

Ratlarda Asetik Asit ile Oluşturulan Kolitte N ω Nitro-L-Arginin'in Koruyucu Etkisi

PROTECTIVE EFFECT OF N ω NITRO-L-ARGININE IN THE RAT MODEL OF ACETIC ACID INDUCED COLITIS

Dr.Cihat TETİK*, Dr.Birol BOSTANCI*, Dr.Akın ÖZDEN*,
Dr.Neşe DEMİRKAN**, Dr.Okay SAYDAM***, Dr.Gül GÜNER***

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, (*) Genel Cerrahi ABD, (**) Patoloji ABD, DENİZLİ
(***) Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ABD, İZMİR

ÖZET

Amaç: İnflamatuvar barsak hastalıkları (İBH)'nin etyopatogenezinde önemli rol oynayan nitrik oksit (NO)'i inhibe eden ajanlardan biri olan N ω Nitro-L-arginin (N ω NA)'in asetik asit ile oluşturulan deneysel kolitteki etkisini araştırmak.

Durum Değerlendirmesi: İBH ve deneysel kolitte kolonik NO üretiminin arttığı bildirilmektedir. Bunu inhibe etmek amacı ile NG Nitro-L-arginin metil esteri gibi bazı inhibitörler trinitrobenzen sülfonik asit ve asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modellerinde kullanılmakta ve yararlı sonuçları bildirilmektedir.

Yöntem: Sprague-Dawley ratlar; sham grubu (n:6), kontrol grubu (n:6) ve N ω NA grubu (n:6) olarak ayrıldı. Sham grubuna anestezi sonrası transanal 2 ml ve intraperitoneal 3 ml % 0.9 NaCl uygulandı. Sham grubu dışındaki ratlarda deneysel kolit oluşturmak amacı ile daha önceki çalışmalarda kolon üzerine etkisi gösterilmiş olan % 5'lik asetik asid'den 2 ml transanal olarak verildi. Kontrol grubuna 3 ml % 0.9 NaCl, diğer gruba da 300 mg/kg N ω NA intraperitoneal olarak verildi. Kolitin makroskopik ve histolojik derecelendirmesi yapılarak gruplar Fisher Kesin Ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Kolon dokusunda lipid peroksidasyonunu saptamak amacıyla ölçülen malondialdehid (MDA) düzeyleri Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı.

Çıkarımlar: N ω NA grubunda makroskopik ve histolojik olarak mukozal hasar kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az bulundu (p<0.05). Kontrol grubunda ise sham grubuna göre ağır mukozal hasar gözlemlendi (p<0.01). MDA değerlerinin karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

Sonuç: Asetik asidin % 5'lik konsantrasyonda transanal olarak verilmesiyle deneysel kolit oluşturulabilmekte ve N ω NA bu kolit modelinde makroskopik ve histolojik iyileşmeyi sağlamaktadır.

Anahtar kelimeler: Kolit, asetik asid, nitrik oksit, N ω Nitro-L-arginin

SUMMARY

Recently, in inflammatory bowel disease (IBD), increased nitric oxide (NO) production and NO synthase activity have been reported. Inhibitors of NO such as NG nitro-L-arginine methyl ester have treated the mucosal injury in the rat model of trinitrobenzene sulphonic acid or acetic acid induced colitis. In this study, effect of N ω nitro-L-arginine (N ω NA), another inhibitor of NO, in the rat model of acetic acid induced colitis was investigated. Sprague-Dawley rats were divided into three groups:

Group 1 (sham-operated, n: 6), Group 2 (control, n: 6) and Group 3 (treated with N ω NA, n: 6). The rats in sham group received only 0.9 % NaCl, 2 ml transanally and 3 ml intraperitoneally after anesthesia. In order to induce experimental colitis, 2 ml of 5 % acetic acid was introduced by the way of anus in the rats in other groups. Then, 3 ml of 0.9 % NaCl was given intraperitoneally to the rats in control group. The rats in Group 3 received N ω NA (300mg/kg) intraperitoneally. Sections of colon for morphological studies and malondialdehyde (MDA) values were obtained after 24 hours. Statistical analysis for morphological differences was performed according to Fisher's exact test, and for MDA values according to Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U tests. Mucosal injury was less in Group 3 than in Group 2 (p<0.05). Severe mucosal injury was observed in Group 2 while no mucosal injury in Group 1. No significant differences were seen among the groups for MDA values. In this study, we saw that experimental colitis may be induced by 5 % acetic acid, and concluded that N ω NA has treated experimental colitis.

Keywords : Colitis, acetic acid, nitric oxide, N ω Nitro-L-arginine

Kolonun iltihabi hastalıklarından olan ülseratif kolit ve Crohn hastalığının etyopatogenezindeki belirsizlik ve nökslerin önlenmesindeki yetersizlik halen sürmektedir. İnflamatuar barsak hastalıklarının (İBH) ideal tedavisi hastalığın etyopatogenezinin aydınlanması ile mümkün olabilecektir. İBH'nın etyopatogenezinde araşidonik asitten oluşan çeşitli inflamatuvar mediyatörler ile birlikte bozulmuş hücre saldırganlığı ve makrofaj fonksiyonu da rol oynamaktadır (1,2,3). İBH'da barsak duvarını makrofajlar ve nötrofiller infiltrate etmekte ve bu hücrelerin saldırdığı serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonu oluşturarak dokuda oksidatif hasara yol açmaktadır (4). Ülseratif kolit ve Crohn hastalığı olanlarda ve deneysel kolit modellerinde kolonik nitrik oksit (NO) üretiminin ve indüklenen NO sentaz (iNOS) enziminin aktivitesinin arttığı gösterilmiştir. İnflamasyon ve sepsis gibi durumlarda uyarılabilen iNOS, yapısal NO sentaz (cNOS) enziminden farklı olarak aşırı miktarlarda NO üretimine yol açmakta ve bu da organizmada zararlı etkiler göstermektedir (5,6).

Çalışmamızın amacı, NO inhibitörü olan N ω Nitro-L-arginin'in (N ω NA) asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit üzerinde koruyucu etkisinin olup olmadığını araştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma grubunu 220-250 gr. ağırlığında 18 adet erkek Sprague-Dawley ratlar oluşturdu. Ratlar süt pelet yemi ve musluk suyu ile beslendiler. Ratlar çalışma öncesi 24 saat aç bırakıldılar.

Ratlara ketamin (50 mg/kg IM, Ketalar®, Parke-Davis, Eczacıbaşı) ve xylazine (10 mg/kg IM, Rompun®, Bayer) ile genel anestezi uygulandı. Plastik bir kanül anüs yoluyla rektum lümeni içine, ucu anüs orifisinden yaklaşık 8 cm. içerde olacak şekilde işaretlenerek yerleştirildi. İki ml

%5'lik asetik asit kanül yoluyla verildi. Ardından 5 ml hava verildi. Ratlar kafeslerine yerleştirildi. Grupların özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

Grup 1: Sham grubu (n : 6) Anestezi uygulandıktan sonra, kanül rektum lümeni içine yerleştirildi, asetik asit yerine 2 ml serum fizyolojik uygulandı. Ayrıca 3 ml %0.9 NaCl intraperitoneal olarak verildi.

Grup 2: Kontrol grubu (n : 6) Kanül yoluyla 2 ml asetik asit rektum lümeni içine verildi ve 3 ml %0.9 NaCl intraperitoneal olarak uygulandı.

Grup 3 : N ω NA grubu (n : 6) Bu ratlara 2 ml asetik asit verildikten sonra 300 mg/kg N ω NA (SIGMA) intraperitoneal olarak uygulandı.

24 saat sonra ratlar yüksek doz eterle sakrifiye edildi. Laparotomi uygulandı, distal 10 cm.lik kolonik segment rezeke edildi. Her segment tek bir patoloğ tarafından kör olarak Tablo 1' de belirtilen makroskopik değerlendirme için uygulanan skalaya göre değerlendirildi (7).

Histopatolojik inceleme için % 10 formalin içine alınan doku örnekleri parafin bloklara kon-

TABLO 1: MAKROSKOPİK SKORLAMA SİSTEMİ

- 0: Hasar yok
- 1: Ülser yok, lokalize hiperemi var
- 2: Hiperemi ve duvar kalınlaşması veya lineer ülserasyon
- 3: Bir alanda ülserasyon ve inflamasyon (inflamasyon: hiperemi ve duvar kalınlaşması)
- 4: 2 veya daha çok sayıda ülserasyon ve/veya inflamasyon
- 5: 2 veya daha çok sayıda ülserasyon ve inflamasyon var ve bir büyük inflamasyon alanı veya kolon boyunca uzanan (1 cm ve üzeri) ülserasyon

du, 5µ kalınlığında kesitler alındı ve hematoksi-len-eosin (HE) ile boyandı. Işık mikroskopunda; preparatlar tek bir patolog tarafından kör olarak, Tablo 2'de belirtilen histolojik grade skalasına göre değerlendirildi.

TABLO 2: HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME SKORU

- 0: Normal mukoza
- 1: Mukoza veya submukozada hafif ödem ve PNL hücre infiltrasyonu
- 2: Mukoza veya submukozada orta derecede yaygın ödem ve PNL hücre infiltrasyonu
- 3: Yüzey epitelinde eksülserasyon veya glandüler atrofi: Fokal
- 4: Yüzey epitelinde eksülserasyon veya glandüler atrofi: Diffüz veya muskularis mukozayı tutan nekroz
- 5: Yaygın nekroz ve ülserasyon

Malondialdehit (MDA) saptanması amacıyla rektumdan alınan doku örnekleri derhal buzlu serum fizyolojik ile yıkanarak kolon muhtevastan temizlendi, sıvı nitrojende donduruldu ve derin dondurucuda (-70C°) saklandı. Dokudaki MDA konsantrasyonu saptanmasında tiyobarbitürük asit yöntemi kullanıldı(8). Supernatanttan Lowry yöntemiyle protein tayini yapıldı ve nmol/mg protein olarak MDA düzeyleri tespit edildi(9).

İstatistiksel değerlendirme: Sonuçlar ortalama ± standart deviasyon olarak verildi. MDA değerlerinin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. Histopatolojik sonuçların karşılaştırılmasında ise Fisher Kesin Ki kare testi kullanıldı. $p < 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

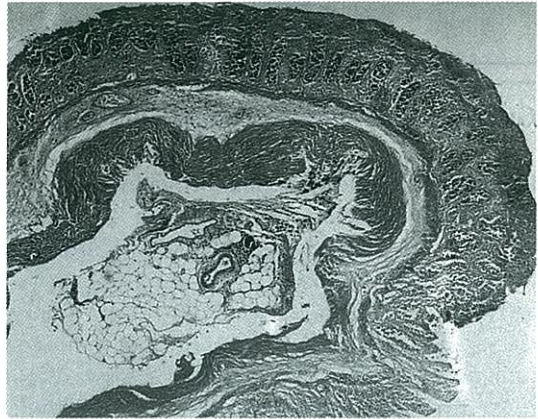
SONUÇLAR

Gruplar arasında makroskopik ve histopatolojik grade değerlerinin karşılaştırılmasında; Grade 2'ye kadar olan değerler hasar yok, Grade 3 ve üzeri hasar var kabul edilecek şekilde tanımlama yapılarak Fisher Kesin Ki-kare testi kullanıldı (Tablo 3).

Makroskopik grade değerleri Grafik 1' de gösterilmiştir (Grup 1: 0, Grup 2: 5.0 ± 0 , Grup 3: 2.66 ± 0.81). Histopatolojik grade değerleri Grafik 2'de gösterilmiştir (Grup 1: 0, Grup 2: 4.16 ± 0.75 , Grup 3: 2.5 ± 0.83). Grupların

MDA değerlerinin ortalaması Grafik 3' te gösterilmiştir (Grup 1: 0.54 ± 0.22 , Grup 2: 0.86 ± 0.52 , Grup 3: 0.80 ± 0.34 nmol/mg protein).

Asetik asit ile belirgin kolit oluşturulan kontrol grubunda hem makroskopik hem de mikroskopik olarak sham grubuna göre ağır hasar gözlemlendi ($p < 0.01$). Grup 3'deki makroskopik ve mikroskopik hasar ise kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az bulundu ($p < 0.05$). Resim 1 ve 2' de Grup 2 ve 3' teki histopatolojik bulgular görülmektedir. Kontrol grubundaki MDA değerleri sham ve N ω NA grubundaki düzeylerden daha yüksek bulunmasına rağmen, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0.05$). İstatistik test sonuçları; K.W. = 2.413908, s.d. = 2, $p = 0.2991$ olarak bulundu.

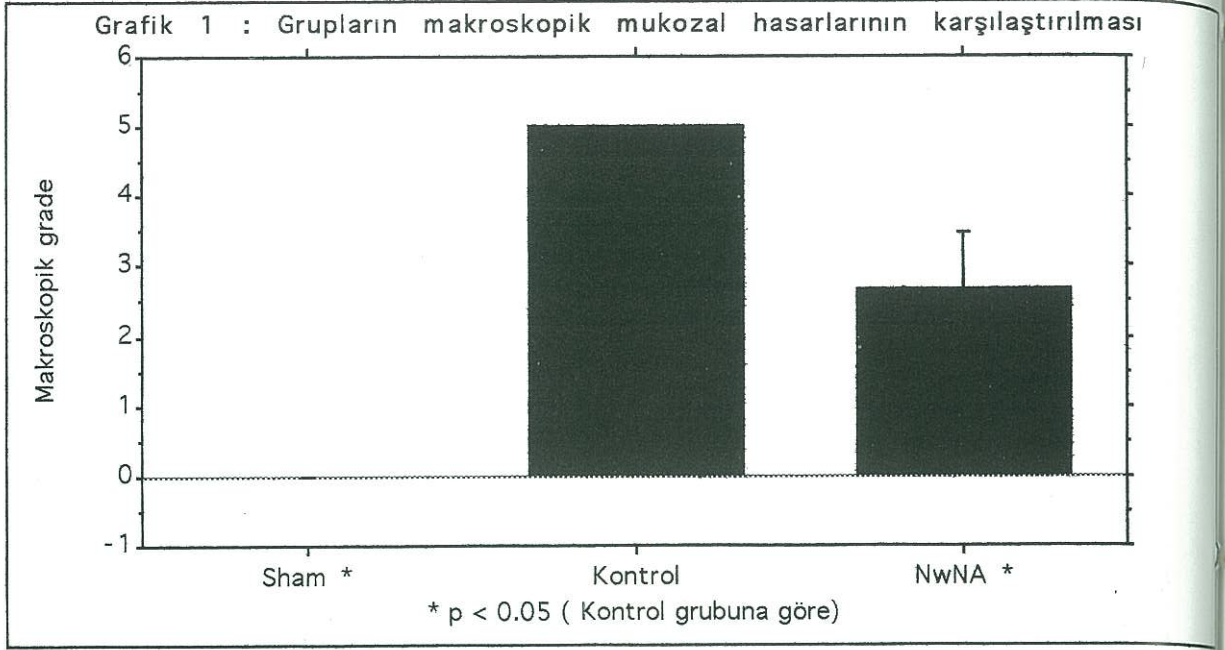


Resim 1: Kontrol grubundaki histopatolojik bulgular (Grade 5, HEx40)

TARTIŞMA

Bu çalışmada N ω NA'in kolon mukozası üzerine koruyucu rol oynayıp oynamadığını araştırmak amacıyla asetik asit ile oluşturulan deneysel kolit modeli seçildi. Bu kolit modelinde asetik asit dozuna bağlı olarak mukozal ödem, hiperemi, nötrofil infiltrasyonu ve mukozal ülserasyonlar gelişmektedir. Mukozal ülserasyonlar insanlarda görülen ülseratif kolittekilere benzetmekle birlikte bazı farklılıklar bulunmaktadır. Asetik asit koliti akut gelişmekte, akut inflamasyon-ülserasyon-nekroz görülmekte ve süratle iyileşmektedir. Oysa ülseratif kolit yavaş olarak ortaya çıkmakta, daha yavaş iyileşmekte ve histolojik olarak akut ve kronik inflamasyon birlikte gözlenmektedir.

Asetik asit ile oluşturulan kimyasal kolit'in

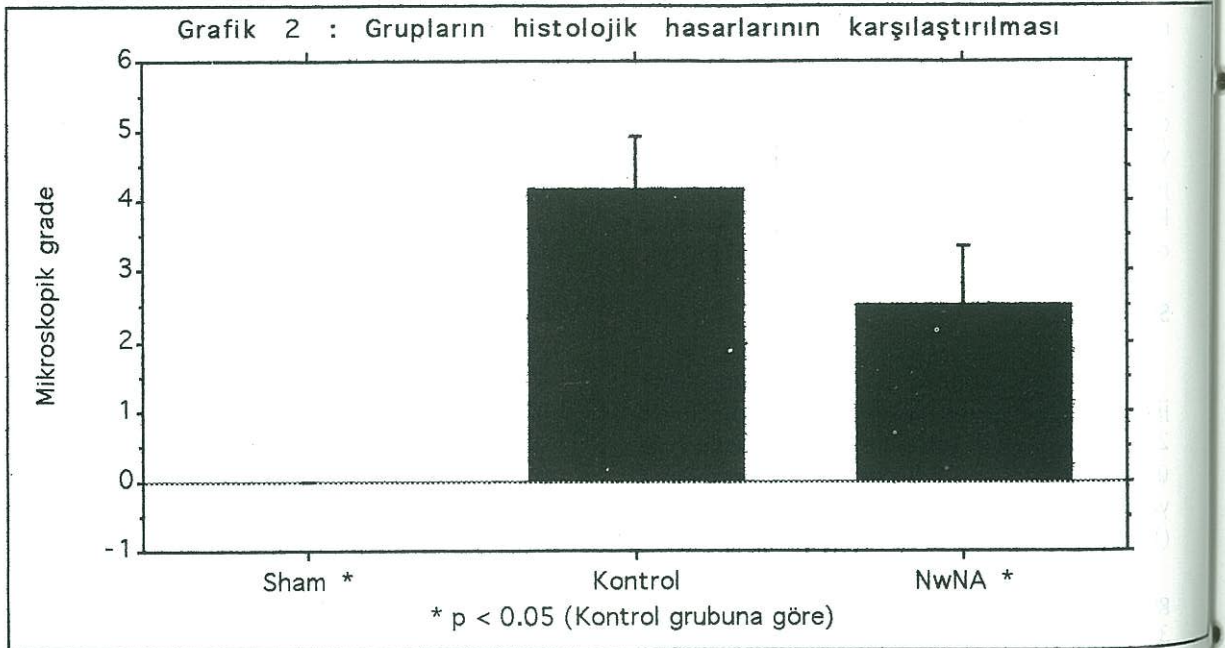


Grafik 1: Grupların makroskopik mukozal hasarlarının karşılaştırılması

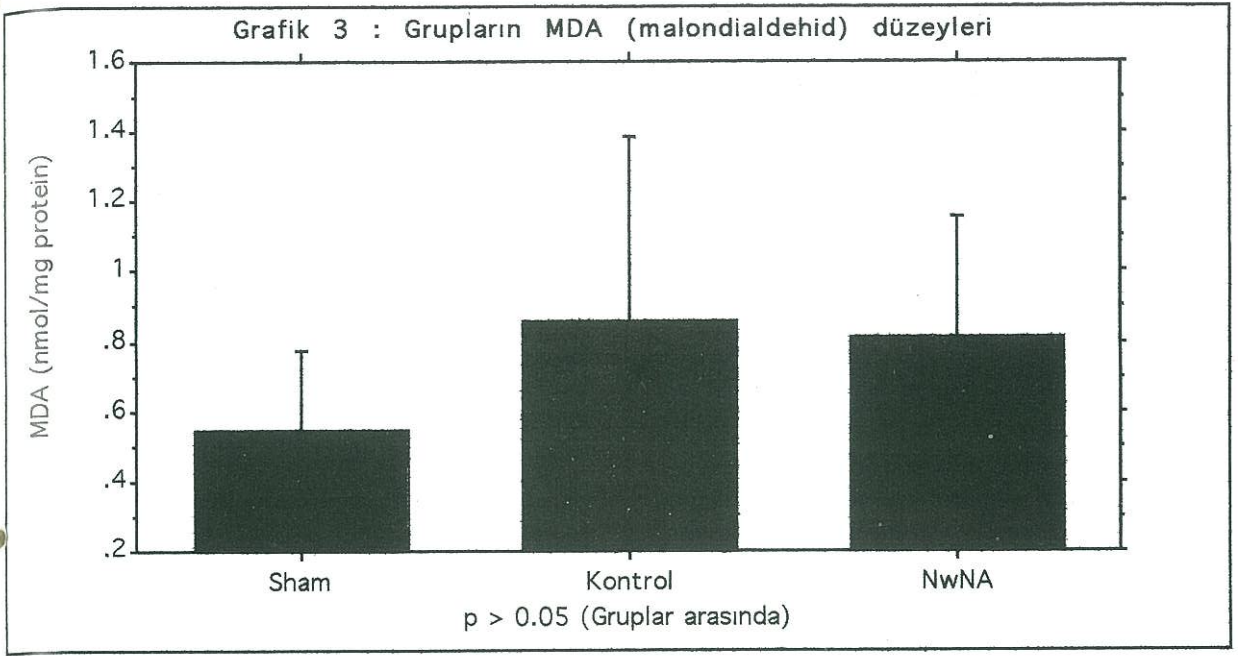
kolonoskop ile biopsi yapılarak incelenmesinde; 10 saatte hiperemi olduğu ve 24 saatte ülserasyonların görüldüğü ortaya konmuştur(10). Kontrol grubumuzda % 5 'lik asetik asit verilen ratlarda 24. saatte belirgin yüzeysel ödem, hiperemi ve ülserasyonların görülmesi çalışmamızda kullandığımız asetik asit konsantrasyonunun kolit oluşturmak için yeterli olduğunu göstermektedir.

Kontrol grubumuzdaki bu sonuçlar literatürdeki çalışmaların makroskopik ve histolojik sonuçlarıyla benzerdir (4,5, 10,11,12,13). Asetik asit yerine serum fizyolojik verdiğimiz sham grubumuzda ise makroskopik ve mikroskopik mukozal hasar olmadığını saptadık.

Vasküler endotelial hücreler, epitelyal hücreler, makrofajlar gibi hücrelerde L-arginin

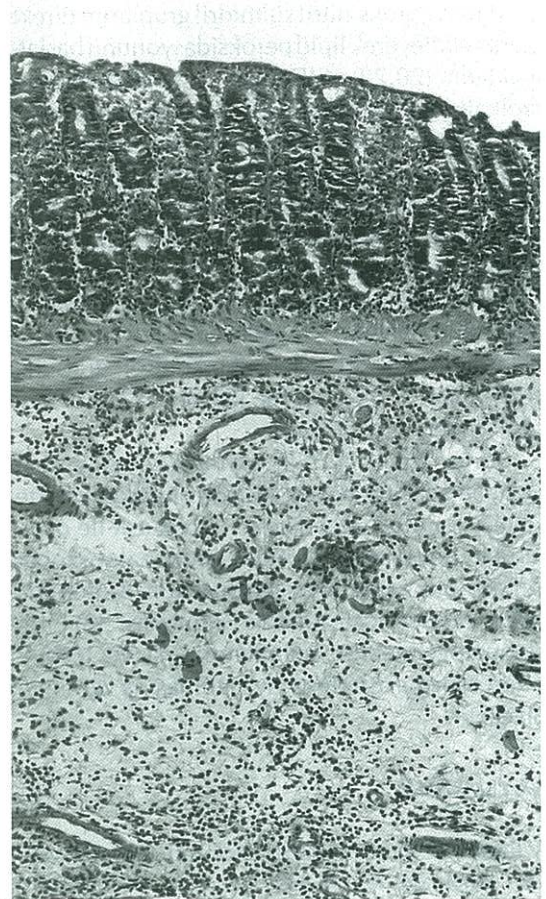


Grafik 2: Grupların histolojik hasarlarının karşılaştırılması



Grafik 3: Grupların MDA (malondialdehid) düzeyleri

amino asidinden NO sentaz enzimiyle sentez edilen NO kan basıncı, vasküler tonüs, immün fonksiyon ve bölgesel kan akımının regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. İki ayrı NO sentaz enziminden biri kalsiyuma bağımlı cNO sentaz (yapısal), diğeri ise inflamasyonda aktive olan iNO sentaz (indüklenebilen)'dir. L-arginin aminoasidinden cNOS aktivasyonu ile üretilen NO birçok organda koruyucu rol oynarken iNOS aktivasyonu ile üretilen aşırı miktardaki NO toksik bir serbest radikal gibi etki göstermektedir (14,15,16,17). Aktif ülseratif kolit ve Crohn hastalığı olanlarda ve deneysel kolitte kolonik NO üretimi ve iNO sentaz aktivitesinin arttığı bildirilmektedir(5,6,18,19). Aktif ülseratif kolit ve Crohn hastalarında NO üretimi normal insan kolon mukozasından 5 ile 20 kat daha yüksek bulunmuştur. Hem asetik asit hem de TNBS (trinitrobenzen sülfonik asit) kolit modellerinde ise NO üretimi ve iNO sentaz aktivitesinin normalden 2 ile 5 kat yüksek olduğu gösterilmiştir(20). TNBS koliti çalışmalarında NO inhibitörü NGNitro-L-Arginin metil ester (L-NAME) verilmesiyle hem NO üretiminde hem de iNO sentaz aktivitesinde azalmayla birlikte arşidonik asit metabolitlerinde (lökotrien B4, C4) ve lökosit aktivasyonunun göstergesi olan myeloperoksidaz enziminde azalma ve makroskopik ve mikroskopik mukozal iyileşme bildirilmektedir (5,21). Asetik asit ile oluşturulan



Resim 2: NwNA grubundaki histopatolojik bulgular (Grade 2, HEx200)

TABLO 3: GRUPLAR ARASINDA MAKROSKOPİK VE HİSTOPATOLOJİK GRADE DEĞERLERİNİN İSTATİSTİKSEL KARŞILAŞTIRILMASI

	Hasar var	Hasar yok	Fisher kesin ki kare testi	iki yönlü p
Grup 1	0 (%0)	6 (%100)	Grup 1- Grup 2	p=0.00108
Grup 2	6 (%100)	0 (%0)	Grup 1- Grup 3	p=0.0455
Grup 3	3 (%50)	3 (%50)	Grup 2- Grup 3	p=0.0455

deneyel kolit modelinde de L-NAME uygulanmasıyla benzer sonuçlar gösterilmiştir (5). Çalışmamızda deneyel kolit asetik asit ile oluşturulmuş ve L-NAME yerine bir başka NO inhibitörü olan N ω NA verilmiştir. Makroskopik ve histolojik olarak mukozal ödem, hiperemi ve ülserasyonlarda kontrol grubuna göre anlamlı iyileşme gözlenmesi yukarıdaki sonuçları desteklemektedir.

İBH ve deneyel kolit modellerinde mukoza makrofaj ve nötrofillerle infiltridir. Aktive makrofajlar ve nötrofiller NO ile birlikte serbest oksijen radikalleri de üretmekte ve bu ikisi birbirleriyle etkileşerek peroksinitrit radikalini oluşturmaktadır. Peroksinitrit sülfhidril gruplarını direkt olarak etkileyerek lipid peroksidasyonunu başlatmaktadır (20,22). MDA gerek serbest oksijen radikalleri gerekse peroksinitrit ile oluşan lipid peroksidasyonunun güvenilir bir göstergesidir (8,23). Çalışmamızda ise, kontrol grubunda sham grubuna göre MDA düzeylerinde anlamlı yükselmenin bulunmaması bu kolit modelinde peroksinitrit formasyonunun ya da serbest oksijen radikallerinin yeterince etkin rol oynamadığını düşündürmektedir. NO inhibitörü N ω NA verilen ratlarda MDA düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma görülmemesi de bu sonucu desteklemektedir.

Sonuç olarak % 5' lik asetik asidin transanal uygulaması ile deneyel kolit oluşturulabilmekte ve NO' i inhibe eden N ω NA asetik asit ile oluşturulan deneyel kolit modelinde makroskopik ve histolojik iyileşmeyi sağlamaktadır. Bu konuda daha ayrıntılı çalışmaların yapılması İBH'nın etyopatogenezinin aydınlanmasına ve tedavisinde yeni görüşlerin ortaya atılmasına yardımcı olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Rachimilewitz D, Simon PL, Schwartz LW, Griswold DE, Fondacara JD, Wasserman MA: Inflammatory mediators of experimental colitis in rats. *Gastroenterology* 1989; 97: 326-337.
2. Neilly PJD, Gardiner KR, Kirk SJ, Jennings C,

Anderson NH, Elia M, Rowlands BJ: Endotoxemia and cytokine production in experimental colitis. *Br J Surg* 1995; 82: 1479-1482.

3. Schreiber S, Raedler A, Stenson WF, Mac Dermott RP: The role of the mucosal immune system in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterol Clin North Am* 1992; 21: 451-502.

4. Keshavarzian A, Morgan C, Sedghi S, Gordan JH, Doria M: role of reactive oxygen metabolites in experimental colitis. *Cut* 1990; 31: 786-790.

5. Rachimilewitz D, Karmeli F, Okon E, Bursztyn M: Experimental colitis is ameliorated by inhibition of nitric oxide synthase activity. *Cut* 1995; 37: 247-255.

6. Mc Cafferty DM, Mudgett JS, Swain MC, Kubes P: Inducible nitric oxide synthase plays a critical role in resolving inflammation. *Gastroenterology* 1997; 112: 1022-1027.

7. Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, Wallace JL: Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 1989; 96: 795- 803.

8. Uchiyama M, Mihara M: Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Ann Biochem* 1978; 86: 271-278.

9. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.

10. Mann NS, Mann SK, Cheung EC: Fiberoptic colonoscopic study of experimental colitis. *Gastrointest Endosc* 1980; 26: 38-40.

11. Fabia R, Willen R, Ar'Rajab A, Andersson R, Ahren B, Bengmark S: Acetic acid-induced colitis in the rat: a reproducible experimental model for acute ulcerative colitis. *Eur Surg Res* 1992; 24: 211-225.

12. Özütemiz AÖ, Aydın A, Akarca U, Alkanat M, Telefoncu A, Çavuşoğlu H, Batur Y: Balık yağından zengin diyetin sıçanlarda gelişen asetik aside bağlı deneyel kolitte koruyucu etkisi. *Kolon Rektum Hast Derg* 1994; 4: 163-167.

13. Başoğlu M, Yıldırım M, Akçay MN, Gündoğdu C, Kavak İ, Polat KY: The effects of octreotide on experimental colitis. *Turk J Med Sci* 1997; 27: 341-344.

14. Rodeberg DA, Chaet MS, Bass RC, Arovitz MS, Garcia VF: Nitric oxide: An overview. *Am J Surg* 1995; 170: 292-303.

15. Billiar TR: Nitric oxide. Novel biology with clinical relevance. *Ann Surg* 1995; 170: 339-349.

16. Özden A, Karaca A, Bilgihan A, Yumbul Z, Türközkan N: Ratlarda 60 dakika karaciğer iskemi

reperfüzyon hasarında pentoksifilin ve L-arginin'in koruyucu etkisi. *Ulusal Cerrahi Dergisi* 1996; 12: 249-254.

17. Abdih H, Kelly CJ, Burke P, et al: Nitric oxide (endothelium- derived relaxing factor) attenuates revascularization-induced lung injury. *J Surg Res* 1994; 57: 39-43.

18. Singer II, Kowka DW, Scott S, Weidner JR, Mumford RA, Riehl TE, Stenson WF: Expression of inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine in colonic epithelium in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1996; 111: 871-885.

19. Boughton-Smith NK, Evans SM, Hawkey CJ, Cole AT, Balsitis M, Whittle BJ, Moncada S: Nitric oxide synthase activity in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Lancet* 1993 Aug 7; 342(8867): 338-340.

20. Rachimilewitz D, Stamler JS, Karmeli F, et al: Peroxynitrite-induced rat colitis- A new model of colonic inflammation. *Gastroenterology* 1993; 105:

1681-1688.

21. Hogaboam CM, Jacobson K, Collins SM, blennerhassett MG: The selective beneficial effect of nitric oxide in experimental colitis. *Am J Physiol* 1995; 268(4 Pt1): G 673-684.

22. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, marshall PA, Freeman BA: Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Sci USA* 1990; 87: 1620-1624.

23. Pompella A, Maellaro E, Casini AF, Ferrali M, Ciccoli L, Comporti M: Measurement of lipid peroxidation in vivo: A comparison of different procedures. *Lipids* 1987; 22: 206-211.

YAZIŞMA ADRESİ:

Dr. Cihat TETİK

P.K. 185 (20003) DENİZLİ

Alkalen Reflü Gastritise Misoprostol'ün Etkisi

THE EFFECTS OF MISOPROSTOL TO THE ALKALINE REFLUX GASTRITIS

Dr.Ayhan ÇEVİK, Dr.Taner PEHLİVAN, Dr.Tayfun YÜCEL,
Dr.Sibel ŞENSU*, Dr.Necmi KURT, Dr.Mustafa GÜLMEN

Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2.Genel Cerrahi Kliniği, (*)Patoloji Kliniği, İSTANBUL

ÖZET

Amaç: Deneysel olarak gastroduodenostomi yapılarak Alkalen Reflü Gastrit (ARG) oluşturulan Wistar tipi 200 gr'lık sıçanlarda misoprostol'ün profilaktik ve terapötik etkinliği araştırıldı.

Durum Değerlendirmesi: Alkalen Reflü Gastrit mide cerrahisini takiben ciddi problemler oluşturabilir. Bu hastalığın profilaktik ve terapötik tedavisi yönünde çalışmalar sürmektedir.

Yöntem: Her birinde 20'şer sıçan bulunan 3 grup oluşturuldu. Tüm sıçanlara gastroduodenostomi uygulandı. Grup 1'e herhangi bir ilaç verilmedi. Grup 2'ye cerrahi girişimi takiben 1. günden başlanarak (profilaktik tedavi), Grup 3'e de 14 hafta sonra, ARG'in histopatolojik olarak saptanmasını takiben (terapötik tedavi) misoprostol oral yoldan verildi. Grup 1 ve 2, 14 hafta, Grup 3 ise 28 hafta sonunda sakrifiye edilerek mideleri, distal özofagus ve proksimal jejunum'u içerecek şekilde çıkarıldı. Mide piyesleri histopatolojik olarak ışık mikroskobunda incelendi.

Çıkarımlar: Histopatolojik incelemede Grup 1'de ARG gelişme oranı %94.1, intestinal metaplazi %58.8, displazi %35.2 olarak saptandı. Grup 2'de ARG gelişme oranı %22.2 idi, intestinal metaplazi ve displazi görülmedi. Grup 3'de ise 28 hafta sonunda ARG gelişme oranı %27.7, intestinal metaplazi %5.5 olarak saptandı, bu grupta displazi gelişimi yoktu. Grup 1 ile 2 ve Grup 1 ile 3, istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; X^2 testinde gruplar arasında anlamlı fark gözlemlendi. Grup 1-2 arasındaki $p < 0.001$, $X^2 = 16.493$, Grup 1-3 arasındaki $p < 0.001$, $X^2 = 15.070$ idi

Sonuç: Bu veriler, misoprostol'ün profilaktik kullanımının ARG ve komplikasyonlarının gelişimini azalttığını, terapötik kullanımında ise ARG'nin histolojik bulgularını geriletmediğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Alkalen reflü gastrit, misoprostol

SUMMARY

In this experimental study, prophylactic and therapeutic effect of misoprostol has been shown histologically on 200gr. weighted Wistar type rats which became ARG (Alkaline Reflux Gastritis) by gastroduodenostomy. Rats were divided into three groups with 20 rats in each and gastroduodenostomy was done on all rats. In Group 1 no medication was given, in Group 2 prophylactic misoprostol was given and 14 weeks later in 20 rats (Group 3) with ARG which were assessed histopathologically, therapeutic treatment was started orally with misoprostol.

In Group 1 and 2 in 14 weeks, in Group 3, 28 weeks later all rats were sacrificed and stomach, distal esophagus and proximal jejunum were resected. Specimens were examined histopathologically with light microscope.

In Group 1; ARG, intestinal metaplasia and dysplasia ratio were 94.1%, 58.5%, 35.2% respectively. In Group 2, ARG incidence was 22.2% and no intestinal metaplasia or dysplasia developed. At the end of the 28th week in Group 3, ARG and intestinal metaplasia ratio were 27.7% and 5.5% respectively and no dysplasia was seen. X^2 test was used in statistical studies between Group 1 and 2 ($p < 0.001$, $X^2 = 16.493$), Group 1 and 3 ($p < 0.001$, $X^2 = 15.070$).

As a result, ARG development and its complications were diminished by using prophylactic misoprostol orally and if it used therapeutically, histopathological findings of ARG will be decreased.

Keywords: Alkaline reflux gastritis, misoprostol

Pilorsfinkterine zarar veren, ortadan kaldıran ya da devre dışı bırakan ameliyatlardan sonra %5-15 oranında Alkalen Reflü Gastrit (ARG) gelişir (1). Epigastrik ağrı ve yanma, bulantı, kusma başlıca semptomlarıdır. ARG'in en önemli komplikasyonunun mide de karsinom gelişimi olduğu bilinmektedir (2,3,4). ARG'li olgularda histopatolojik olarak saptanabilen intestinal metaplazi ve displazinin gastrik karsinogenezin öncüsü olabileceği öne sürülmüştür (5).

Gastroduodenal mukozalarda yoğun olarak bulunan endojen prostaglandinler, midede mukus ve bikarbonat salgısını arttırıp, asit sekresyonunu azaltarak, mukozanın koruyucu mekanizmalarına katkıda bulunurlar. Bu sitoprotektif etkinin mukoza kan akımını arttırmasına da bağlı olabileceği düşünülmektedir (6). Mide ile ilgili birçok fizyopatolojik süreçte (peptik ulkus, gastritis, ARG gibi) endojen prostaglandin seviyelerinde değişme olabileceği öne sürülmüştür (7,8). Code ve arkadaşları köpeklerin mide mukozasına kronik safra temasının zararlı etkilerini ortaya koymuşlardır (7). Robert bu olgularda sitoproteksiyonun endojen prostaglandin sekresyonunu ile sağlanabileceğini bildirmiştir (9).

Bugün için elimizde endojen prostaglandin seviyesini ölçebilecek bir yöntem olmadığı bilinmektedir. Ancak midedeki endojen prostaglandin seviyesini arttırmanın mide mukozasına koruyucu etki yapıp yapmayacağı araştırılmaktadır (10). Bu yollardan biri de ağızdan sentetik prostaglandin analogları vermek ve sonuçlarını değerlendirmektir.

Bu çalışmadaki amacımız, sıçanlarda deneysel olarak ARG oluşturup bunu histopatolojik olarak teyit ettikten sonra, deneklere oral yolla verilen misoprostol'un (sentetik prostaglandin analogu) profilaktik ve terapötik etkinliğini yine histopatolojik olarak ortaya koyabilmektir.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmamıza Ocak 1996'da projemizin onayını takiben Deneysel Tıp Araştırma Merkezi'nde (DETAM) başladık. Çalışmada toplam 60 adet, ortalama 200 gr. ağırlığında Wistar tipi dişi sıçan

kullanıldı. 20'şer sıçandan oluşan üç grup oluşturuldu:

Grup 1: Kontrol grubu

Grup 2: Profilaktik misoprostol uygulama grubu

Grup 3: Terapötik misoprostol uygulama grubu

Tüm sıçanlara eter anestezisi altında, steril koşullarda laparotomi yapılarak, duodenum 3-4.kıtası ile distal mide ön yüzü arasında latero-lateral olarak 5/0 atravmatik ipek ile tek kat üzerinden gastroduodenostomi gerçekleştirildi. Tüm sıçanlara ameliyat bitiminde batin kapatılmadan önce periton içine 5ml %0.9 NaCl solüsyonu verildi. Postoperatif 1.günde oral beslenmeye geçildi.

Grup 1'deki sıçanlara herhangi bir ilaç verilmedi. Grup 2'deki sıçanlara postop 1.gün, Grup 3'deki sıçanlara postoperatif 14.hafta 50µgr/kg dozunda misoprostol (prostaglandin E₁) oral yoldan başlandı. 14 haftalık sürenin ARG gelişmesi için uygun bir süre olduğu literatür bilgisi ile ortaya konuldu ve Grup 1'deki sıçanlara histopatolojik olarak da doğrulandı (Resim 3).

Misoprostol sıçanların sularına katılarak verildi. 200 gr'lık bir sıçanın günlük su gereksinimi 20 ml olarak hesaplandı. 50 µgr/kg'dan her bir sıçanın günlük misoprostol dozu 10µgr olarak belirlendi. İçme suları 20 ml'de 10 µgr misoprostol içecek şekilde konsantre edildi. Yani her 1000 ml suya 500µgr toz haline getirilmiş misoprostol ilave edilerek çözünmesi sağlandı. Spektrofotometrik olarak misoprostol'un içme sularında çözündüğü DETAM farmakoloji laboratuvarlarında ortaya konuldu (prot:96-23). Hayvanlar tek tek özel kafeslerine konularak günlük ortalama 20 ml su verildi ve tümünü içtikleri gözlemlendi.

Grup 2 ve 3'deki hayvanlar 14'er hafta misoprostol kullandılar. Grup 1 ve 2, 14.hafta sonunda, Grup 3 ise 28.hafta sonunda sakrifiye edildi. Tüm sıçanların mideleri, distal özofagus ve anastomoz hattının distalindeki jejunum segmentini de içecek şekilde çıkartıldı. Materyallerden midenin tümü, anastomoz hattı ve özofagusu içeren çok sayıda kesitler alınarak ışık mikroskopunda incelendi ve sonuçlar histopatolojik olarak aynı kişi tarafından değerlendirildi. Gruplar

TABLO 1: GRUPLARDA GASTRİTİS İLE İLGİLİ HİSTOPATOLOJİK DEĞİŞİMLERİN TOPLUCA DEĞERLENDİRİLMESİ

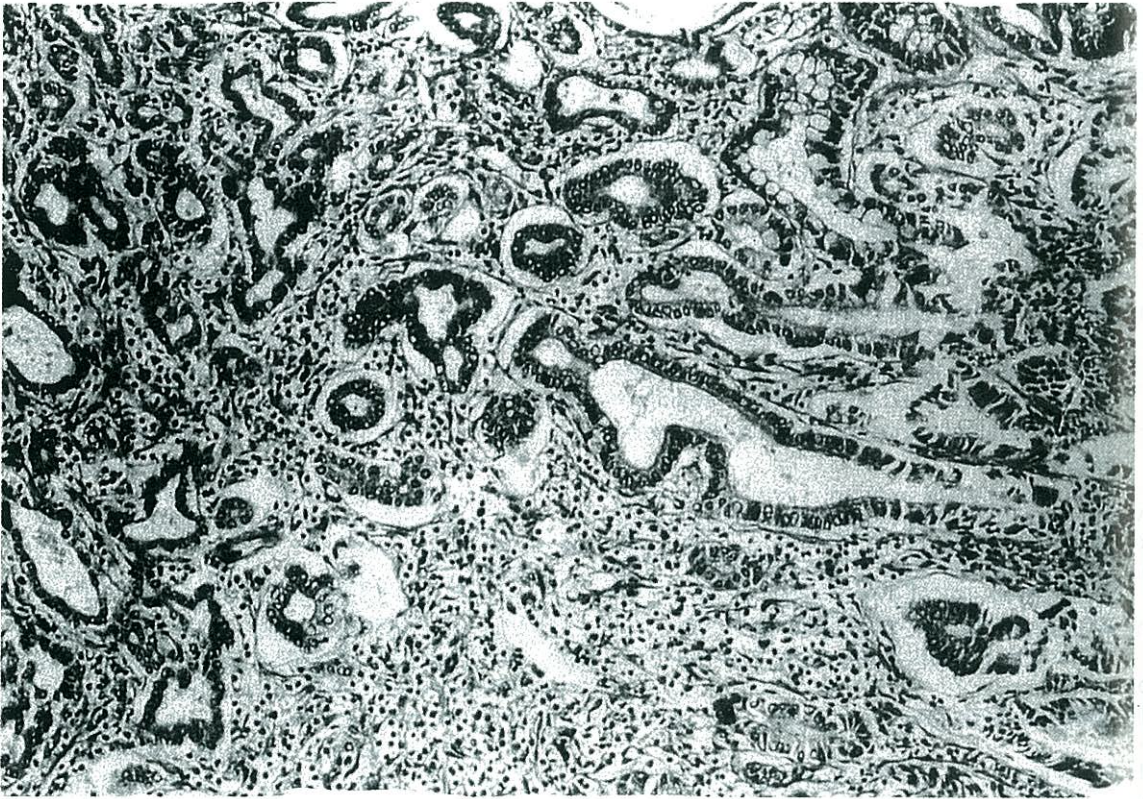
	Kas hipertrofisi, fibrozis, atrofi, yabancı cisim reaksiyonu	Submukoza lenfosit infiltrasyonu, glandlarda dilatasyon-distorsiyon, atrofi ve fibrozis	İntestinal metaplazi	Displazi
GRUP 1	17(%100)	16(%94.1)	10(%58.8)	6(%35.2)
GRUP 2	16(%88.8)	4(%22.2)	-	-
GRUP 3	17(%94.4)	5(%27.7)	1(%5.5)	-

arasındaki istatistiksel anlamlılık X^2 testi ile mikrostat paket programında incelendi.

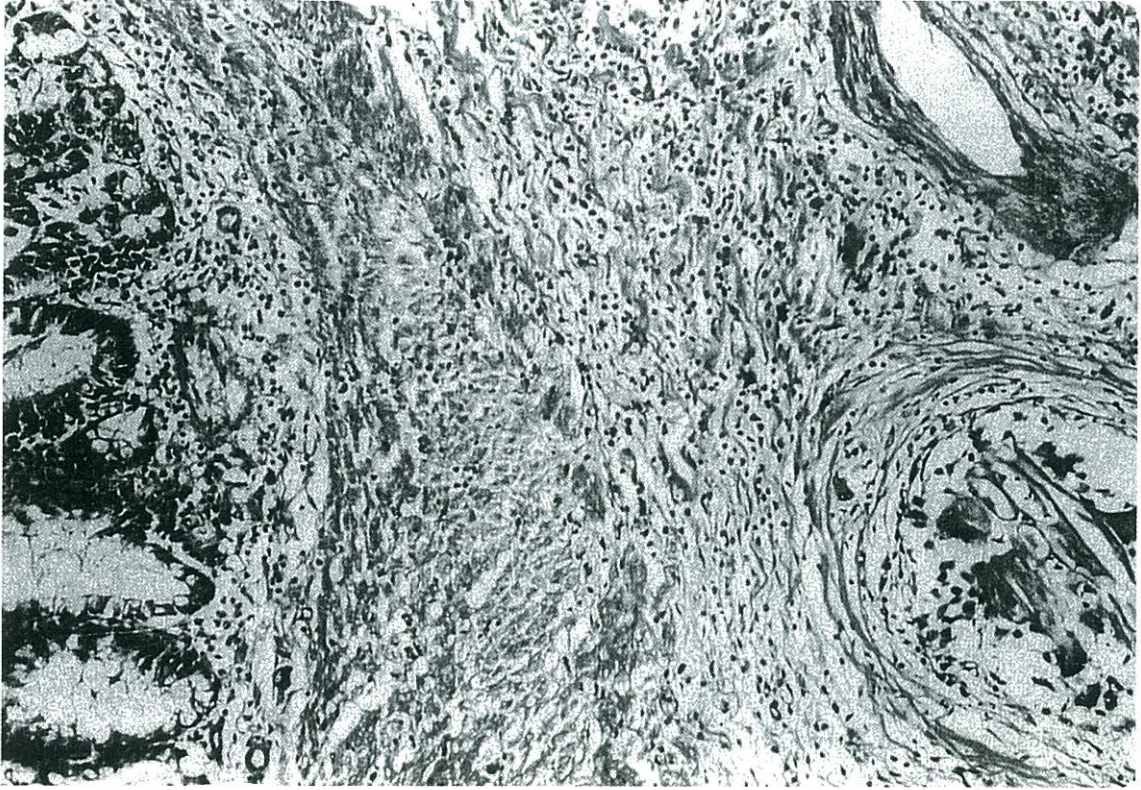
SONUÇLAR

Grup 1'de 3, Grup 2'de 2 ve Grup 3'de 2 olmak üzere toplam 7 denek erken dönemde öldüler. Bunların otopsilerinde üçünde yaygın peritonit bulguları, ikisinde batında kanama saptandı. Grup 1 ve Grup 2'den birer sıçanın otopsisinde ise patolojik bulgu gözlenmedi. Ölen deneklerin tümü çalışma dışı bırakıldı.

Sakrifiye edilen sıçanların midelerinden yapılan kesitlerin histolojik incelemesi Tablo 1'de topluca gösterilmiştir. Grup 1'de 14.hafta sakrifiye edilen 17 sıçanın 16'sında (%94.1) midede yaygın kronik enflamasyon bulguları mevcuttu (pangastritis). Submukozada yaygın lenfosit infiltrasyonu, glandlarda dilatasyon-distorsiyon, yer yer testere dişi ve tırbüşon görünümünde glandlar, atrofi, fibrozis ve hücre rejenerasyonuna bağlı hiperkromazi gözlemlendi (Resim 1). Bunların 10'unda (%58.5) intestinal metaplazi ve 6'sında (%35.2) orta derecede displazi bulguları mevcut-



Resim 1: ARC'de submukozada lenfosit infiltrasyonu, glandlarda dilatasyon-distorsiyon, atrofi, fibrozis ve intestinal metaplazi bulguları (HE x 20)



Resim 2: Anastomoz hattında kas hipertrofisi, mukoza atrofisi, fibrozis ve yabancı cisim reaksiyonu (HE x 20)

tu. Grup 1'deki bir sıçanın mide mukozası normale oldukça yakın görünümdeydi. Submukoza da minimal lenfosit infiltrasyonu dışında patoloji yoktu. Onyedici sıçanın tümünde anastomoz hattında kas hipertrofisi, mukoza atrofisi, fibrozis ve yabancı cisim reaksiyonu bulguları mevcuttu (Resiml 2).

Grup 2'deki 14.hafta sakrifiye edilen 18 sıçandan 14'ünde (%77.7) midenin histopatolojik kesitleri normale yakın görünümdeydi (Resim 3). Bu deneklerin 12'sinde anastomoz hattında kas hipertrofisi, mukoza atrofisi, fibrozis ve yabancı cisim reaksiyonu bulguları mevcuttu. İki denekte anastomoz hattı normal görünümündeydi. Bu grupta sadece 4 sıçanda (%22.2) mukozal ve submukozal gastritis bulguları saptandı. Grup 2'deki sıçanlarda intestinal metaplazi ve displazi gözlenmedi. Onaltı denekte (%88.8) anastomoz hattında patolojik değişimler mevcuttu. Diğer 2(%11.1) sıçanda ise anastomoz hattına yakın distal mide kısmında submukozada lenfosit infiltrasyonu ile seyreden minimal kronik enflamasyon bulguları vardı.

Grup 3'de 28.hafta sakrifiye edilen 18 sıçandan 13'ünün (%72.2) mide mukozası normale

oldukça yakın görünümdeydi (Resim 3). Bunların 12'sinde anastomoz hattında kas hipertrofisi, fibrozis, mukoza atrofisi ve yabancı cisim reaksiyon bulguları mevcuttu. Bir sıçanın anastomoz hattı ise normaldi. Beş (%27.7) sıçanda ise distal mideyi tutan mukozal ve submukozal enflamasyon bulguları gözlemlendi. Birinde bu enflamasyon tüm mideyi tutmuştu ve mukozada intestinal metaplazi de mevcuttu (Şekil 4).

Gruplar arasındaki istatistik anlamlılık değerlendirildiğinde; Grup 1 ile Grup 2 ve Grup 1 ile Grup 3 arasında anlamlı fark olduğu gözlemlendi. Grup 1 (16/17) ve Grup 2 (4/16) için X^2 değeri 16.493 ($p < 0.001$), Grup 1 (16/17) ve Grup 3 (5/17) için X^2 değeri 15.070 ($p < 0.001$) olarak bulundu.

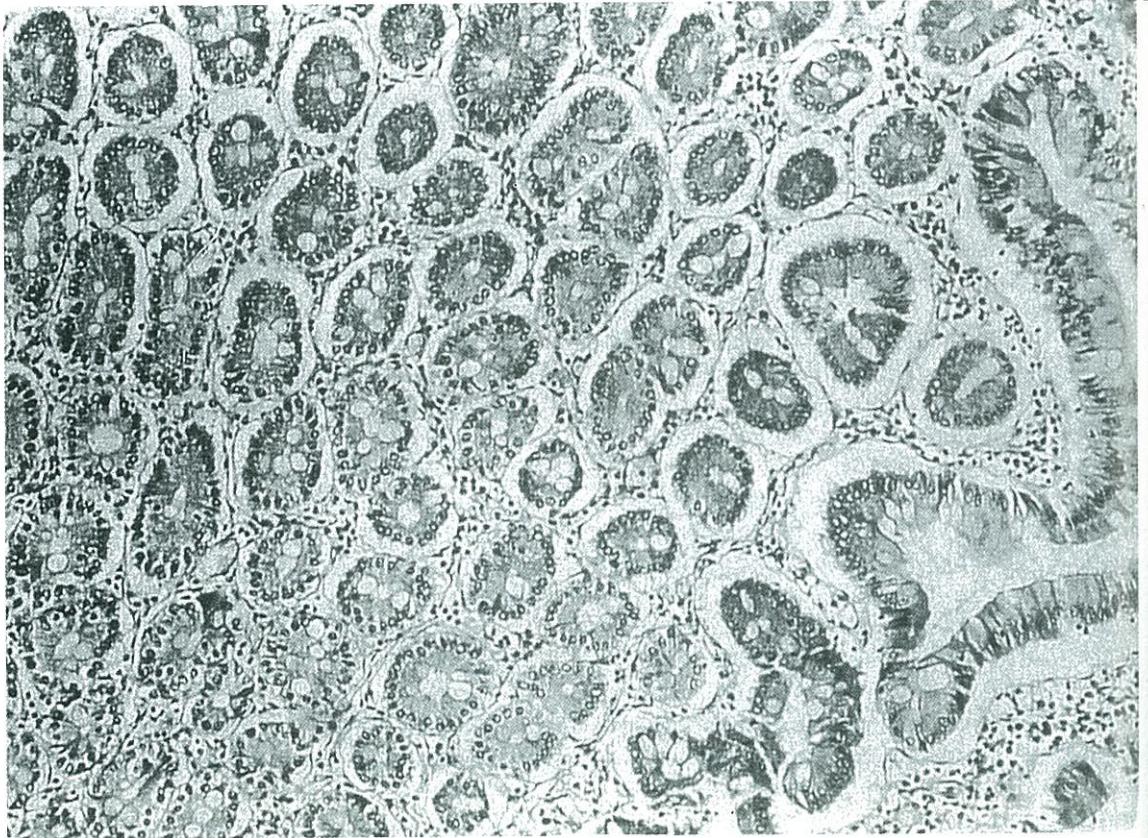
TARTIŞMA

ARG'nin özellikle mideye yönelik cerrahi sonrasında ortaya çıkan bir komplikasyon olduğu bilinmektedir (1,4). Tıbbi tedavisinde karşılaşılan zorluklar, bazen ikincil cerrahi müdahale gerektirmesi ve uzun dönemde midede malign dejenerasyona yol açabilmesi önemini daha da

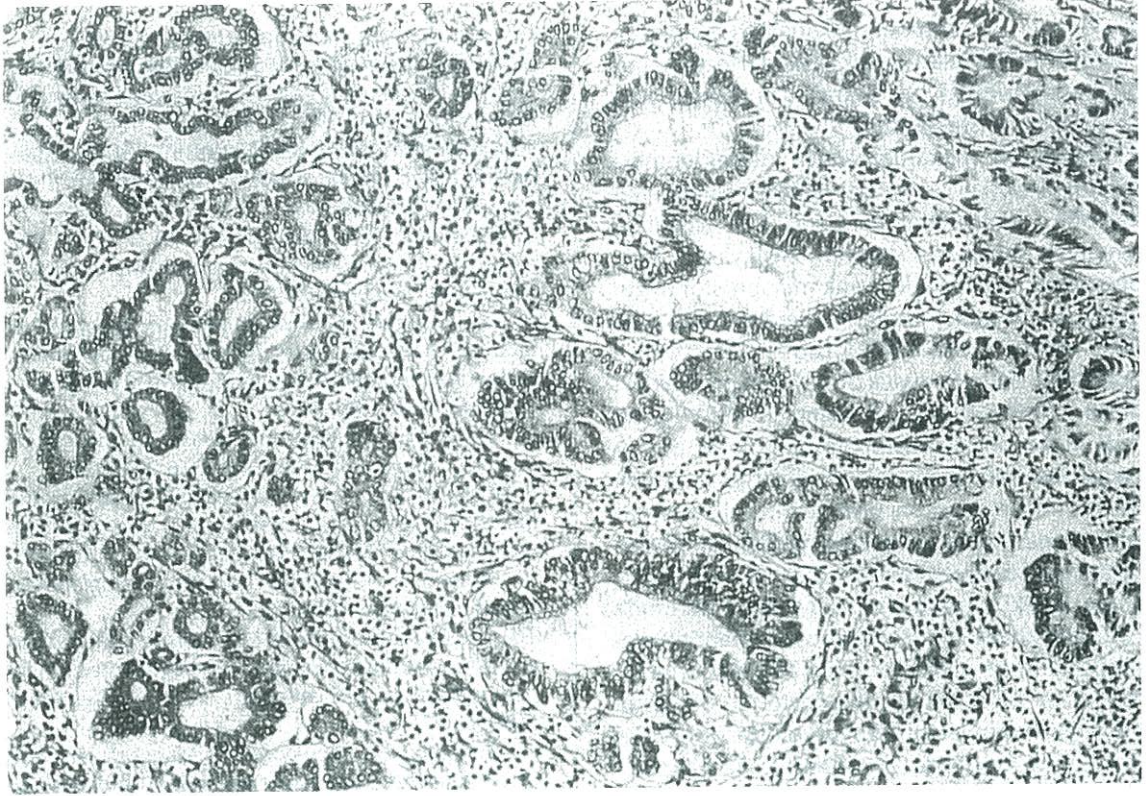
arttırmaktadır. ARG'in fizyopatogenezinin anlaşılması, profilaktik veya terapötik tedavisi amacıyla çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bu konudaki deneysel çalışmalarda çeşitli ARG modelleri geliştirilmiştir. Bu amaçla pilorun mekanik dilatasyonu, piloromiyotomi, gastroduodenostomi, mide rezeksiyonu ve gastroenterostomi, safıralı sıvıların tüp ile mideye verilmesi gibi yöntemler kullanılmıştır (2,3,11,12,13). Biz çalışmamızda bu amaçla gastroduodenostomi uyguladık. ARG gelişmesi için geçen süre farklı ARG modellerinde 9-24 hafta olarak belirtilmiştir (13,14). ARG gelişme oranları ise %58-83 arasındadır (15,16). Bizim kontrol grubumuzda 14 haftalık süre sonunda ARG gelişme oranı %94.1'dir. Bu gruptaki olgularda ARG'nin gelişimi histopatolojik olarak da ortaya konuldu. Bu oranın yüksekliğini geniş bir gastroduodenostomi yapmamıza bağladık.

Mide mukozasının safıralı sıvılarla devamlı teması sonucu ARG gelişimi ve bunun ileride mide kanserine yol açması arasındaki ilişki uzun zamandır araştırılmaktadır. Duodenogastrik reflü ile gastrik karsinogenezis arasındaki ilişki

pankreas salgısı ve safranın mide mukozasında dejenerasyon oluşturması ve mukozanın diğer karsinogenlere duyarlılığını arttırması şeklindedir (5,6). Hiraki'nin bir çalışmasında mide kanseri gelişimi en yüksek oranda safıralı sıvılar ile birlikte karsinogen madde verilen grupta görülmüştür (3). Yine bir başka deneysel çalışmada kombine reflünün (pankreas salgısı-safıra) çok daha karsinogenik olduğu gösterilmiştir (2). Sobola ve arkadaşlarının yaptığı bir klinik çalışmada ise intestinal metaplazi e atrofi bulguları en yüksek oranda duodenogastrik reflü ile birlikte kronik Helicobacter pylori enfeksiyonu olan hastalarda gözlenmiş, intestinal metaplazi ve atrofi bulgularının gastrik karsinogenezin öncüsü olabileceği belirtilmiştir (5). Pankreas salgısı ve safranın mideyle devamlı teması kesilirse mukoza değişimlerinin gerilediği de birçok yayında bildirilmiştir (8,10,11). Pilor fonksiyonunun bozulması ile ortaya çıkan ve fizyopatolojik olarak mide mukozası bariyerinin yıkılması sonucu gelişen ARG'in tanısında mideden aspire edilen sıvının biyokimyasal tetkiki, Tc99m HIDA ile sintigrafi provokatif testler, endoskopi ve mide



Resim 3: Normale yakın mide mukozası bulguları (HE x 20)



Resim 4: ARG'de submukozada lenfosit infiltrasyonu, hücre rejenerasyonuna bağlı hiperkromazi ve displazi ve intestinal metaplazi bulguları (HE x 20)

mukoza biopsisi kullanılmaktadır. Bunlar arasında histopatolojik tanının önemli yeri vardır (1). Biz de tanıda bu yöntemi kullandık. Çalışmamızda ARG'nin histopatolojik tanısında pangastrik tutulumu kriter olarak aldık. Literatür bilgileri de bu doğrultudadır (1,4). Pekçok klinik çalışmada anastomoz hattı değişimlerinin tanıda önemli olmadığı, tüm anastomozlarda aynı değişikliklerin yüksek oranda görüldüğü belirtilmiş ve sadece mideden yapılan çok sayıda biopsi ile doğru sonuç alınabileceği vurgulanmıştır (1). Bizim çalışmamızda anastomoz hattı bulguları gruplarımızda sırasıyla %100, %88.8, %94.1 oranlarında gözleniyordu. Üç grup arasında belirgin fark bulunmayışı anastomoz hattı bulgularının güvenilir olmadığı ve kullanılan dikiş materyaline de bağlı olabileceği konusundaki literatür bilgileri ile uyumludur (4,17,18).

Çalışmamızda Grup 1'de 14.haftada gelişen ARG'de intestinal metaplazi oranı %58.8'dir ve literatürdeki %42-64 arasındaki rakamlarla uyumludur (5,19). Grup 1'deki %35.2'lik mukozal displazi oranı da literatürdeki %23-37 arasındaki

rakamlarla uyum içindedir (3,4). Yine çok sayıda deneysel çalışmada ifade edilen ve %7-27 oranında ortaya çıkan mide kanseri gelişimi ise 14 haftalık süre sonunda hiçbir olgumuzda görülmemiştir (3,5,12).

Sentetik prostaglandin E₁ analogu olan misoprostol'un oral kullanımının nonsteroid antiinflamatuar ilaç alınımına bağlı gelişen gastroduodenal ülserlerin profilaksisindeki etkinliği gösterilmiştir (19,20). Aspirin ve nonsteroid antiinflamatuar ilaç alınımına bağlı gastroduodenal ülserlerde de misoprostol'un mukoza hasarını ve gastrotintestinal sistemden kan kaybını önlediği bildirilmiştir (11). Stres ülserinde oral olarak kullanılan misoprostol etkinliği iki ayrı çalışmada anti-asitler ve simetidin ile eşdeğer olarak bulunmuştur (13). ARG fizyopatolojisinde de endojen prostaglandin seviyelerinde değişme olabileceğine ilişkin kanıtlar vardır (7,9). Russel ve arkadaşları farelerde prostaglandin tedavisi altında iken mide mukozasının safra tuzları ya da aspirin ile birlikte hidroklorik asit ile karşılaştırılması sonucu gelişen erozyon sayısında azalma olduğunu göster-

mişlerdir (10). Cantürk ve arkadaşları sıçanlarda etanol ile oluşturulan gastrik mukozal lezyonların önlenmesinde PgE_2 ve Sukralfat'ın olumlu etkilerini göstermiştir (21).

Koruyucu mekanizmaların desteklenmesi pekçok fizyopatolojik olayı olumlu yönde etkileyebilir. Çalışmamızda Grup 2'de sıçanlara ameliyatı takiben 1.günden başlayarak ARG oluşmadan profilaktik olarak misoprostol uyguladık. Bu grupta 14 hafta sonundaki %22.2'lik ARG gelişme oranının Grup 1'deki %94.1 oranından belirgin düşük oluşu etkin profilaksiyi gösteriyor ($p < 0.001$, X^2 değeri 16.493). Grup 2'de hiçbir orguda histopatolojik olarak mukozada intestinal metaplazi ve displazi gözlenmedi. Bu da misoprostol'ün profilaktik kullanımının ARG'de gastrik karsinogenesis'e kadar gidebilen değişimleri önleyebileceğini düşündürmektedir. Grup 3'deki sıçanlarda ise 14 hafta sonunda ARG geliştikten sonra misoprostol terapötik olarak başlanmıştır. Bu sıçanlarda 28 hafta sonunda %27.7'lik ARG oranı misoprostol'ün terapötik etkinliğinin de mevcut olduğunu gösteriyor. Grup 3'deki sıçanların sadece birinde (%5.5) histopatolojik olarak intestinal metaplazi gözlemlendi. Bu da terapötik kullanımın ARG'deki intestinal metaplazi ve displaziyi geriletmediğini düşündürmektedir (X^2 değeri 15.070 $p < 0.001$).

Sonuç olarak; sıçanlarda yürüttüğümüz deneysel çalışmamızda mide mukozasının saldırgan faktörlerle zarara uğratıldığı durumlarda (örneğin ARG), koruyucu faktörlerle mide mukozaya bariyerinin desteklenmesinin faydası ve bunlar arasında sentetik endojen prostaglandin analoglarının (misoprostol) oral kullanımının önemli bir rol oynayabileceği histopatolojik olarak gösterilmiştir. Misoprostolün profilaktik kullanımının ARG ve buna bağlı olarak da intestinal metaplazi ve displazi gelişimini önleyebileceği ortaya konulmuştur.

ARG geliştikten sonra terapötik olarak oral misoprostol kullanımının reflü gastritis bulgularını azalttığı ve intestinal metaplazi oranlarını düşürdüğü histopatolojik olarak saptanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Burden WR, Hodges RP et al: Alkaline reflux gastritis. *Surg Clin N Am*, 1991;71:33-44.
2. Miwa K, Fujimura T, Hasegawa et al: Is bile or pancreaticoduodenal secretions related to gastric carcinogenesis in rats with reflux through the pylorus.

J Cancer Res Clin Oncology, 1992;118:570-574.

3. Hiraki Y: Experimental study of the effect of bile juice on the remnant gastric cancer development. *J Japan Surg Society* 1991;92:645-651.
4. Ritchie WP: Alkaline reflux gastritis: Late results on controlled trial of diagnosis and treatment. *Ann Surg* 1986;203:537-544.
5. Sobola GM, O'Conner HJ, Dewor EP et al: Bile reflux and intestinal metaplasia in gastric mucosa. *J Clin Pathol* 1993;46:235-240.
6. Sato N, Kawano S, Fukada M et al: Misoprostol-induced changes in gastric mucosal hemodynamics: A double-blind parallel study in human volunteers. *Am J Med* 1987;83:15-21.
7. Code CF: Defense mechanism of the gastric mucosa. *Scand J Gastroent* 1981;16:201-204.
8. Scheurer UC, Schlegel JF, Kelly DG et al: Chronic bile exposure increases resistance of canine gastric mucosa to bile. *Scand J Gastroent* 1981;16:205-210.
9. Robert A: Cytoprotection by prostoglandins. *Scand J Gastroent* 1981;16:223-227.
10. Russel RI, Carmichael HA, Nelson LM: Aspirin and bile acid induced mucosal damage protection by prostoglandins and antacid. *Scand J Gastroent* 1981;16:215-217.
11. Mangham DC, Newbold KM: Mucosal mast cells in reflux gastritis and chronic gastritis. *Histopathology* 1989;15:531-538.
12. Spaziani E, Gence A, Neri T: Chronic gastritis and prostoglandins: Results of endoscopic screening. *Minerva Gastroenterologica and Dietologica*, 1994;40:167-175.
13. Sousa JES, Troncon LEA, Andrade JI et al: Comparison between Henley jejunal interposition and Roux en Y anastomosis as concerns enterogastric biliary reflux levels. *Ann Surg* 1988;208:597-599.
14. Chen MF: A prospective study of the effect of cholecystectomy on duodenogastric reflux in humans using 24-hour gastric hydrogen monitoring. *Surg Gynecol Obst* 1992;175:52-56.
15. Ritchie WP jr: Alkaline reflux gastritis. An objective assessment of its diagnosis and treatment. *Ann Surg* 1980;192:288-298.
16. Gadacz TR, Zuidema GD: Bile acid composition in patients with and without symptoms of postoperative reflux gastritis. *Am J Surg* 1978;135:48-53.
17. Kobayasi S, Tatematsu M, Ogawa K et al: Reversibility of adenomatous hyperplasia in the gastric stump after diversion of bile reflux in rats. *Carcinogenesis* 1991;12:1437-1443.
18. Ballinger A: Cytoprotection with misoprostol: Use in the treatment and prevention of ulcers. *Digestive Diseases* 1994;12:37-45.
19. Aranow JS, Mathews JB, Aguilar JC: Isoperiastaltic jejunal interposition for intractable postgastrectomy alkaline reflux gastritis. *J Am College of Surgeons* 1995;180:648-653.
20. Karlı Ş ve ark: Gastrik mukoza harabiyeti yapan nekrotizan maddelere karşı prostaglandin E'nin

mukoza koruyuculuğu. Ulusal Cerr Derg 1993;9: 98-101.

21. *Cantürk NZ ve ark: Sıçanlarda etanol ile oluşturulan gastrik mukozal lezyonların önlenmesinde prostoglandin E2, sukralfat'ın etkileri. Klin Deney Cerr Derg 1995;3:13-16.*

YAZIŞMA ADRESİ:

Dr.Tayfun YÜCEL
Altunizade Veysi Paşa sok.
100.Yıl Sitesi,
H Blok No:22
Üsküdar, İSTANBUL