kan serumu ALP değeri ile uterus ağırlık ilişkisini araştırdıkları çalışmalarında; ALP aktivitesinin gebeliğin 1. ve 3. günleri arasında azaldığını, 7. günden itibaren artmaya başlayarak 14. günde maksimum değere ulaştığını ve doğuma kadar da yüksek seviyesini koruduğunu belirtmişlerdir. Uterus ağırlığının ise gebeliğin 1. ve 3. günleri hariç gebelikle birlikte artmaya başladığı ve doğumla birlikte maksimum seviyeye ulaştıktan sonra, doğum sonrası hızla azalarak doğum öncesi seviyesine gerilediği ifade edilmiştir. Aynı çalışmada gebelikte ALP seviyesi ile uterus ağırlığının ilişkisi karşılaştırıldığında; gebeliğin 1.-10. günleri arasında anlamlı bir ilişki olmamasına karşın, sonraki günlerde anlamlı bir artışın görüldüğü bildirilmiştir. Palmer ve Rolls (1980), ratlarda gebelik döneminin ilerlemesiyle kan serumu ALP değerinin yükseldiğini, gebelikten sonra süt verme döneminin sonunda düşerek normal seviyeye gerilediğini belirtmişlerdir. Özyurtlu ve ark (2007), İvesi koyunlarında kandaki ALP seviyesinin doğum öncesi ve doğum sonrası dönemini kıyasladıkları çalışmalarında; ALP seviyesinin doğum öncesinde 76 ıu/l iken, doğum sonrası 151 ıu/l olduğunu belirtmektedirler. Araştırıcılar, tespit edilen artışların endokrin sistemde meydana gelen değişikliklerden kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir. Çenesiz ve ark (2011), Samsun yöresinde yetiştirilen mandalarla yaptıkları çalışmalarında; gebe mandaların kanında tespit edilen ALP değerlerinin, kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Gebelik sürecinde ALP pozitivitesinin artması; ALP'nin büyüyen ve gelişen yavrunun ihtiyaçlarının karşılanmasında görevli olduğu düşüncesiyle örtüşmektedir. Nitekim aktif taşımadan sorumlu olan ALP'nin, yavrunun artan enerji ihtiyacının karşılanmasını sağladığı bilinmektedir. Ayrıca, ALP ortamı alkali tutarak kemik oluşumuna ve gelişimine zemin hazırlar. İnsanlarda normal seyreden gebelik sürecinde plasental ALP değerinin ilk trimesterden son trimestere kadar düzenli olarak arttığı, spontan düşüklerde ise gebeliğin ilerleyen haftalarında artması gerekirken artmadığı ve düşük seviyelerde kaldığı belirtilmektedir (Levine 1961, Jeacock ve ark 1963). Bu nedenle plasental ALP seviyesindeki dalgalanmaların insanlarda düşüklerin erken tespit edilmesinde kullanılabileceği, bebek kayıplarının önlenmesine ya da en aza indirilmesine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

İnsanda plasental ALP ekspresyonu gebeliğin 7. haftasında başlar ve gebelik süresince artarak devam eder (Okamoto ve ark 1990, Uzunoğlu 1998). Howard ve ark (1968), plasental ALP'nin insanlarda normal ve anormal gebelik süreçlerinde değişimini araştırdıkları çalışmalarında; normal seyreden gebeliklerde, gebelik süresince ALP değerinin ilk trimesterden son trimestere kadar düzenli olarak arttığını belirtmişlerdir. Ölü doğumla sonuçlanan anormal gebeliklerde ise ALP değerinde artış olmadığı belirtilmektedir. Valenzuela ve ark (1987), ALP izoenzimlerinin (kemik, karaciğer, bağırsak ve plasental ALP) insanların gebelik sürecindeki aktivitelerini ve değişimlerini inceledikleri çalışmalarında; gebelik sürecinde tüm ALP izoenzimlerinde artış görüldüğünü, plasental ALP artışının ise diğerlerinden daha fazla olduğunu ifade etmişlerdir. Rodin ve ark (1989), insanlarda gebeliğin 3. trimester döneminde, erken gebelik dönemine oranla ALP seviyesinde artışın olduğunu belirtmişlerdir. Uysal (2003), insanlarda gebelik sürecinde ALP değişimini araştırdığı çalışmasında; Eskişehir'de yaşayan 42 gebe kadının plasenta örneğini kullanarak gebelik sürecini 1. 2. ve 3. trimester olmak üzere üç gruba ayırarak yaptığı çalışmasında; 1. trimesterden 3. trimestere doğru ALP seviyesinde artışın olduğunu belirtmiştir. Araştırıcı; ALP enzim lokalizasyonunun özellikle villusların sinsisyotrofoblast apikal yüzeyi fırçamsı kenarında olduğunu ifade etmektedir. Okamoto ve ark (1990), gebelikte insan plasental ALP değişimini araştırdıkları çalışmalarında; insanlarda plasental ALP'nin gebeliğin 7. haftasında tespit edildiğini ve 13. haftaya kadar arttığını, 20. haftadan sonra daha hızlı bir ivmeyle yükselmeye devam ettiğini belirtmektedirler.

Sunulan çalışmada duodenum, jejunum ve ileumda fırça kenarda görülen nisbi ALP reaksiyon yoğunluğunun kontrol grubuna göre gebeliğin ilerleyen haftalarında tedrici olarak arttığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). Bu bulgular diğer araştırıcıların bulgularıyla uyumlu olup, ALP'nin gebeliğin erken dönemlerinden itibaren salgılanmaya başladığını ve zamanla seviyesinin arttığını göstermektedir.

Her hücre tipinin kendine özgü çoğalma proteini olan proliferating cell nuclear antigen (PCNA) ekspresyon düzeyi; hücre bölünmesinin G1 fazında artmaya başlar, S fazı süresince yüksek seviyelerde olur ve G2/M fazında düşmeye başlar. Bu nedenle PCNA, proliferatif hücrelerin tanınmasında bir marker olarak kullanılır. Bu çalışmada PCNA (+) hücre değerlerindeki artış, ince bağırsak hücrelerinin gebelikte proliferasyon aktivitesinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Kelman (1997), immünoperoksidaz yöntemiyle gebe ratların kanlarında PCNA değerlerinde meydana gelen değişimi incelemiştir. Araştırıcı; gebelik sürecinde ratların PCNA değerlerinde artış meydana geldiğini, bu artışın gebelikte metabolik faaliyetlerin ve mitotik aktivitenin artmasından dolayı gerçekleştiğini ifade etmektedir. Acar ve ark (2008), gebeliğin farklı dönemlerinde kontrol grubundaki normal ratların ve diabetik ratların plasenta dokusu PCNA seviyelerini araştırdıkları çalışmalarında; kontrol grubunun PCNA seviyesinin gebeliğin 11. ve 13. günlerinde en yüksek seviyede olduğunu ve gebeliğin ilerlemesi ile belirtilen değerlerin azaldığını belirtmişlerdir. Diabetik grupta ise kontrol grubuna göre, PCNA seviyesinin gebeliğin 11. ve 13. günlerinde daha düşük değerlerde olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada; PCNA seviyesinin gebeliğin 17. ve 21. günlerinde diyabetik grupta, kontrol grubuna göre daha fazla olduğu ve aradaki farkın 17. günde istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirtilmiştir. Araştırıcılar; PCNA'nın diyabetten kaynaklanan anormal plasenta oluşumunda rol oynayabileceğini ifade etmektedirler. Maruo ve ark (2001), insanlarda erken gebelik sürecinde plasenta dokusu PCNA seviyesinin plasenta oluşumunun ilk dönemlerinde en fazla olduğunu, plasenta oluşumun tamamlanmasına paralel olarak PCNA seviyesinin de azaldığını belirtmişlerdir. Elpek ve ark (2000), insanlarda preeklampsili (gebeliğin 2. ve 3. trimesterinde ortaya çıkan, doğumdan sonra gerileyen hipertansiyon) ve normal hamilelik sürecindeki bireylerde plasenta dokusu PCNA seviyelerinin gebelik sürecinde yükseldiğini belirtmişlerdir. Buna karşın; Mohammed ve Ibrahim (2004), gebe olmayan, 3 haftalık gebe ve süt verme dönemlerindeki rat grupları ile yaptıkları çalışmada; kriptlerdeki PCNA (+) yüzdelerinin gebelik sürecinde azalmasına karşın, süt verme döneminde artış gösterdiğini belirtmektedirler. Araştırıcılar; gebeliğin 3. haftasındaki ratların PCNA (+) oranlarının, kontrol grubuna göre düşük seviyede olduğunu,

buna karşın süt verme dönemindeki ratlarda PCNA (+) oranının en yüksek seviyede tespit edildiğini bildirmektedir. Benzer şeklide Oner ve ark (2010), ratlarda gebeliğin erken döneminde uterus luminal epitelinde ve salgı bez epitelinde PCNA (+) immünreaktivitesinin, gebeliğin 2. gününden itibaren azaldığını ve gebeliğin 4. gününden itibaren kaybolduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada; duodenum, jejunum ve ileumda PCNA (+) hücre değerlerinde kontrol grubuna göre; gebeliğin 1. ve 2. haftalarında artış görülürken, 3. haftada azalma tespit edildi. Belirtilen değişimlerin istatistiksel olarak önemli olduğu görüldü ($p<0,05$).

Plasenta oluşumu gebeliğin erken döneminde tamamlanır. Özellikle plasental PCNA'nın; plasenta oluşum sürecindeki hücre bölünmeleri, DNA replikasyonu ve sentezinin bir göstergesi olduğu düşünülmektedir. Gebeliğin ilk dönemlerinde yüksek değerlerde olan PCNA seviyesinin, gebeliğin ilerlemesiyle birlikte azaldığı bilinmektedir. Sonuç olarak; plasenta oluşumun tamamlanmasıyla PCNA seviyesi de azalır. Çalışmadan elde edilen veriler ince bağırsak dokusunda da benzer bir durum akla getirmektedir. PCNA'nın diyabet hastalarında gebeliğin erken dönemlerinde, sağlıklı kişilere nazaran düşük seyrettiği, gebeliğin ilerleyen zamanlarında azalması gerekirken arttığı bilinmektedir. Bu durum yavru gelişiminde malformasyonlara neden olabileceği için erken tespit edilmelidir. Annelerde gebelikte tespit edilecek anormal PCNA seviyeleri ve PCNA seviyelerindeki dalgalanmalar; muhtemel gebelik problemlerine ve diyabet tanısında fikir sahibi olmamızı sağlar.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Gebelik; anne vücudunun yeni bir birey oluşturabilmek için değişimler geçirdiği ve bu değişimlerden hem kendisinin hem de yavrusunun etkilendiği bir dönemdir. Annenin gebelik sürecinde yeterince beslenememesi, sindirim sonucu oluşan monomerlerin ve suyun emiliminde meydana gelecek aksaklıklar yavrunun gelişiminde anormalliklere, hatta ölümlere yol açmaktadır. Bu nedenle gebelik sürecinin sağlıklı bir şekilde ve olması gereken zaman diliminde istenen düzeyde gerçekleşmesi son derece önemlidir. Gebeliğin farklı dönemlerinde ince bağırsaklarda meydana gelen değişimlerin histolojik, enzim histokimyasal ve immunohistokimyasal yöntemlerle incelenmesi, gebelikte sindirim sisteminden meydana gelen düzensizliklerin teşhisinde ve tedavisinde önemli ipuçları sağlayacaktır. Ayrıca farelerden elde edilecek olan sonuçların insanlara genellenmesi veya ortak noktaların olabileceği de düşünülmektedir. Bu bilgiler gebelik döneminde meydana gelen değişimlerin pratiğe dönük sonuçlara uygulanmasının yanında, ince bağırsak dokusunda gerçekleşen hücresel olayların aydınlatılması için daha sonra yapılacak olan çalışmalara da temel oluşturacaktır.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Farelerde, Gebeliğin Farklı Dönemlerinde İnce Bağırsak Dokusundaki Değişikliklerin Histolojik, Enzim Histokimyasal ve İmmunohistokimyasal Yöntemlerle Belirlenmesi

Erhan ŞENSOY

Histoloji ve Embriyoloji (VET) Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ / KONYA-2013

Bu çalışmada, farelerde gebeliğin farklı dönemlerinde ince bağırsak dokusundaki değişikliklerin; histolojik, enzimhistokimyasal ve immunohistokimyasal yöntemlerle belirlenmesi amaçlandı.

Bu amaçla, 12-14 haftalık 24 adet dişi Swiss albino fare kullanıldı. Fareler; gebe olmayan kontrol grubu ile gebeliğin birinci, ikinci ve üçüncü haftalarının ortalarına karşılık gelecek şekilde 4 gruba ayrıldılar (n=6). Her grupta 6 adet olmak üzere; kontrol, 1. hafta, 2. hafta ve 3. hafta grupları oluşturuldu. Çalışma sonlandırılmadan önce fareler tartıldı. Sakrifiye edilen farelerin ince bağırsak ağırlıkları tartılarak, rölatif bağırsak ağırlıkları hesaplandı. Histomorfometrik analizler için örnekler Crossmon'un üçlü boyama tekniği ve PAS boyama yöntemi ile boyandı. ALP demonstrasyonu, simultaneous azo-coupling metoduyla; PCNA proteini ise, strept-avidin biotin peroksidaz kompleks (s-ABC) metoduyla demonstre edildi. Hazırlanan preparatlar, dijital kameralı ışık mikroskobuyla incelendi ve gerekli görülen bölgelerin dijital görüntüleri kaydedildi. Görüntüler dijital analiz programıyla analiz edilerek incelenen parametrelerin sayısal verileri elde edildi.

Duodenum, jejunum ve ileumda; villus yüksekliği, villus genişliği ve villus yüksekliği/kript derinliği oranında gebeliğin son haftasında düşüş olduğu gözlendi. Kript derinliğinin gebelikle birlikte duodenumda artarken, jejunum ve ileumda azaldığı; kas genişliğinin ise ince bağırsağın her bölümünde ilerleyen haftalarında artış gösterdiği tespit edildi. Kadeh hücre sayısının incelenen tüm gruplarda; gebeliğin son haftasında duodenumda ve ileumda arttığı, buna karşın jejunumda azaldığı belirlendi. Duodenum, jejunum ve ileumda nisbi ALP reaksiyon yoğunluğunun kontrol grubuna göre, gebeliğin ilerleyen haftalarında istatistiksel olarak önemli oranda arttığı belirlendi. PCNA pozitif (+) hücre sayısında duodenum, jejunum ve ileumda kontrol grubuna göre; gebeliğin 1. ve 2. haftalarında artış görülürken, 3. haftasında azalma gözlendi.

Elde edilen veriler; dönemler arasında bazı farklar olsa da gebeliğin ince bağırsakta villus parametrelerini, kadeh hücre sayısını, ALP yoğunluğunu ve PCNA (+) hücre sayısını etkilediği sonucuna varıldı.

Anahtar Sözcükler: ALP; fare; gebelik; PCNA; villus.

7. SUMMARY

Determination of the changes in the small intestine of the pregnant mice by histological, enzymehistochemical and immunohistochemical methods

This study was performed to determine of the changes in the small intestine of the pregnant mice by histological, enzymehistochemical and immunohistochemical methods.

For this purpose, twenty four female Swiss albino mice aged 12-24 weeks were used. Mice were divided into 4 groups as non-pregnant control and at the middle of the first, second, and the third week of the pregnancy (n=6 for each group). The mice were weighed just prior to sacrification. The relative intestinal weights were calculated by weighing the small intestine of the sacrified mice. Tissue samples were taken from duodenum, jejunum and ileum regions of the small intestine. Sections were stained with Crossmon's triple staining and PAS method. ALP was demonstrated with simultaneous azo-coupling method and PCNA protein was demonstrated with the strept-avidin-biotin-peroxidase complex (S-ABC) method. The specimens, which were prepared with appropriate histological techniques, were examined under the light microscope equipped with digital camera and the necessary digital images were recorded. By analyzing the images with an image analysis software, the numerical data of the parameters were obtained and analyzed statistically.

In the last week of pregnancy the villus height, villus width and the villus height/crypt depth rations of decreased. The crypt depth was decreasing in jejunum and ileum while it was increasing in duodenum with pregnancy and the muscle width was also found to increase in each section of the small intestine in the later weeks. Goblet cells numbers of all groups increased in duodenum and ileum in the last week of pregnancy, whereas it decreased in jejunum. It was identified that in duodenum, jejunum and ileum, the reaction intensity of relative ALP statistically significant increased in the later weeks of pregnancy compared to the control group. In duodenum, jejunum and ileum PCNA positive cell number was found to increase in the first and the second weeks of the pregnancy whereas, it decreased in the third week compared to the control group.

According to the data obtained at the pregnancy period, though there were some differences among the gestational periods, it was concluded that pregnancy affected villus parameters of the small intestine, goblet cell number, intensity of ALP and PCNA positive cell number.

Key Words: ALP; mice, PCNA; pregnancy; villus.

8. KAYNAKLAR

1. Acar N, Korgun ET, Çaylı S, Şahin Z, Demir R, Üstünel İ. Is there a relationship between PCNA expression and diabetic placental development during pregnancy? Acta Histochemica. 2008; 110(5): 408–17.

2. Adipmoradi M, Navidshad B, Seifdavati J, Royan M. Effect of dietary garlic meal on histological structure of small intestine in broiler chickens. The Journal of Poultry Sci. 2006; 43: 373-8.

3. Akay MT. Sitoloji. 4. Baskı, Ankara, Medisan Yayın Evi, 2004; 124-36.

4. Akpolat M. Gamma radyasyonunun ileum kadehsi hücrelerinde oluşturduğu hasarlara karşı curcumin ve C vitamininin koruyucu etkilerinin ışık ve elektron mikroskobik düzeylerde incelenmesi. Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Morfoloji Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi. 2007.

5. Allen A, Flemstrom G, Garner A, Kivilaakso E. Gastroduodenal mucosal protection. Physiol Rev. 1993; 73: 823-57.

6. Anderson DM, Elsley FWH, McDonald I. Quarterly journaol of physiology. Anat Rec. 1970; 55: 293–300.

7. Aragona P, Puzzolo D, Micali A, Ferrer G. Morphological and morphometric analysis on the rabbit conjunctival goblet cells in different hormonal conditions. Experimental Eye Res. 1998; 66(1): 81-8.

8. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 1.Cilt, Ankara, Güneş Kitap evi. 2006; 25-37.

9. Aslankoç R. Fetal dönem boyunca jejunum ve ileum gelişiminin değerlendirilmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp Anatomi Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. 2002.

10. Avunduk MC, Tavlı Ş, Yol S, Tavlı L, Yavuz A, Güngör S, Yılmaz O. Mide karsinomlarında hücre proliferasyon belirleyicisi olarak PCNA, Ki-67 ve AgNOR kullanımı. Ankara Üniversitesi Tıp Mecmuası. 2000; 53(1): 11-5.

11. Bancroft JD, Cook HC, Stirling RW, Turner DR. Manual of histological techniques and their diagnostic aplication. Singapore, Longman Group Limited. 1994; 135, 147, 206-29.

12. Baserga R. Growth regulation of the PCNA gene. Journal of Cell Sci. 1991; 98: 433-6.

13. Baştürk B, Boyacıoğlu S. Mukozal immün sistem: GALT, NALT ve BALT. Güncel Gastroenteroloji. 2005; 9(2): 120-5.

14. Baumann DE, Elliot JM. Biochemistry, In: Mepham TB, ed. Pregnancy and lactation in mammals. Second edition. Amsterdam, Elsevier. 1983; 437–68.

15. Belaiche J, Delwaide J, Vivario M, Gast P, Louis E, Bonier J. Fundic argyrophil cell hyperplasia in atrophic gastritis: A research for a sensitive diagnostic method. Acta Gastroenterol Belg. 1993; 56(1): 11-7.

16. Bloom W, Fawcett DW. A Textbook of histology. Twelve edition. Philadelphia, WB Sounders Comp. 1975; 141-56.

17. Boass A, Lovdal JA, Toverud SU. Pregnancy-and lactation-induced changes in active intestinal calcium transport in rats. Am J Gastrointest Liver Physiol. 1992; 263(1): 127-34.

18. Browne TG. Some observations on the digestive system of the fowl. J Comp Path Thera. 1922; 35: 12-21.

19. Burdett K, Reek C. Adaptation of the small intestine during pregnancy and lactation in the rat. Biochem J. 1979; 184: 245-51.

20. Burtis CA, Ashwood ER. Alkaline phosphatase, In tietz textbook of clinical chemistry. Second edition. Chicago, WB Soundders Comp. 1999; 676-84.

21. Cairnie AB, Bentley RE. Cell proliferation studies in the intestinal epithelium of the rat: Hyperplasia during lactation. Experimental Cell Res. 1967; 46(2): 428-40.

22. Calbreath FD. Clinical chemistry a fundamental textbook. Third edition. Chicago, WB Saunders Com. 1992; 186-90.

23. Canpolat L, Vardı N. Ranitidin uygulanmasını takiben sıçanların Paneth hücrelerinin histolojik incelenmesi. Turgut Özal Tıp Merkezi Derg. 1999; 6(4): 297-300.

24. Casirola DM, Ferraris RP. Role of the small intestine in postpartum weight retention in mice. Am J Clin Nutr. 2003; 78: 1178–87.

25. Ciancaglini P, Pizavro JM, Leone FA. Polyoxyethylene 9-lauryl ether-solubilized alkalen phosphatase: Synergistic stimulation by zinc and magnesium ions. Int J Biochem. 1992; 24(4): 611-5.

26. Clarke RM. The effects of age on mucosal morphology and epithelial cell production in rat small intestine. J Anat. 1977; 123(3): 805-11.

27. Coleman JE. Structure and mechanism of alkaline phosphatase. Annu Rev Biophys Biomol Struct. 1992; 21: 441-83.

28. Cripps AW, Williams VJ. The effect of pregnancy and lactation on food intake, gastrointestinal anatomy and the absorptive capacity of the small intestine in the albino rat. Br J Nutr. 1975; 33(17): 17-32.

29. Culling FA, Allison RT, Barr WT. Cellular pathology technique, London, Butterworts and Comp. Ltd, 1985; 25-9.

30. Çay M. Pratik fizyoloji. Ankara, Ankara Üniversitesi Basım evi. 1975; 18-32.

31. Çelik L, Açıkgöz Z. Kanatlı hayvanlarda sindirim sisteminin gelişimi ve besleme ile sindirim sisteminin gelişimi arasındaki ilişki. Hayvansal Üretim. 2006; 47(2): 38-47.

32. Çenesiz M, Çenesiz S, Yarım G, Nisbet C. Samsun yöresinde yetiştirilen mandaların farklı yaş ve cinsiyet ile gebelik durumunda hematolojik ve kan biyokimya değerlerindeki değişimler. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2011; 22(1): 1-4.

33. Delwaide J, Latour P, Gast P, Louis E, Belaiche J. Effects of proglumide and enprostil on omeprazole-induced fundic endocrine cell hyperplasia in rats. Gastroenterol Clin Biol. 1993; 17: 792-6.

34. Diler D, Kelek S, Çınar K. Kuluçka sonrası dönemde tavuk (Gallus Gallus Domestica) duodenum Goblet hücrelerinin histokimyasal yapısı. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Derg. (E-Dergi). 2009; 4(1): 40-53.

35. Doğan S. İnce bağırsakta yaşa bağlı değişiklikler. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. 2008.

36. Duman C, Erden BF. Birinci basamak sağlık hizmetlerine yönelik biyokimyasal laboratuvar verilerinin kısa yorumu. Sted. 2004; 13(7): 256-62.

37. Dunn JS. The fine structure of the absorptive epithelial cells of the developing small intestine of the rat. J Anat. 1967; 101(1): 57-68.

38. Dursun N. Veteriner anatomi. İkinci baskı, Ankara, Medisan Yayın evi, 2001; 53-7.

39. Dursun N. Evcil kuşların anatomisi. Ankara, Medisan Yayın evi, 2002; 64-7.

40. Eguchi M. Alkaline phosphatase isozymes in insects and comparison with mammalian enzyme. Biochem Mol Biol. 1995; 111(2): 151-62.

41. Ekin BS. Sıçan ileum ve kolonundaki sinir ağlarının doğum öncesi ve sonrası gelişiminin immünohistokimyasal olarak incelenmesi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. 2007.

42. Elpek GÖ, Karaveli Ş, Keleş N. Preeklampsili olguların term plasentalarında villöz trofoblast preliferasyonunun incelenmesi. Türk Patoloji Derg. 2000; 16(1-2): 10-2.

43. Er H. Normal ve deksametazon verilen sıçan plasentasında hücre siklusu proteinlerinden siklin-e, PCNA ve p27'nin dağılımı. Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. 2007.

44. Erdoğan D, Hatiboğlu MT, Görgün M, Ilgaz C. Özel histoloji. Ankara, Hatiboğlu Yayınları. 1996; 120-4.

45. Eroschenko VP. Di Fore, Histoloji Atlası (Türkçe çeviri, Ataberk S.). 9. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık. 2001; 68-102.

46. Essers J, Theil AF, Baldeyron C, Cappellen VA, Houtsmuller AB, Kanar R, Vermeulen W. Nuclear dynamics of PCNA in DNA replication and repair. Molecular and Cellular Bio. 2005; 25(21): 9350–69.

47. Fell BF. The gut in reproduction. Rep Rowett Inst. 1977; 3:97-107.

48. Fernley HN. Mammalian alkaline phosphatases in the enzymes. New York, Academic Press. 1971; 421-2.

49. Firmansyah A, Suwandito L, Penn D, Lebenthal E. Biochemical and morphological changes in the digestive tract of rats after prenatal and postnatal malnutrition. Am J Clin Nutr. 1989; 50: 216-8.

50. Fishman WH. Perspectives on alkaline phosphatase isoenzymes. Am J Med.1974; 56: 617-50.

51. Foley JF, Dietrich DR, Swenberg JA, Maronpot RR. Detection and evaluation of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in rat tissue by an improved immunohistochemical procedure. Journal of Histotech. 1991; 14(4): 237-41.

52. Folley SJ, Greenbaum AL. Changes in the arginase and alkaline phosphatase contents of the mammary gland and liver of the rat during pregnancy, lactation and mammary involution. National Institute for Research in Dairying. 1946; 41: 261-8.

53. Forstner JF, Oliver MG, Sylvester FA. Production, structure and biologic relevance of gastrointestinal mucins. In: Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JI, Greenberg HB and Guerrant RL, ed. Infections of gastrointestinal tract. New York, Raven Press. 1995; 71-88.

54. Galski H, Fridovich Se, Weinstein D, De Groot N, Segal S, Folman R, Hochberg AA. Synthesis and secretion of alkaline phosphatase in vitro from first trimester and term human placentas. Biochem J. 1981; 194: 857-66.

55. Gartner LP, Hiatt LJ. Color textbook of histology. Second edition. . Chicago, WB Saunder Comp, 2001; 114-27.

56. Gökmen FG. Sistematik anatomi. Dördüncü baskı. İzmir, İzmir Güven Kitapevi, 2003; 56-64.

57. Gu X, Li D, She R. Effect of weaning on small intestinal structure and function in the piglet. Arch Anim Nutr. 2002; 56: 275-86.

58. Gustafsson B. The serotonin producing enterochromaffin cell, and effects of hyperserotoninemia on heart and bone. Norwegian University of Science and Technology Faculty of Medicine, Depertmant of Cancer Research and Molecular Medicine Section for Gastroenterology and Section for Enterocrinology. Doctoral Thesis, 2005.

59. Hall P, Levison D, Woods A. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunolocalization in parafin sections an index of cell proliferation with evidence of deregulated expression in some neoplasms. J Pathol. 1990; 62: 285-94.

60. Harmatz P, Carrington P, Barry V, Hatz R, Bloch K. Intestinal adaptation during lactation in the mouse II. altered intestinal processing of a dietary protein. Am J Phys. 1993; 264: 1126-34.

61. Hatiboğlu MT. Anatomi ve fizyoloji. On dördüncü baskı. Ankara, Hatiboğlu Yayınları, 2003; 196-213.

62. Hatiboğlu MT. Anatomi sözlüğü. Altıncı baskı. Ankara, Hatiboğlu Yayınları, 2005; 67-76.

63. Helvacıoğlu F. Laktasyon evresindeki sıçanlarda obstrüksiyon sonrasında ve yeni doğanlarda ince bağırsak yapısal değişikliklerinin incelenmesi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. 2004.

64. Helvacıoğlu F, Erdoğan D, Elmas Ç. Süt verme evresindeki sıçanlarda deneysel kısmi obstrüksiyonunun ileuma etkisinin ışık mikroskop düzeyinde değerlendirilmesi. Fırat Tıp Derg. 2007; 12(3): 163-7.

65. Henry JB. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. Nineteenth edition. Chicago, WB Saunders Comp. 1996; 276-8.

66. Hiramatsu H, Yasugi S. Molecular analysis of the determination of developmental fate in the small intestinal epithelium in the chicken embryo. Int J Dev Biol. 2004; 48: 1141-8.

67. Howard H. Sussman MB, John L, Lewis J. Placental alkaline phosphatase in maternal serum during normal and abnormal pregnancy. Nature. 1968; 218: 359-60.

68. Hytten FE, Paintin DB. Journal of obstetrics and cynaecology of the British Commonwealth. Biochem J. 1963; 70: 402–7.

69. Hytten FE, Leitch I. The physiology of human pregnancy. Second edition. Oxford, Blackwell Scientific Publ. 1971; 21–5.

70. James PS, Smith MW, Tivey DR. Single-villus analysis of disaccharidase expression by different regions of the mouse intestine. Journal of Physiology. 1988; 401: 533–45.

71. Janeway CM, Xu X, Murphy JE. Magnesium in the active site of Escherichia coli alkaline phosphatase is important for both structural stabilization and catalysis. Biochem. 1993; 32(6):1601-9.

72. Jeacock MK, Monis NF, Plester JA. The activity of alkaline and acid phospatase in the human placenta. J Obst Gynaeo Brit. 1963; 70: 267-73.

73. Jensen H, Lyngbye J, Davidsen S. Histochcmical investigation of the thermostable alkaline phosphate in the normal full term placenta. Acta Obst Gynec Scand. 1968; 47: 436-42.

74. Junqueria LG, Carnerira J, Kelly RO. Temel histoloji. (Türkçe çeviri, Akyüz D.) 8. baskı, Ankara, Barış Kitap evi. 1998; 241-68.

75. Junqueira LG, Carnerira J. Basic histology text & utatlas. Eleventh edition, California, Lange Medical Publ, 2005; 322-31.

76. Kaplan LA, Pesce AJ. Clinical chemistry theory analysis and correlation. Third edition. Baltimore, Mosby Press. 1996: 514-5.

77. Kaplan MM. Alkaline phosohatese. N Eng J Med.1972; 268(4): 200-2.

78. Karahan S, Çavuşoğlu K, Atmaca HT, Yalçın E. Albino farelerde iyonlaştırıcı radyasyonun hepatosit morfolojisi ve prolifere hücre çekirdek antijeni (PCNA) ekspresyonu üzerindeki etkileri. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Derg. 2008; 5(2): 61-6.

79. Kelman Z. PCNA: Structure, function and interactions. London, Rewiew Oncogene Stockton Press, 1997; 14: 629-40.

80. Kierszenbaum AL. Histoloji ve hücre biyolojisi. (Türkçe çeviri, Ataberk S.) Ankara, Palme Yayıncılık, 2006; 74-9.

81. Klumpp S, Schultz JE. Alkaline phosphatase from pramercium cilia and cell bodies, purification and characterisation. Biochem Biophys Acta. 1990; 1037(2): 233-9.

82. Ku SK, Lee HS, Lee JH. A histochemical study of argentaffin endocrine cells in gastrointestinal tract of ovariectomized rats. Korean J Vet Res. 2004; 44: 171-77.

83. Ku SK, Seong S, Lee JH, Lee HS. Changes of gastrointestinal argyrophil endocrine cells in the COLO205 tumor-implanted Balb/c-nu/nu mice. J Vet Sci. 2005; 6(4): 267-71.

84. Kumandaş S, Kurtoğlu S. Çocukluk döneminde alkalen fosfataz enziminin değerlendirilmesi. Yeni Tıp Dergisi. 1992; 9(1): 68-70.

85. Larsen WJ. Human embryology. Fifth edition, New York, Churchill Livingstone, 1993; 161-94.

86. Leeson RC, Leeson ST. Histology. Second edition. Philadelphia, Saunders Comp, 1966; 292-97.

87. Leitner K, Szlayer R, Ellinger I, Ellinger A, Zimmer KP, Fuchs R. Placental alkaline phosphatese expression at the apical and basal plasma membrane in term vilious trophoblast. J Histochem Gytochem. 2001; 49(9): 1155-64.

88. Levine B. The early trophoblast a review including theoretical considerations. Obst Gynec. 1961; 17(6): 769-78.

89. Liuzzi JP, Bobo JA, Cui L, McMahon RJ, Cousins RJ. Zinc transporters 1, 2 and 4 are differentially expressed and localized in rats during pregnancy and lactation. J Nutr. 2003; 133: 342–51.

90. Lodge GA, Heaney DP. Canadian journal of animal science. Anat Rec. 1973; 53: 479-89.

91. Loehry CA, Creamer B. Three-dimensional structure of the rat small intestinal mucosa related to mucosal dynamics. Gut. 1969; 10: 112-20.

92. Lojda Z, Grossrau R, Schibler TH. Enzyme histochemistry. Berlin, Springer-Verlag, 1979, 59-70.

93. Loor G, Zhang SJ, Zhang P, Toomey NL, Lee MY. Identification of DNA replication and cell cycle proteins that interact with PCNA. Nucleic Acids Research. 1997; 25(24): 5041–6.

94. Ma L, Kantrowitz ER. Mutations at histidine 412 alter zinc binding and eliminate transferase activity in Escherichia coli alkaline phosphatase. J Biol Chem. 1994; 269(50): 3614-9.

95. Maga G, Hübscher U. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) a dancer with many partners. Journal of Cell Sci. 2003; 116: 3051-60.

96. Manning JP, Meli A, Steinetz BG. Alkaline phosphatase and β-glucuronidase activity in the rat uterus during early pregnancy. J Endocrinol. 1966; 35: 385-91.

97. Maruo T, Ishihara N, Samoto T, Murakoshi H, Laoag-Fernandez JB, Matsuo H. Regulation of human trophoblast proliferation and apoptosis during pregnancy. Early Pregnancy. 2001; 5(1): 28-9.

98. Matsumoto K, Moriuchi T, Koji T, Nakane PK. Molecular cloning of c-DNA coding for rat proliferating cell nuclear antigen (PCNA)/cyclin. The Emb Journal. 1987; 6(3): 637-42.

99. Matsusawa T, Namura M, Unno T. Clinical pathology reference ranges of laboratory animals. J Vet Med Sci. 1993; 55(3): 351-62.

100. Mayhew TM, Wadrop E, Simpson RA. Proliferative versus hypertrophic growth in tissue subcompartments of human placental villi during gestation. J Anat. 1994; 184: 535-43.

101. Millican PE, Vernon PG, Pain VM. Protein metabolism in the mouse during pregnancy and lactation. Biochem J. 1987; 248: 251-57.

102. Mohammed SA, Ibrahim SH. Histological and immunohistochemical study on the effect of pregnancy and lactation on the jejunal mucosa of albino rat. The Egyptian Journal of Histology. 2004; 27(2): 375-88.

103. Moore KL, Persaud TVN. The developing human. Sixth edition, Philedelphia, Saunders Comp, 1998; 271-303.

104. Moore KL, Persaud TVN. İnsan embriyolojisi (Türkçe çeviri, Arcalı S.). Altıncı baskı, İzmir, Güven Kitapevi, 2002; 252-84.

105. Mozes S, Sefcikova ZF, Lenhardt L, Racek L. Obesity and changes of alkaline phosphatase activity in the small intestine of 40 and 80 day old rats subjected to early postnatal overfeeding or monosodium glutamate. Physiol Res. 2004; 53: 177-86.

106. Murdoch RN, Kay DJ, Cross M. Activity and subcellular distribution of mouse uterine alkaline phosphatase during pregnancy and pseudopregnancy. J Reprod Fert. 1978; 54: 293-300.

107. Okamoto T, Seo H, Mano H, Fuhashi M, Goto S, Tomoda Y, Matsur N. Expression of human placental alkaline phosphatase in placenta during pregnanc. Placenta. 1990; 2: 319-27.

108. Oner H, Oner J, Demir R. Distributions of PCNA and Cas-3 in rat uterus during early pregnancy. Folia Histochem Cytobiol. 2010; 48(1): 71-7.

109. Özaydın T. Kuluçkada deneysel olarak oluşturulan ısı stresinin boylerlerde ince bağırsağın embriyonik gelişimi üzerindeki etkilerinin histokimyasal, immünohistokimyasal ve histometrik metotlarla belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi. 2009.

110. Özdemir D, Aydın A, Atalar Ö. Dişi kobaylarda (Cavia porcellus) duodenum mukozasının postnatal gelişimi üzerine ışık mikroskobik incelemeler. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Derg. 2004; 18(2): 81–4.

111. Özyurtlu N, Gürgöze S, Bademkıran S, Şimşek A, Çelik R. İvesi koyunlarda doğum öncesi ve sonrası dönemdeki bazı biyokimyasal parametreler ve mineral madde düzeylerinin araştırılması. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Derg. 2007; 21(1): 33–6.

112. Palmer MF, Rolls BA. Activities of some metabolic enzymes in the small intestinal mucosa during pregnancy and lactation in the rat. J Reprod Fert. 1980; 60: 231-6.

113. Posen S. Alkaline phosphate. Ann Int Med. 1967; 67(1): 183-203.

114. Posen S, Cornish CJ, Home M, Saini PK. Placental alkaline phosphatase and pregnancy. Ann New York Acad Sci. 1969; 14(2): 733-44.

115. Prentice AM, Spaaij CJK, Godberg GR, Poppitt SD, Raaij JV, Totten M, Swann D, Black AE. Energy requirements of pregnant and lactating women. Eur Jour of Clin Nutr. 1996; 50(l1): 82-7.

116. Quick TC, Ong DE. Levels of cellular retinol-binding proteins in the small intestine of rats during pregnancy and lactation. Journal of Lipid Res. 1989; 30: 1049-54.

117. Robinson JJ. Changes in body composition during pregnancy and lactation. Proceedings of the Nutrition Society. 1986; 45: 71–80.

118. Rodin A, Duncan A, Quartero HWP, Pistofidis G, Mashiter G, Whitaker K, Crook D, Stevenson JC, Chapman MG, Fogelman I. Serum concentrations of alkaline phosphatase isoenzymes and osteocalcin in normal pregnancy. Madrid, Rodin Comp, 1989; 1123-8.

119. Rolls BA, Henschel MJ, Palmer ME. The effects of pregnancy and lactation on the activities of trypsin and chymotrypsin in the rat pancreas. Br J Nutr. 1979; 41: 573-8.

120. Romero A, Gomez F, Villamayor F, Sacristan A, Ortiz JA. Study of the population of enterochromaffin-like cells in mouse gastric mucosa after long-term treatment with ebrotidine. Toxicol Pathol. 1996; 24(2): 160-5.

121. Rose MC. Mucins: structure, function and role in pulmonary diseases. Lung Cellular and Molecular Phys. 1992; 263: 413-29.

122. Ross MH, Romrell LJR. Histology. Second edition, New York, Comstock Pub Ass, 1995; 453-64.

123. Ross MH, Romrell LJR, Kaye GI, Pwlina W. Histology a text and atlase. Fourth edition, Philedelphia, Williams and Wilkins Comp, 2003; 147-69.

124. Sadler TW. Medikal embriyoloji (Türkçe çeviri, Ataberk S.). Yedinci. baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, 2005; 231-59.

125. Sağol Ö. Akciğer kanserlerinde heterojenite nöroendokrin ayrımlaşma P53 proteini ve PCNA olumluluğunun tümör evresi ile ilişkisinin araştırılması. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi. Patoloji Ana Bilim Dalı, Uzmanlık Tezi. 1996.

126. Sakharov IYU, Makasova I, Ermolin GA. Purification and characterisation of intestinal alkaline phosphatase from harp seal comp. Biochem Physiol. 1988; 90(4): 709-14.

127. Scanziani E, Crippa L, Giusti AM, Gualtiari M, Mandelli G. Argyrophil cells in gastrointestinal epithelial tumours of the dog. J Comp Pathol. 1993; 108(4): 405-9.

128. Scheaffer AN, Caton JS, Bauer ML, Reynolds LP. Influence of pregnancy on body weight, ruminal characteristics and visceral organ mass in beef heifers. J Anim Sci. 2001; 79: 2481–90.

129. Scheaffer AN, Caton JS, Bauer ML, Reynolds LP. The effect of pregnancy on visceral growth and energy use in beef heifers. J Anim Sci. 2003; 81: 1853–61.

130. Scheaffer AN, Caton JS, Redmer DA, Reynolds LP. The effect of dietary restriction, pregnancy and fetal type in different ewe types on fetal weight, maternal body weight and visceral organ mass in ewes. J Anim Sci. 2004; 82: 1826–38.

131. Shane JM, Suzuki K. Placenta alkaline phosphate. A review and re-evaluation of its applicability in monitoring fetoplacental function. Obst Gynec Survey.1974; 29(2): 97-105.

132. Simonopoulos T, Jencks W. Alkaline phosphatase is an almost perfect enzyme. Biochemistry. 1994; 33: 1375-80.

133. Sinanoğlu B. Sıçan ileum ve kolonundaki sinir ağlarının doğum öncesi ve sonrası gelişiminin immünohistokimyasal olarak incelenmesi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. 2007.

134. Sorkun HÇ, Özdamar S. Sıçan ince bağırsaklarının gelişimi ve gastrin hücrelerinin dağılımı. Türkiye Klinikleri J Med Sci. 2005; 25: 10-9.

135. Soyuer I, Canöz Ö, Er Ö, Deniz K, Soyuer S. Malign mezotelyomada proliferating nuclear cell antijen (PCNA) immünreaktivitesinin ve mitotik indeksin prognoza etkisi. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg. 2002; 24(3): 115-9.

136. Steeb CB. Effects of insulin-like growth factor-I (IGF-I) peptides on the growth and function of the gastrointestinal tract in adult and suckling rats. The University of Adelaide South Australia Child Healt Reseach Institute. Doctoral Thesis. 1995.

137. Sturkie PD. Avian physiology. Second edition, New York, Comstock Pub Ass, 1965; 125-63.

138. Sunar M. Işık stresi uygulanan bıldırcınlarda ince bağırsaklarda gözlenen morfolojik değişikliklerin incelenmesi. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Anatomi (Veterinerlik) Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. 2008.

139. Şen O, Kayaselçuk F, Zorludemir S, Aydın MV, Erdogan B. Meningiomlarda histopatolojik tanının flovsitometrik DNA analizi, PCNA ve KI-67 ile korelasyonu. Türk Nöroşürurji Derg. 2002; 12: 48-53.

140. Takeuchi T, Gonda T. Cellular kinetics of villous epithelial cells and M cells in rabbit small intestine. J Vet Med Sci. 2004; 66(6): 689-93.

141. Tanyolaç A. Özel histoloji. İkinci baskı, Ankara, Yorum Basım Yayın Sanayi Ltd Şti, 1999; 97-9.

142. Trahair JF, Hardingt R, Bockingt AD, Silvert M, Robinson PM. The role of ingestion in the development of the small intestine in fetal sheep. Quarterly Journal of Experimental Phys. 1986; 71: 99-104.

143. Tsurimoto T. PCNA binding proteins. Frontiers in Bioscience.1999; 4(1): 849-58.

144. Turgut K. Veteriner klinik laboratuvar teşhis, Özel baskı, Ankara, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, 1995; 247-60.

145. Türköz Y, Üstdal M. Sığır karaciğer alkalen fosfatazının saflaştırılması, fizikokimyasal ve kinetik özelliklerinin araştırılması. Optimal Tıp Derg. 1994; 7(1): 31-7.

146. Uni Z, Geyra A, Ben-Hur H, Sklan D. Small intestinal development in the young chick crypt formation and enterocyte proliferation and migration. Br Poult Sci. 2000; 41: 544-51.

147. Uni Z, Smirnov G, Sklan D. Pre and posthatch development of goblet cells in the broiler small intestine effect of delayed access to feed. Poultry Sci. 2006; 82: 320–7.

148. Uysal O. İnsan plasental alkalen fosfatazın histokimyasal lokalizasyonu. Ankara Üniversitesi Dikimevi Melek Yüksek Okulu Derg, Ankara. 2003; 4(2): 13-21.

149. Uzunoğlu N. Alkalen fosfataz enziminin fizikokimyasal özellikleri. T Klin J Med Sci. 1998; 18: 69-75.

150. Valenzuela GJ, Munson LA, Tarbaux NM, Farley JR. Time-dependent changes in bone, placental, intestinal, and hepatic alkaline phosphatase activities in serum during human pregnancy. Clin Chem.1987; 33(10):1801-6.

151. Victoria A, Hildebrandt C, Jeffery S, Babischkin A, Robert D, Koos M, Gerald J, Pepe W, Eugene D. Developmental regulation of vascular endothelial growth/permeability factor messenger ribonucleic acid levels and vascularization of the villous placenta during baboon pregnancy. Endocrinology. 2001; 142(5): 2050–7.

152. Wang L, Li J, Li O, Zhang J, Duan XL. Morphological changes of cell proliferation and apoptosis in rat jejunal mucosa at different ages. World Journal of Gastroenterology. 2003; 9(9): 2060–4.

153. Williamson DH. Regulation of metabolism during lactation in the rat. Reprod Nutr Develop. 1986; 26(2): 597-603.

154. Yener A. Temel histoloji. Dördüncü baskı, İstanbul, Barış kitap evi, 1998; 288-93.

155. Young CM, Lee PC, Lebenthal E. Maternal dietary restriction during pregnancy and lactation effect on digestive organ development in suckling rats. Am J.C. in Nuir. 1987; 46: 36-40.

156. Younoszai MK, Ranshaw J. Intestinal disaccharidases in the rat effects of pregnancy and diabetes. J Nutr. 1976; 106: 504-8.

157. Zutphen LFM, Baumans V, Beynen AC. Laboratuvar hayvanları biliminin temel ilkeleri. (Türkçe çeviri, İde T.). Ankara, Medipres Yayınları Özkan Matbaacılık, 2003; 124-38.