



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji Ve Beslenme Bilim Dalı

**ÇOCUKLUK DÖNEMİ GASTRİTLERİNDE
NÖROPEPTİT VE NÖTRAL ENDOPEPTİDAZ
DÜZEYİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLER**

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Uz. Dr. Ali İŞLEK

Antalya, 2013



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
Çocuk Gastroenteroloji, Hepatoloji Ve Beslenme Bilim Dalı

ÇOCUKLUK DÖNEMİ GASTRİTLERİNDE NÖROPEPTİT VE NÖTRAL ENDOPEPTİDAZ DÜZEYİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLER

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Uz. Dr. Ali İŞLEK

Tez Danışmanı: Doç.Dr. Aygen YILMAZ

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2013

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2012.01.0103.012)

TEŞEKKÜR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakóltesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Gastroenteroloji Bilim Dalında yan dal uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım tüm Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerine;

İhtisasım süresince tecrübelerinden yararlandığım, tezimin seçilmesi, planlanması ve yürütülmesi esnasında sabırlı yardımlarından dolayı Doç.Dr. Aygen YILMAZ'a, eğitimim süresince engin bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, güler yüzlerini hiç esirgemeyen hocam Prof. Dr. Reha ARTAN'a, birlikte çalıştığım arkadaşım Uzman Dr. Ersin SAYAR'a, hemşiremiz Havva MOR'a;

Tezimin gerçekleşmesinde büyük emeği olan, tez çalışmamın tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalından Doç.Dr. Nuray ERİN'e, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalından Prof.Dr. Özlem Gülsüm ELPEK'e, uzman biyolog Özlem DUYSUŐ ve Nilüfer EKİNCİ'ye;

Birlikte çalıştığım Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı uzman, asistan ve hemşirelerine;

Maddi manevi desteklerinden dolayı aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kısaltmalar Dizini	v
Tablolar Dizini	vi
Grafikler Dizini	vii
Resimler Dizini	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Gastrik Sekresyon	2
2.2. Koruyucu Mekanizmalar	3
2.3. Gastrit	4
2.3.1. Akut gastrit	4
2.3.2. Kronik gastrit	5
2.3.3. Atrofik Gastrit	7
2.3.4. Sydney Sınıflandırması	8
2.4. İntestinal Nöropeptitler ve Neprilisin	9
2.4.1. Substans P	9
2.4.2. Nötral Endopeptidaz	11
2.4.3. Vasoaktif İntestinal Peptit	11
2.4.4. Kalsitonin Gen İlişkili Peptit	13
3. HASTALAR VE YÖNTEM	14
3.1. Hastalar ve Hasta Gruplarının Oluşturulması	14
3.2. Örneklerin Alınması, Saklanması ve Ölçümlerin Yapılması	15
3.3. İstatistiksel Analiz	16
4. BULGULAR	17
4.1. Gastritli Hastalarda Substans P Düzeyindeki Değişiklikler	19
4.1.1. Hp (+) ve Hp (-) hastalarda SP düzeyindeki değişiklikler	20
4.1.2. Cinsiyetin doku SP düzeyi üzerine etkileri	21
4.2. Gastritli Hastalarda VIP Düzeyindeki Değişiklikler	22
4.2.1. Hp infeksiyonunun doku VIP düzeyi üzerine etkileri	23
4.2.2. Cinsiyetin doku VIP düzeyi üzerine etkileri	24
4.3. Gastritli Hastalarda CGRP Düzeyindeki Değişiklikler	25
4.3.1. Hp infeksiyonunun doku CGRP düzeyi üzerine etkileri	26
4.3.2. Cinsiyetin doku CGRP düzeyi üzerine etkileri	27
4.4. Gastritli hastalarda NEP değişimi	27

5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇLAR	38
7. ÖZET	40
8. ABSTRACT	42
9. KAYNAKLAR	44
10. EKLER	52
Ek 1. Hasta Takip Formu	52
Ek 2. Çalışma Aydınlatılmış Onam Formu	53

KISALTMALAR DİZİNİ

ADAM	A Disintegrin and Metalloprotease
CGRP	Kalsitonin Gen İlişkili Peptit
Hp.	Helicobacter pylori
MALT	Mukoza İlişkili Lenfoid Doku
NEP	Nötral Endopeptidaz
NPY	Neuropeptit Y
NSAİİ	Non Steroidal Antiinflamatuvar İlaç
SP	Substans P
VIP	Vasoaktif İntestinal Peptit

TABLULAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Sydney gastrit klasifikasyonu	6
2.2. Sydney Patolojik Gastrit Sınıflaması	8
4.1. Hastaların demografik özellikleri	17
4.2. Hastaların endoskopik görünüm ve gastritin histolojik sınıflaması	18
4.3. Sağlıklı doku ve gastritli hastalardaki SP düzeyleri	20
4.4. Çalışma grubunda Hp (+) ve Hp (-) hastalarda SP düzeyleri	21
4.5. Sağlıklı doku ve gastritli hastalardaki VIP düzeyleri	22
4.6. Çalışma grubunda Hp (+) ve Hp (-) hastalarda VIP düzeyleri	23
4.7. Sağlıklı doku ve gastritli hastalardaki CGRP düzeyleri	25
4.8. Çalışma grubunda Hp (+) ve Hp (-) hastalarda CGRP düzeyleri	26
4.9. Gastritli hastalarda lenfoplazmositer hücrelerde NEP boyanma durumu	28

GRAFİKLER DİZİNİ

<u>Grafik</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. Sağlıklı doku (n:30), gastrit lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgelerde (n:52) ölçülen SP düzeyleri	20
4.2. Hp ve SP düzeyleri arasındaki ilişki	21
4.3. Lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgelerde kız (n:29) ve erkek (n:23) çocuk hastalarda SP düzeyinin karşılaştırılması	22
4.4. Sağlıklı doku (n:30), gastrit lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgelerde (n:52) ölçülen VIP düzeyleri	23
4.5. Hp ve VIP düzeyleri arasındaki ilişki	24
4.6. Lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgelerde kız (n:29) ve erkek (n:23) hastalarda VIP düzeyinin karşılaştırılması	24
4.7. Sağlıklı doku (n:30), gastrit lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgelerde (n:52) ölçülen CGRP düzeyleri	25
4.8. Hp ve CGRP düzeyleri arasındaki ilişki	26
4.9. Lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgelerde kız (n:29) ve erkek (n:23) hastalarda CGRP düzeyinin karşılaştırılması	27

RESİMLER DİZİNİ

<u>Resim</u>		<u>Sayfa</u>
4.1.	Gastrit olgusunda epitel içerisindeki lenfositlerde CD10 pozitifliği. Bez epitelinde boyanma izlenmiyor (CD10 x 400)	29
4.2.	Gastritte yüzey epiteli altında lenfositlerde yaygın CD10 pozitifliği. Bez epitelinde boyanma izlenmiyor (CD10 x 200)	29
4.3.	Gastritte yüzey epiteli altında lenfositlerde fokal CD10 pozitifliği. Bez epitelinde boyanma izlenmiyor (CD10 x 200)	30
4.4.	Gastritte yüzey epiteli altında lenfositlerde fokal CD10 pozitifliği. Bez epitelinde boyanma izlenmiyor (CD10 x 50)	30
4.5.	Gastritte yüzey epiteli altında lenfositlerde fokal CD10 pozitifliği. Foveolar epitelde boyanma izlenmiyor (CD10 x 400)	31
4.6.	Midede germinal merkezde CD10 pozitifliği. Bez epitel hücrelerinde boyanma izlenmiyor (CD10 x 200)	31
4.7.	Gastriti olmayan olgunun sağlıklı duodenum mukozası yüzey epitelinde fırçamsı kenarlarda ve sitoplazmada süpranükleer yoğun pozitif boyanma (CD10, a: x100, b: x 200)	32
4.8.	Gastriti olan olgunun duodenum mukozası yüzey epitelindeki boyanma kaybının yakından görünümü (CD10, x200)	32

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gastrit mide mukozasının enflamasyonu olarak tanımlanan çocukluk dönemi kronik karın ağrısının önemli nedenlerinden biridir. Mide mukozasının koruyucu ve agresif faktörleri arasındaki dengenin bozulması sonucu gastrit oluştuğu bilinmektedir (1). Ancak mide mukozasının ne koruma mekanizmaları ne de gastrit patogenezi henüz tam olarak bilinmemektedir. Gastrik asit sekresyonunda artış ve *Helicobacter pylori* (Hp) gastrit patogenezinde suçlanan en önemli faktörlerdir. Ancak klasik medikal tedavilere her zaman yanıt alınmaması farklı faktörlerinde gastrit patogenezinde rol aldığını göstermektedir (2). Gastrointestinal sistem lamina propriası, mukoza ile ilişkili lenfoid doku (MALT), geniş bir sinir ağı ile birlikte Vazoaktif intestinal peptit (VIP), Substans P (SP), Kalsitonin gen ilişkili peptit (CGRP) gibi çeşitli nöropeptitler içerir (3). SP'nin immün hücrelerin dokuya göçünü artırdığı, sitokin üretimini artırdığı yani enflamatuvar süreçte rol oynadığı belirlenmiştir (4-7). VIP'in proinflamatuvar sitokinlerin (TNF α , IL-6, ve IL-12) salınımını azaltarak, anti-inflamatuvar sitokinlerin (IL-10 gibi) salınımını artırarak ve Th1 aktivasyonunu azaltarak anti-inflamatuvar etki gösterdiği saptanmıştır (8,9). CGRP vazodilatatör etkiye sahiptir ve ağrının iletilmesinde görev alır. Bu yolağın bloke edilmesi uygun hiperemik yanıtın oluşmaması ile sonuçlanır ve fizyolojik stres faktörlerinin etkisi ve hafif iritan faktörler ile bile mukozal hasar oluşur (9,10). Bununla birlikte gastrik mukozada SP, VIP ve CGRP'nin rolü detaylıca araştırılmamıştır. Nötral endopeptidaz (NEP) membran bağlı bir hücre yüzey enzimi olup ince barsak mukozası fırçası kenarda yoğun olarak bulunmaktadır. NEP'in intestinal epitel hücrelerinin büyüme ve diferansiyasyonunda rol oynadığı sanılmaktadır. NEP SP'yi hidroliz eder ve SP'nin biyolojik etkisini sona erdirir. NEP, SP tarafından regüle edilen enterosit, endotel hücreleri, nöronlar, granülosit, lenfosit ve monositlerde bulunur (11). Ancak gastrik mukozada SP, VIP, CGRP ve NEP düzeylerindeki değişiklikler ile ilgili sınırlı çalışma bulunmaktadır. Altta yatan mekanizmaların bilinmesi yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine yardımcı olacaktır.

Bu çalışmada nöronal ve non-nöronal kaynaklı peptitlerin kronik gastrit patogenezindeki rollerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gastrik Sekresyon

Mide asit salgısı nöronal, hormonal ve parakrin faktörlerce düzenlenir. Üst gastrointestinal sistem hastalıklarında gastrik asit sekresyonundaki değişiklikler patogeneizde önemli rol oynamaktadır. Mide asit salgısı sefalik, gastrik ve intestinal kaynaklı sinirsel ve hormonal uyarılarla düzenlenir. Sefalik uyarılar vagus siniri içerisinde mideye taşınır ve yiyeceğin düşünülmesi, görülmesi, ağıza alınması v.b durumlarda ortaya çıkar. Gastrik faz besinin mideye girmesi ile başlayan fazdır, mide mukozasında lokal refleksler aracılığı ile asit ve gastrin salınımı ve mide motilitesinin aktive edilmesine neden olur. Mide boşalması sonucu mide içeriğinin duodenuma gelmesi burada gerilmeye, Ph'nın düşmesine ve osmolalitenin artmasına neden olur. Bu değişiklikler intestinal stimulusları başlatır. Mide asit salgısının başlıca fonksiyonları: pepsinin aktive edilmesi, asit kimusun duodenuma girmesi ile salınan barsak hormonları aracılığı ile pankreas dışı salgının ve safra akışının arttırılması, bakteri ve diğer mikrororganizmaların öldürülmesi sonucu mide ve ince barsakta kolonizasyonun önlenmesidir (12,13).

Mide duvarında enterik sinir sistemine ait nöronlar bulunur. Enterik sinir sistemi başlıca myenterik (auerbach pleksusu) ve submukozal pleksusları içerir. Submukozal pleksus gastrointestinal salgılamayı ve absorpsiyonu düzenler, myenterik pleksus düz kasları inerve eder ve motor fonksiyonları düzenler. Myenterik pleksus muskularis eksternanın iç sirküler ve dış longitudinal kas tabakası arasında yer alır (14). Myenterik pleksus üst özofagustan internal anal sfinktere kadar tüm gastrointestinal sistem boyunca olmakla birlikte, submukozal pleksus ağırlıklı olarak ince ve kalın barsakta yerleşmiştir. Özefagus ve midede büyük oranda submukozal pleksus bulunmaz bu bölgelerde bazen izole gangliyonlar izlenebilir. Özellikle mide ve rektumda vagus, pelvik sinirler, mezenterik sinirler gibi ekstrinsik sinir sistemi ile birlikte olan mukozada yerleşen subserozal gangliyonlar bulunur (1). Enterik sinir sistemi nonkolinerjik lifler de içerir, bu nöronlardan CGRP, kolesistokinin, SP, VIP, NPY (Neuropeptit Y) salgılandığı bilinmektedir (9).

Hidroklorik asit sekresyonu midenin korpus ve fundusundaki parietal hücreler tarafından sağlanır. Asitin azaltılmasını sağlayan birçok yeni ilacın hedefi olan hidrojen iyon pompası, H-K-ATPaz mekanizması aracılığı ile çalışır. Bunun sonucu epitel hücresi apikal membranı aracılığıyla H^+ ve K^+ iyonları yer değiştirir. Parietal hücrelerin asit sekresyonu nöroendokrin (asetil kolin, vagus), endokrin (gastrin, pepsin) ve parakrin (histamin) yolla uyarılır. Mide asit sekresyonu 3-4 yaş civarında erişkin değerlere ulaşmaktadır (14).

Hp pozitif duodenal ülserli hastalarda bazal ve maksimal asit salınımının arttığı, gastrik kanserli hastalarda ise gastrik asit salınımının azaldığı gösterilmiştir. Hp ile akut enfeksiyon sırasında geçici bir hipoklorhidri dönemi gözlenir. Birkaç ay süren bu durum yerleşim ve çoğalmayı kolaylaştırır. Kronik Hp enfeksiyonu sırasında asit salgısı artabilir, azalabilir veya değişmeyebilir. Çoğu araştırmalar bazal asit salınımının değişmediğini göstermektedir. IL-1 genindeki polimorfizmlerin Hp enfeksiyonu ile gastrik asit salınımı arasındaki karmaşık ilişkiden sorumlu olduğu düşünülmektedir (2).

2.2. Koruyucu Mekanizmalar

Mukus-bikarbonat engeli: Gastroduodenal mukozadan suda erimeyen bir müköz jel salgılanır. Bu mukus 180 μm kalınlığında olup asit ve pepsinin epitelyum yüzeyine ulaşmasını engeller. Mide mukozasındaki mukus tabakası bakteriyel kolonizasyon dahil olmak üzere tüm endojen ve eksojen etkenlere karşı birincil bariyer oluşturur. Hp enfeksiyonunda mûsin sentezi etkilenmemekle beraber bakterinin ürettiği bazı proteolitik enzimler (mûsinaz, lipaz, fosfolipaz) mûsinin ve mukus üreten hücrelerin protein ve lipid yapılarını parçalayarak mukus tabakasına zarar verir (15). Mukus mukozayı sindirim sırasındaki motilitenin yaratabileceği travmalardan ve yüzeysel hasarlar sonrasında gerçekleşen reepitelizasyon sırasında korur. Ayrıca mukus içinde bulunan bikarbonat, hidrojen iyonlarını nötralize eder, pepsin ve hidroklorik asite karşı bir engel oluşturur. Mukoza tarafından bikarbonat yapılması prostaglandinler ve kalsiyum tarafından stimüle edilir, ancak alkol, noradrenalin, taurokolat ve NSAİİ'ler tarafından inhibe edilir (16). Çocuklarda yapılmış çalışma olmamasına karşın, ülserli erişkinlerde mukus tabaka yapısının defektif olduğu, mukus glikoproteinlerinin polimerizasyonunun ve duodenum

bikarbonat sekresyonunun azalmış olduğu gösterilmiştir (16). Mide mukus bariyerinin bozulması hidrojen iyonlarının geri diffüzyonuna ve mide epitelium hücre hasarına neden olur ve dolaylı olarak Hp'nin kolaylıkla penetrasyonuna olanak sağlar (17). Hp'nin tavşanlarda pepsinojen sekresyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Mide asidi ve pepsin varlığında bu salınan pepsinojen de pepsine dönüşerek mide mukus tabakası için tehdit oluşturmaktadır (18).

Prostaglandinler: Gastrik mukozada bulunan prostaglandinler histaminin stimüle ettiği gastrik sekresyonu inhibe ederler. Ayrıca mukus ve bikarbonat yapımını ve mukozal kan akımını arttırmaları. Çok sayıda çalışmada prostaglandinlerin gastrik mukozayı alkol, stres, aspirin ve indometazin zararlarından koruduğu ve ülserli olgularda prostaglandin sentezinin bozuk olduğu gösterilmiştir (19). Hp enfeksiyonunu takiben pro ve antiinflamatuvar sitokinleri içeren güçlü bir lokal ve sistemik immün yanıt başlar. Mikroorganizma ve konakçı immün sistemi arasındaki karmaşık etkileşime ve oluşan güçlü immün yanıtı rağmen mikroorganizma mide mukozasında kolonize olur. Hayvan modellerinde Hp enfeksiyonunun Th1 immün yanıtı açtığı gösterilmiştir (20). Bu immün yanıt gastrik atrofi ve intestinal metaplazi ile sonuçlanmaktadır. Başka mikroorganizmalarla ko-enfeksiyonlar sonucu immün yanıtın Th2 yönüne çevrilmesi gastrik atrofi riskini azaltır (21,22).

2.3. Gastrit

Gastrit mide mukozasının inflamasyonu olarak tanımlanır. Gastrit histolojik bir tanıdır. Atrofi ve metaplaziye yol açabilen mukozal değişiklikler ile karakterli, lenfosit ve/veya plazma hücrelerinin baskınlığıyla kronik inflamasyon tarzında olabileceği gibi bazen nötrofil lökosit infiltrasyonu ile akut gastrit formları da görülebilir. Etiyolojide farklı etkenler ve gastrit derecelendirmesinde çeşitli sınıflandırmalar olmasına rağmen Sydney klasifikasyon sistemi yaygın kabul görmüştür (Tablo 2.1) (23).

2.3.1. Akut gastrit

Gastrik mukozanın akut inflamatuvar bir olayıdır. Akut hemorajik gastrit genellikle kimyasal hasar veya iritanlara karşı gelişen yaygın bir reaksiyon olarak tanımlanmaktadır. Alkol, aspirin, NSAİİ gibi maddeler suçlanmaktadır. Bunun yanında travma, cerrahi, sepsis ve yanıklarla birlikte görülebilir. Etiyolojik ajanlar,

mide asit yapımında artma, bikarbonat yapımında azalma, mukozal kan akımında azalma ve mukozal epitelde hasar yaparak akut gastriti oluşturur (24). NSAİİ'lara bağlı mukozal hasar prostoglandin sentezinin azalmasına bağlı olarak meydana gelmektedir. Vasküler geçirgenliğin artması ile oluşan kapiller konjesyon ve polimorfonükleer lökositlerin adhezyonu, inflamasyonu ve serbest radikal formasyonunu başlatarak hasara neden olmaktadır. Stres ve şok doku perfüzyonunun bozulmasına, vazoaaktif aminlerin ve lökotrienlerin birikmesine buda mukozal bariyerin bozulmasına neden olur (24-26). Akut gastrit biyopsi materyallerinde nadiren görülür. İnflamasyon genellikle geçici ve asemptomatiktir ya da hafif düzeyde gastrointestinal rahatsızlık ile birlikte. İnflamasyonun beraberinde mukoza içinde kanama olabilir, ağır durumlarda erozyon veya ülserasyon gelişebilir (27). Mide mukozasının koruma mekanizmaları henüz tam olarak bilinmediği için gastrit patogenezi de tam bilinmemektedir. Akut gastritin hafif formunda lamina propriada sadece orta derecede ödem ve hafif vasküler konjesyon görülür. Yüzey epitel korunmuştur. Yüzey epitel hücreleri arasında veya mukozal glandların epitelinde ve lümeninde seyrek nötrofil mevcuttur. Bazal membranın üzerinde (epitelyal alanda) nötrofillerin varlığı anormaldir ve aktif inflamasyonu gösterir. Daha ağır mukoza hasarında erozyon ve hemoraji gelişir. Erozyon mukozada oluşan defektin muskularis mukozayı geçmediği yüzey epitel kaybını tanımlar. Kuvvetli akut inflamatuvar infiltrasyon ve lümenine fibrin içeren pürülan eksuda çıkışıyla birlikte görülür. Erozyon ve hemoraji birlikte görülüyorsa akut eroziv hemorajik gastrit olarak adlandırılır.

Anatomik değişikliklerin ağırlığına bağlı olarak akut gastrit tamamen asemptomatik olabileceği gibi epigastrik ağrı, bulantı, kusma, hematemez, melena ve fatal kan kaybı şeklinde de ortaya çıkabilir. Etken ortadan kalktıktan sonra etkenin şiddeti ve maruz kalma süresine bağlı olarak mukoza birkaç gün içinde tamamen normale dönebilir (28).

2.3.2. Kronik gastrit

Mide mukozasının inflamasyonu olarak tanımlanan gastrit, çocuklardaki karın ağrılarının en önemli nedenlerinden biridir (29). Mide ve duodenal mukozanın koruyucu ve agresif faktörleri arasındaki dengenin bozulması sonucu, bozukluğun derecesine bağlı olarak inflamasyon, gastrit veya ülser oluşmaktadır.

Tablo 2.1. Sydney gastrit klasifikasyonu.

	GASTRİT TİPLERİ		ETİYOLOJİK FAKTÖRLER
Genel Formlar	Non-atrofik		H. pylori ve diğer faktörler
	Atrofik	Otoimmün	Otoimmünite
		Multifokal Atrofik	H. pylori Diyet ve çevresel faktörler
Özel Formlar	Kimyasal		Safra, NSAİİ ve diğer kimyasal ajanlar ile
	Radyasyon		Radyasyon hasarı
	Lenfositik		İmmün mekanizmalar, gluten, H. pylorive tiklopidin benzeri ilaçlar
	Noninfeksiyöz		Crohn, Sarkoidoz, Wegener hastalığı, idiopatik
	Eozinofilik		Yiyecek alerjisi
	İnfeksiyöz		Bakteri, virüs, mantar ve parazitler

Hp ile kronik gastrit gelişimi arasında çocuklarda ve erişkinlerde kuvvetli bir ilişki bulunmaktadır (30-33). Gastrointestinal patolojiler daha çok erkeklerde görülmesine karşın, Hp'ye bağlı gastrit her iki cinste eşit olarak saptanmıştır (34). Hp mide hücre fonksiyonlarını bozar, bikarbonat sekresyonunu azaltır (35). Hp inflamasyonlu mukozaya yerleşen fırsatçı bir mikroorganizma değildir (36,37). Crohn hastalığı, eozinofilik gastrit gibi sekonder gastrit nedenleri Hp'nin midede yerleşme ve çoğalma sıklığını artırmaz. Çocuklarda ve erişkinlerde Hp'nin mide mukozasından uzaklaştırılması gastritin iyileşmesi ile sonuçlanır (30,38,39). Enfekte bireylerin hepsinde kronik gastrit gelişmesine rağmen hastaların çoğunda klinik bulgu olmaz ve asemptomatik seyir izlenir. Hp gastritinin tanısında hastalığın derecelendirilmesi için Sydney klasifikasyonu kullanılmaktadır (Tablo 2.2). Buna göre inflamasyonun yeri esas olmakla birlikte inflamasyon, aktivite, atrofi, intestinal metaplazi ve Hp varlığı hafif, orta ve ağır şeklinde tanımlanmaktadır. Kronik inflamasyon her büyük büyütme alanında 2-5'den daha fazla lenfosit, plazma hücresi ve/veya makrofajdan daha fazla hücre bulunmasıdır. Çocuklarda Hp enfeksiyonunun da mukoza biyopsilerinde plazma hücreleri ve lenfositler belirgin olarak artar. Genellikle yüzeysel inflamasyon söz konusudur. Nadiren tüm mukozada inflamasyon görülebilir (40,41). Aktivite ise biyopsi örneklerinde nötrofil varlığı ve yoğunluğu esasına dayanır. Erişkinlerde nötrofil varlığı hemen daima Hp

enfeksiyonu lehine yorumlanır. İntraepitelyal nötrofil yoğunluğu mukozal hasarın yaygınlığını gösterir. Çocuklarda ise nötrofil yoğunluğu erişkinlere göre belirgin olarak az görülmektedir (41). Çocuklarda erişkinlerden farklı olarak lenfosit infiltrasyonu daha ön plandadır (42).

2.3.3. Atrofik gastrit

Gastik mukoza atrofisi glanduler dokunun kaybı olarak tanımlanır, çocuklarda çok nadirdir. Glanduler kayıp olduğunda ve rejenerasyon kaybıda olursa fibroblastlar ve ekstraselüler matriks glanduların yerini doldurur (41). Hp ile enfekte olan kişilerin yaklaşık %50'sinde yaşamları boyunca bazı topografik bölgelerde ve derecelerde atrofi gelişebileceği tahmin edilmektedir. Atrofinin gelişmesi Hp enfeksiyonunun seyri açısından önemlidir. Atrofi gelişmeyenlerde duodenal ülser riski artmıştır ancak kanser riski artmaz. Ancak atrofi gelişenlerde mide ülseri, displazi ve adenokanser açısından artmış risk vardır (42). Hp'nin indüklediği uzun süreli gastrik inflamasyon sonucu mide kanserine ilerleyişte ilk önemli basamak olduğuna inanılan atrofik gastrit gelişir. Japonya'dan Asaka ve arkadaşlarının 2455 hastalık bir grupta yaptığı büyük popülasyon çalışmasında Hp ile enfekte kişilerde gastrik atrofi %80 oranında saptanırken, Hp negatif olan hastalarda %10 oranında gastrik atrofi saptanmıştır (43). Avrupa'dan yapılan başka çalışmalarda asemptomatik erişkinlerde gastrik atrofi sıklığı %22-37'dir. On bir yılı aşkın takip süresinde kronik atrofik gastriti olanlarda mide kanseri gelişme sıklığı da %7-13 olarak bildirilmiştir (44,45). Japonya'da yapılan prospektif bir çalışmada gastrik atrofi bulunan ve Hp saptanan hastalarda gastrik kanser gelişme riski altı kat artmış bulunmuştur (46). Hp saptanan ancak gastrik atrofi bulunmayan olgularda gastrik kanser riskinin artmadığı görülmüştür. Bu nedenle gastrik atrofi gelişmesi mide kanseri gelişmesinde kritik basamaktır. Hp tedavisi ile gastrik kanser gelişme riskinin azaldığı gösterilmiştir (47). Eradikasyon tedavisinin gastrik atrofi gelişmeden önceki basamakta yapılması önemlidir.

2.3.4. Sydney Sınıflandırması

İnflamasyon ve aktivite: Çocuklarda ve erişkinlerde normal mide mukozasındaki mononükleer hücrelerin sayısı hakkında net bir bilgi olmadığından kronik gastrik inflamasyonun tanımı oldukça güçtür. Genel olarak kabul görmüş kronik inflamasyon tanımı; her bir büyütmeye 2-5'den fazla lenfosit, plazma hücresi ve/veya makrofaj görülmesidir (Tablo 2.2). Hp ile enfekte çocuklarda mukozal biyopsi örneklerinde plazma ve lenfositler benzer oranda bulunmaktadır. İnflamatuar hücreler genellikle yüzeysel yerleşir, olguların çok azında tüm mukozada inflamasyon görülür. Sydney klasifikasyonunun parametrelerinden olan aktivite, mide biyopsisindeki nötrofil varlığını ifade etmektedir. Hp ile enfekte erişkinlerde nötrofil aktivasyonu mutlaka izlenir ve mukozal hasar ile sonuçlanır. Çocuklarda biyopsi örneklerinde nötrofil artışı daha nadir rastlanan bir histolojik yanıttır (48).

Tablo 2.2. Sydney Patolojik Gastrit Sınıflaması.

Kronik İnflamasyon		Atrofi	
Normal (2-5 lenfosit, plazma hc)	0	Yok	0
Hafif (40 x 10 hücreden az)	1	Hafif	1
Orta (40 x 11-20 hücre)	2	Orta	2
Şiddetli (21 hücreden fazla)	3	Şiddetli	3
Akut İnflamasyon		İntestinal metaplazi	
Yok	0	Hafif	< %30
Hafif (5'ten az PMNL)	1	Orta	%30-60
Orta (5-10)	2	Şiddetli	> %60
Belirgin (11'den fazla)	3		
H. pylori			
Yok	0		
Hafif (1-3 bakteri)	1		
Orta (Bakteri tabakası)	2		
Şiddetli (Bakteri kütleleri)	3		

Atrofi: Mide mukozasındaki atrofi glandüler dokunun kaybı olarak tanımlanmaktadır. Çocuklarda çok nadirdir. Midenin glandüler bezlerinde harabiyet olduğunda rejenerasyon kabiliyetini kaybederler, fibroblastlar aktive olur ve ekstraselüler matriks depolanması görülür. Mide bezlerinin yerini fibrozis alır. Lamina propriyadaki lenfoid foliküller inflamatuvar infiltrat mide mukozasının yapısını değiştirebilir ve mide bezleri tortuyoze görülebilir. Bu görüntü özellikle antrumda olur (49).

İntestinal metaplazi: İntestinal metaplazi erişkinlerde kronik gastrite sıklıkla eşlik eder ve hastalık süresi uzadıkça görülme sıklığı artar. Çoğunlukla atrofiye eşlik etse de, atrofi olmadan da saptanabilir. Çocuklarda erişkinlere göre daha nadir görülür (49).

H. pylori yoğunluğu: Mide antrumunun Hp ile kolonizasyonunu hafif/orta/ağır olarak derecelendirilir. Çocuklarda erişkinlere oranla bakteri sayısı oldukça azdır. Mide mukozasında Hp bulunan olgularda germinal merkezleri olan lenfoid foliküllere sıklıkla rastlanır (49, 50).

2.4. İntestinal Nöropeptitler ve Neprilisin

2.4.1. Substans P

SP von Euler ve Gaddum tarafından 1930'da at beyni ve barsak ekstrelerinde hipotansif ve sıpasmojenik faktörün bulunduğunu tespit etmişlerdir. 1970'lerde Leemans tarafından sığır hipotalamusundan izole edilerek SP olarak adlandırılmaya başlanmıştır (51).

SP 11 aminoasitten oluşan taşıkinin ailesinin bir üyesi olan nöropeptittir. Taşikinin ailesinin diğer üyeleri nörokinin A ve Nörokinin B'dir (33). Phe-x-Gly-Leu-Met-Nh₂ kısımları bu ailenin taşıdığı ortak karboksi terminalidir. Memelilerde taşıkinin ailesi iki gen tarafından üretilir, bunlar protaşikin A ve protaşikin B'dir. SP Protaşikin-A geni tarafından üretilir (52).

SP esas olarak aferent sinir uçlarından olmak üzere, nötrofiller, eozinofiller, makrofajlar ve dendritik hücreler gibi immünregülasyonda rol alan hücrelerden salgılanmaktadır. SP etkisini üç reseptör üzerinde gösterir. Bunlar NK-1, NK-2, NK-3'dür. Yüksek afinite ile NK-1 reseptörüne düşük afinite ile NK-2 ve NK-3 reseptörlerine bağlanır. NK-1 reseptörleri ince ve kalın barsakta, sinir hücreleri, düz kas hücreleri, immün sistem hücreleri, endotel ve epitel hücreleri gibi birçok hücrede eksprese olmuşlardır. NK-2 reseptörleri intestinal dokuda sirküler kaslarda ve muskularis mukozada yerleşmiş olup sirküler kas kasılması ile ilişkilidir. NK-3 reseptörleri baskın olarak gastrointestinal sistemde SP'nin bağlandığı myenterik ve submukozal sinir pleksusları nöronlarında eksprese olur ve kas kasılmasını uyarır veya inhibe eder (53). NK-2 reseptörü ile bronkokonstriksiyona neden olur. NK-1 reseptörü ile mukozal bezlerde goblet hücreleri üzerine etkilidir ve pulmoner arterde

relaksasyona yol açar. Astım hastalarının bronşlarında SP ve NK-1 reseptör ekspresyonunun arttığı saptanmıştır (54). Astım dışında KOAH, sarkoidoz ve non produktif öksürükte rol almaktadır. SP miktarının romatoid artritli hastaların snoviyal sıvılarında arttığı tespit edilmiştir (55).

SP gastrointestinal sistemde yoğun olarak bulunmaktadır. Düz kas kasılması, epitelyal iyon transportu, vasküler geçirgenlik ve immün fonksiyonların düzenlenmesinde rol alır (56). Gastroözafagial reflü hastalığında özefagustaki asit SP salınımına yol açarak NK-1 reseptörü üzerinden alt özefagial sfinkter kasılmasını inhibe eder (57). Taşikininler duodenal kontraksiyonu ve bikarbonat sekresyonunu uyarırlar (58). Ülseratif kolit, chron hastalığı, klostridium difficileye bağlı enterokolit, trishinella spiralis'e bağlı enterit ile ilgili çalışmalarda SP miktarı yüksek bulunmuştur. Bunların dışında kemoterapiye bağlı emeziste SP antagonistleri kullanılmaya başlanmıştır (52).

SP'nin doku düzeyi deney hayvanlarında oluşturulan peptik ülser modellerinde de çalışılmıştır. Deneysel çalışmalar SP'nin ülser oluşumunda önemli rol oynadığını gösteriyor olmasına rağmen bu konuda sınırlı sayıda erişkinlerle yapılmış klinik çalışma bulunmaktadır ve sonuçlar birbiriyle çelişmektedir (9,59,60). Akut olarak salındığında inflamatuvar sitokinlerin salınmasına neden olurken, kronik inflamasyonu engellemekte lokal kan akımını ve mukus sekresyonunu arttırmakta ve yara iyileşmesini hızlandırmaktadır (61,62,63). SP kaybının gastrik kanser etiopatogenezinde rol aldığı yakın dönemde gösterilmiştir (64).

SP'nin fonksiyonları SP'yi hidrolize eden enzimlerle kontrol edilmektedir. Yapılan çalışmalar özellikle ince barsaklarda SP'nin Neprilisin ile hidrolizi sonucu ortaya çıkan fragmanların anti-inflamatuvar etkisi olduğunu, yara iyileşmesini hızlandırdığını göstermektedir (65). Bir çalışmada SP'nin ayrıca ADAM-10 tarafından da hidrolize edildiğini ve ortaya çıkan fragmanların Neprilisin'in hidrolizi sonrası ortaya çıkan fragmanlarla aynı olduğunu göstermiştir (66).

2.4.2. Nötral endopeptidaz

Nötral endopeptidaz (NEP), diğer isimleri ile Neprilisin ya da CD-10, bir hücre yüzey enzimidir, nöropeptitlerin parçalanmasında ve etkilerinin sona ermesinde görevlidir. Memelilerde SSS'de enkefalinlerin metabolizmasında rol aldığı bilinmektedir (67). NEP birçok kanserde anahtar rol oynar. Yapılan çalışmalarda sigara içenlerde NEP downregülasyonun küçük hücreli akciğer kanseri ile ilişkili olabileceği saptanmıştır (68). Prostat kanserinde mitojenik peptitler tarafından tetiklenen androjen insensitif tümör progresyonuna NEP kaybı katkıda bulunur (69). Lösemilerde "Common Acute Lymphocytes Leukemia Antijen'in (CALLA:CD10) eşdeğeri olduğu gösterilmiş (70). Kanser gelişimi üzerine etkilerinin yanısıra santral sinir sisteminde de önemli fonksiyonları bulunmaktadır. Spesifik olarak Alzheimer hastalığında biriken nörotoksik beta-amyloid peptidi parçaladığı ve nöroprotektif etkili olduğu gösterilmiş (71).

NEP SP'yi Gln⁶-Phe⁷, Phe⁷-Phe⁸ ve Gly⁹-Leu bölgelerinden hidroliz eder ve SP'nin farklı aktivitelere sahip fragmanlarını oluşturur. NEP intestinal sistemde yaygın olarak bulunmaktadır. SP tarafından regüle edilen enterosit, endotel hücreleri, nöronlar ve monositlerde bulunur (11). NEP en fazla böbrek ve akciğerde ekspresyon olmuştur. NEP'in enkefalinler, SP, endotelin, ANP gibi peptitlerin inaktive edici etkilerinin olması yeni analjezik ve antihipertansif ilaçların geliştirilmesi için ilgi odağı olmuştur (72).

2.4.3. Vazoaktif intestinal peptit

Vazoaktif intestinal peptit (VIP) sekretin-glukagon ailesine ait 28 aminoasitten oluşan bir nöropeptittir. Sinir sistemi ve endokrin sistemde nötransmitter ve nöromodülatör olarak görev almaktadır (73). VIP aferent ganglionlar, immünmodülatör T hücreleri tarafından üretilmekte ve gastrointestinal sistem, solunum sistemi, pankreas, ürogenital sistemde yoğun olarak bulunmaktadır (74). VIP'in özofagus alt sfinkterinde gevşeme, özofagus kas tabakasında kasılma, mide antrum kaslarında gevşeme, fundus kaslarında kasılma ve muskularis mukozada gevşeme, ince barsakta sirküler kaslarda kasılma sonrası gevşeme, longitudinal kaslarda kasılma, sıvı ve elektrolit salınımının uyarılması, kalın barsak düz kaslarında gevşeme, su ve klor salgılanması gibi yaygın olarak bilinen fizyolojik etkileri vardır. VIP üç reseptör üzerinden etkisini göstermektedir. Bunlar VPAC-1,

VPAC-2 ve PAC-1'dir. VPAC-1 ve VPAC-2 reseptörlerine yüksek afinite ile bağlanırken PAC-1 reseptörüne düşük afinite ile bağlanır (74). Bu üç reseptör de G protein bağlı reseptörlerin grup 2 reseptör ailesine aittir ve sekretin reseptör ailesi olarak bilinirler (75). VIP reseptör sinyal mekanizması G protein bağlı reseptör kinazlarla reseptör fosforilasyonunun terminasyonunu içerir. VPAC-1 reseptörü SSS'de özellikle serebral korteks ve hipokampusda yaygın olarak bulunmaktadır (76). Periferal olarak da karaciğer, akciğer, barsaklar (77) ve T lenfositlerde izole edilmiştir (78). Selektif VPAC-1 reseptör agonistleri (79) ve antagonistleri (80) açıklanmıştır. VPAC-2 reseptörleri SSS'de talamus, suprakiazmatik nukleus, daha az miktarda da hipokampus, spinal kord ve dorsal kök ganglionlarında bulunmaktadır. Periferde kalp kasında, gastrointestinal ve üreme sisteminde bulunmaktadır (81). PAC-1 reseptörleri en fazla SSS'de (82) ve adrenal medullada (77) tespit edilmişlerdir.

VIP, nitrik oksitle birlikte gastrointestinal sistemde non adrenerjik-non-kolinerjik sistemin en önemli komponentini oluşturur (83,84). VIP gastrointestinal sistemdeki düz kasların ritmik kasılmasında inhibitör rol oynar (85). Hirschprung hastalığı ve akalazyaya gibi özefagial gevşemedeki yetersizlik ve barsak dismotilitesi ile ilgili hastalıkların VIP inervasyonundaki defekten kaynaklandığı düşünülmektedir (86). VIP sekrete eden birçok pankreatik tümör ve karsinoid tümör de VIP reseptörü ekspresse eder.

VIP immünmodülatör özelliklere de sahiptir. Th-2 lenfositler tarafından üretilmektedir ve Th-2'nin immün cevabında rol almaktadır. İn vitro olarak Interferon- γ ve IL-2'yi inhibe eder. Makrofaj ve dendritik hücrelerde Th-2 sitokinleri olan IL-4, IL-5'i artırır. İn vivo olarak VIP alımı Th-2/Th-1 oranını artırır. Sonuç olarak VIP'in endojen anti-inflamatuar etkileri olduğundan bahsedilebilir (87,74).

Deneyisel olarak soğuk ile stres ülseri oluşturulan farelerde VIP'in intraperitoneal olarak verilmesi ile histamin, metilhistamin düzeylerinin azaldığı ve mukozal ülserlerin iyileştiği gözlenmiştir (8). Hp gastriti olan sınırlı sayıda erişkin hasta ile yapılan bir çalışmada, gastriti olan hastaların mide mukozasında VIP düzeyinin azalmış olduğu saptanmış ve çalışmacılar VIP düzeyindeki yetersizliğin gastrit patogenezinde rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir (9). VIP'in klinik kullanımı henüz olmamıştır.

2.4.4. Kalsitonin gen ilişkili peptit

Kalsitonin gen ilişkili peptit (CGRP) 37 aminoasitten oluşan nöropeptittir. CGRP hem periferel hem de santral nöronlarda en fazla miktarda bulunan peptitlerden biridir (88). CGRP en kuvvetli vazodilatatör etkiye sahip peptittir ve ağrının iletilmesinde görev alır (89,90). CGRP etkisini G protein bağı reseptör olan CLR (kalsitonin reseptör benzeri reseptör) ve RAMP1 (reseptör aktivitesini modifiye eden protein) üzerinden gösterir (91). CGRP reseptörleri vücutta yaygın olarak bulunur ve bu peptid sistemlerde çeşitli fizyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde rol alır (solunum, endokrin, GIS, immün, kardiyovasküler sistem) (92).

CGRP santral sinir sistemi, periferik sinir sistemi ve enterik sinir sisteminde yaygın olarak bulunmaktadır (88,93). Enterik sinir sisteminde CGRP içeren sinir uçları midede (94,95), ince barsakta (93,96) ve pankreasta (94) bulunur. Capsaicin sensitif primer aferent nöronlar ve CGRP değişik noktalardan mide patolojisini etkiler. Yapılan çalışmalarda ekzojen CGRP verilmesi ile duyuusal sinirlerin uyarılması değişik deneysel gastrik ülser modellerinde koruyucu etki oluşturmuştur (96,97). Değişik ülserojen faktörlerle oluşturulan gastrik mukozal lezyonlar ve gastrik ülser iyileşmesini hızlandırır (10).

3. HASTALAR ve YÖNTEM

Çalışma Mayıs 2012 - Mayıs 2013 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Gastroenteroloji Bilim Dalı, Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi (SBAUM) ve Tıbbi Patoloji Anabilim Dallarında yapılmıştır.

3.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Oluşturulması

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Gastroenteroloji Polikliniğine karın ağrısı, dispepsi (epigastrik ağrı, epigastrik rahatsızlık hissi, epigastrik yanma, epigastrik dolgunluk, ağırlık hissi, şişkinlik, çabuk doyma, epigastrik sıkıntı, bulantı-kusma, geğirme ve bazen ağızda kötü tat) nedeni ile başvuran 18 yaş altı hastalardan üst gastrointestinal sistem endoskopisi yapılan, endoskopik ve patolojik incelemelerinde gastrit saptananlar çalışma grubuna alındı. Kontrol grubu polikliniğe dispepsi dışında bir şikayet ile başvurup (kilo kaybı, demir eksikliği anemisi, çölyak hastalığı şüphesi vb.) üst gastrointestinal sistem endoskopisi yapılan, endoskopik ve patolojik incelemelerinde mide mukozası normal saptanan olgulardan seçildi.

Araştırmaya alınma kriterleri

1. Herhangi bir nedenden dolayı endoskopi yapılması planlanan ve hastanın/ailelerinin çalışmaya dahil olmak istediğine dair yazılı ve sözlü onam verdiği çocuk hastalar.
2. Endoskopik biyopsi işlemi için koagülasyon bozukluğu, sistemik enfeksiyon gibi kontrendikasyonu olmayan hastalar çalışmaya alındı.

Araştırmadan çıkarılma kriterleri

1. Malignite, diabetes mellitus, çölyak hastalığı, hemolitik üremik sendrom, immün yetmezlik, koagülopati, romatolojik hastalık gibi kronik hastalıkları olanlar,
2. İmmünsüpresif, antikoagülan veya kemoterapotik ilaç kullananlar,
3. Son bir ayda proton pompa inhibitörü veya H₂ bloker kullanan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmamız için Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan onay alındı. Çalışmaya dahil edilen tüm hasta ve/veya ailelerinden yazılı ve sözlü onam alındı.

3.2. Örneklerin Alınması, Saklanması ve Ölçümlerin Yapılması

Endoskopik inceleme ve biyopsi alma işlemleri Fujinon marka video endoskop ile tek bir gastroenterolog (A.İ) tarafından yapıldı. Endoskopik işlem öncesi %10 lidokain ile lokal farinks anestezisi uygulandı. Sedasyon uygulanması gereken hastalara 1 mg midazolam ve 1-2 mg/kg ketamin veya 2.5-3.5 mg/kg dozlarında propofol uygulandı. Endoskopi işlemi sırasında orofarinksten duodenum ikinci kesimine kadar olan bölge incelendi. Endoskopi sırasında tüm hastalardan Hp'nin tespiti amaçlı hızlı üreaz testi için preantral bölgeden bir adet biyopsi alındı. Gastrit saptananlardan (çalışma grubu) patolojik inceleme ve immünohistokimyasal boyamalar için lezyonun olduğu mide bölgesinden ikişer adet, etkilenmenin daha az olduğu bölgeden (hafif lezyonlu bölge) bir adet ve duodenumdan ikişer adet biyopsiler alındı. Hafif lezyonlu bölgeden alınan biyopsilerin lezyonun ağır olduğu bölgeye yakın komşulukta olmasına özen gösterildi. Ayrıca doku peptit düzeylerinin kantitatif ölçümü (ELISA) için lezyonun olduğu mide bölgesinden ikişer adet, hafif lezyonlu bölgeden birer adet biyopsi örnekleri alındı. Endoskopik incelemesinde mide mukozası normal saptanan hastalardan (kontrol grubu) patolojik inceleme ve immünohistokimyasal boyamalar için ikişer adet mide (antrum) ve ikişer adet duodenum biyopsilerine ek olarak doku peptit düzeylerinin kantitatif ölçümü için ikişer adet mide (antrum) biyopsileri alındı. Patolojik inceleme ve immünohistokimyasal boyamalar için alınan biyopsi materyalleri Holland solüsyonu içerisine alındı. Doku örnekleri Tıbbi Patoloji Anabilim Dalında Diff Qick, CD-10, histokimyasal yöntemleri ile incelendi. Gönderilen doku örneklerinin tamamından hazırlanan parafin bloklardan 4 µm kalınlığındaki kesitler alınarak, 60°C ısıdaki etüvde 5 dakika bekletildikten sonra, boyanmanın optimize bir biçimde yapılmasına olanak veren kapalı system otomatik immünohistokimyasal boyama cihazında (Ventana, Roche, USA), CD-10 primer antikoru (anti-CD10, Clone: 2A1H5E1, Thermo Fisher Scientific Inc, UK) kullanılarak boyandı. Gastrit derecesi Sydney Sınıflamasına göre yapıldı. Doku peptit düzeyleri ölçülecek biyopsi materyalleri ise

ependorf tüplerine alınarak sıvı nitrojende donduruldu. Daha sonra örnekler sıvı nitrojenden çıkarılıp - 80 derecede dondurucuya alındı. – 80°C’den alınan dokular hassas terazi ile ayrı ayrı tartıldı. Dokular tekrar ependorf tüplerine alındı ve bir kez ‘Fosfat Tamponlu İzotonik’ (PBS) eklenerek 10000 devirde 2 dakika santrifüj edilerek yıkama yapıldı. Üzerindeki PBS atıldı, yerine %2’lik asetik asit eklendi ve fiziksel olarak dokular parçalandı. 95°C’de 15 dk. bekletilerek 1. ekstraksiyonlar elde edildi, 1. ekstraksiyon sıvısı başka bir ependorf tüpüne alındı ve dokunun üzerine yine %2’lik asetik asit eklenerek 95°C’de 45 dk. bekletilerek 2. ekstraksiyon sıvıları elde edildi. 2. ekstraksiyon da başka bir tüpe alındı ve bu ekstraksiyonların sıvıları speed vacum cihazında uçuruldu. Kristalize ekstraktlar elde edildi ve 200 µl EIA buffer ile sulandırıldı. Elde edilen örneklerde 25-50 µl. kullanılarak EIA yöntemi ile Cayman catno: 1800-364-9897 kiti kullanılarak SP miktarı, bachenninsula labarotiries LLC catno: 823513 kiti kullanılarak VIP miktarı, phoenix catno: 601068 kiti kullanılarak CGRP miktarı ölçüldü.

Neprilisin aktivitesi ölçümü için mide dokuları hassas terazide tartıldı. Üzerlerine 200 ul triton x’li assay konuldu. 10 dk. ara ile 10-12 defa 3 kere dokular tamamen parçalanana kadar sonike edildi. İşlem buz içinde yapıldı. Buz içinde 60 dk. inkübe edildi. 9000 rpm’de 5 dk santrifüj edildi. Ölçüm için 2 solüsyon hazırlandı: Solüsyon 1: 25 µl DAGPNG+25 µl enalaprilat+2500 µl Tris HCL; Solüsyon 2: 1250 µl sol 1+25 µl fosforamidon (1 mmol). 10 µl örnek, sol 1 ya da sol 2 ile karıştırıldı ve enzim aktivitesinin oluşması için 2 saat 37°C’de bekletildi. Reaksiyona bağlı renk değişimi BİOTEC FX800 flouometri cihazında eksitasyon 342 nm, emisyon 562 nm dalga boylarında okuma yapılarak belirlendi. Pozitif kontrol olarak NEP aktivitesinin yüksek olduğu böbrek dokusu kullanıldı.

3.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler INSTAT Windows programı ve SPSS Software 18.0 kullanılarak yapıldı. Normal dağılıma uygun olan parametrik değerler için paired ya da unpaired t-testi; tanımlayıcı istatistik için Pearson ki-kare testi kullanıldı. P değerinin <0,05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya 82 hasta alındı. Çalışma grubunda gastriti olan 52 hasta, kontrol grubunda gastriti olmayan 30 olgu bulunmaktadır. Hastaların demografik özellikleri Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1. Hastaların demografik özellikleri.

Hasta özellikleri	Çalışma grubu	Kontrol grubu	p
n	52	30	
Yaş (yıl) Ortalama Median Yaş aralığı	12.47 ± 4.08 13.50 5.5-18	11.60 ± 4.06 12.60 4-18	0.847
Cinsiyet (K/E)	29/23	17/13	0.981
Gastrit derecesi (Sydney sınıf.)	Lezyonlu bölge	Hafif lezyonlu bölge	
Hafif	-	44	-
Orta	24	8	-
Şiddetli	28	-	-
H. pylori	23	-	-

Çalışma grubundaki hastalardan endoskopik görünüme göre gastritin ağır olduğu bölgelerden (antral ya da korpal) ve gastritin daha hafif bölgelerden doku örnekleri alındı. Lezyonun hafif olduğu bölgelerinden alınan doku örnekleri lezyonun ağır olduğu bölgelerden alınan doku örneklerine yaklaşık 3-4 cm’lik mesafeden alındı. Doku substrat miktarının ölçümü için alınan örneklerle histolojik inceleme ve immünohistokimyasal boyamalar için alınan örnekler birbirine bitişik alanlardan alındı. Kontrol grubundaki olgulardan ise antral bölgeden doku örnekleri alındı. Çalışma grubundaki olguların endoskopik bulguları Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2. Hastaların endoskopik görünüm ve gastritin histolojik sınıflaması.

Sıra No	İsim	Endoskopik görünüm	Gastrit derecesi (Sydney Sın.)
1.	B.E	Antral hiperemi	Şiddetli
2.	H.A	Antral hiperemi, antral nodülarite	Şiddetli
3.	G.G	Antral hiperemi, antral nodülarite,	Şiddetli
4.	H.M.Ç	Antral hiperemi, antral nodülarite,	Şiddetli
5.	D.E	Antral hiperemi, alkalen reflü	Şiddetli
6.	N.Ö	Antral hiperemi	Şiddetli
7.	A.A	Antral hiperemi, antrum ve bulbusta nodülarite	Şiddetli
8.	G.B	Antral hiperemi, antral nodülarite	Şiddetli
9.	E.Ç	Antral ve korpall hiperemi	Şiddetli
10.	Y.Y	Antral hiperemi, antral nodülarite	Şiddetli
11.	E.K	Antral hiperemi, antral nodülarite	Şiddetli
12.	C.Y	Antral hiperemi	Orta
13.	H.T	Antral ve korpall hiperemi	Şiddetli
14.	A.Ç	Antral hiperemi	Orta
15.	E.G	Antral hiperemi	Orta
16.	F.N.B	Antral hiperemi	Orta
17.	Z.T	Antral hiperemi	Orta
18.	N.Ö	Antral ve korpall hiperemi	Şiddetli
19.	G.D	Antral hiperemi	Orta
20.	Ş.N.K	Antral hiperemi, antral nodülarite	Şiddetli
21.	K.D	Antral hiperemi	Şiddetli
22.	S.O	Antral hiperemi	Şiddetli
23.	K.İ	Antral ve korpall hiperemi	Şiddetli
24.	G.D	Antral hiperemi	Orta
25.	D.Ç	Antral hiperemi	Orta
26.	İ.K.Ç	Antral hiperemi	Orta
27.	M.A	Antral ve korpall hiperemi	Şiddetli
28.	M.D	Antral hiperemi	Orta
29.	D.B	Antral hiperemi	Orta
30.	H.C.U	Antral hiperemi	Şiddetli
31.	Ö.S	Antral hiperemi	Şiddetli
32.	S.A	Antral ve korpall hiperemi	Şiddetli
33.	A.K	Antral hiperemi	Orta
34.	N.E	Antral hiperemi	Orta
35.	U.K	Antral hiperemi	Orta
36.	İ.Ö	Antral hiperemi	Orta

Tablo 4.2. (Devam) Hastaların endoskopik görünüm ve gastritin histolojik sınıflaması.

Sıra No	İsim	Endoskopik görünüm	Gastrit derecesi (Sydney Sın.)
37.	S.C.D	Antral hiperemi	Şiddetli
38.	B.N.B	Antral ve korpall hiperemi	Şiddetli
39.	F.R.B	Antral ve duodenal hiperemi	Şiddetli
40.	S.D	Antral ve korpall hiperemi	Şiddetli
41.	R.Ç	Antral hiperemi, antral nodularite	Şiddetli
42.	H.S.Ö	Antral hiperemi, antral nodularite	Şiddetli
43.	M.Ç	Antral hiperemi, antral nodularite	Şiddetli
44.	A.T	Antral ve duodenal hiperemi	Orta
45.	S.G	Antral ve duodenal hiperemi	Orta
46.	T.A	Antral ve duodenal hiperemi	Orta
47.	E.T.A	Antral hiperemi	Orta
48.	S.T	Antral hiperemi	Orta
49.	İ.B	Antral hiperemi ve korpall hiperemi	Şiddetli
50.	M.Y	Antral hiperemi	Orta
51.	R.A	Antral ve duodenal hiperemi	Şiddetli
52.	A.U	Antral hiperemi	Orta

4.1. Gastritli Hastalarda Substans P Düzeyindeki Değişiklikler

Gastriti olan hastaların lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgelerinden alınan dokular 2 basamaklı ekstraksiyon yapılarak ELİSA yöntemi ile doku SP miktarları ölçüldü. 1. ekstraksiyonda daha çok nöron kaynaklı SP miktarını ortaya çıkarırken 2. ekstraksiyonda ise nöron dışı SP miktarını yansıtmaktadır.

Lezyonlu bölgedeki birinci (*) ve ikinci ekstraksiyonlardaki (≠) SP miktarları sağlıklı dokudan (kontrol grubu) anlamlı olarak yüksek bulundu. Lezyonlu bölge birinci ve ikinci ekstraksiyonlardaki SP miktarları hafif lezyonlu bölgeye göre anlamlı olarak yüksek bulundu. Bununla birlikte hafif lezyonlu bölge ile sağlıklı doku arasında birinci ve ikinci ekstraksiyonlardaki SP miktarlarında anlamlı bir farklılık izlenmedi (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Sağlıklı doku ve gastritli hastalardaki SP düzeyleri.

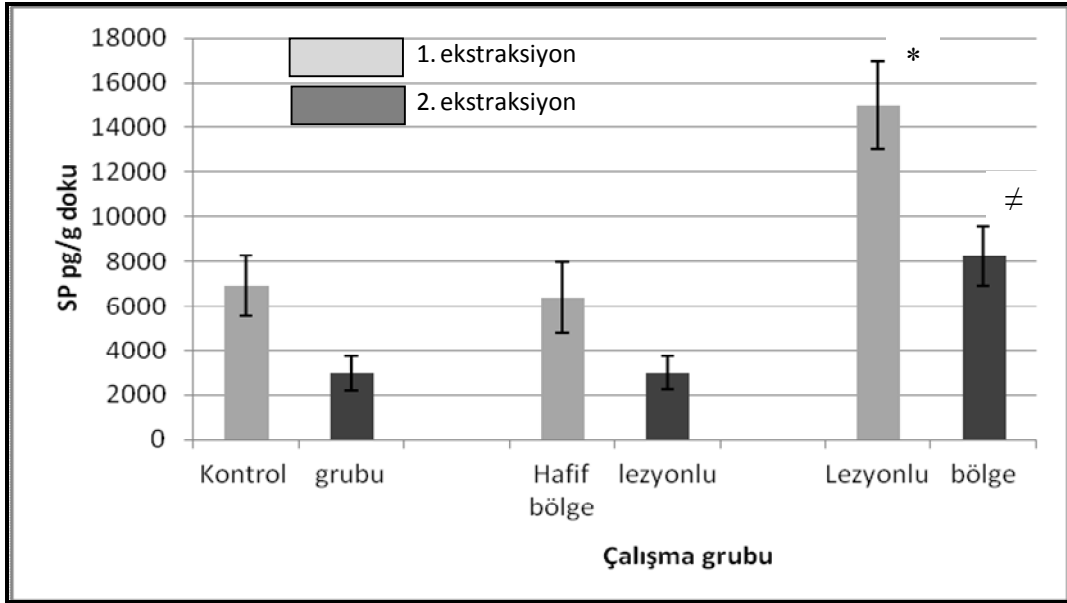
SP Ekstraksiyonu	Kontrol grubu (pg/g doku)	Lezyonlu bölge (pg/g doku)	p*	Hafif lezyonlu bölge (pg/g doku)	p*	p#
1.ekstraksiyon	6913,205 ±1360,566	14980,115 ±1950,826	0,0017	6370,182 ±1603,878	0,815	0,0060
2.ekstraksiyon	2977,232 ±777,216	8249,518 ±1342,458	0,0047	2980,376 ±742,357	0,997	0,0010

p* unpaired test kullanılmıştır, kontrol grubu ile karşılaştırma yapılmıştır

p# paired test kullanılmıştır, lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgeler karşılaştırılmıştır

Değerler mean± SE olarak verilmiştir.

Özetle SP düzeyi hastalıklı dokuda hafif hastalık olan ve sağlıklı dokuya göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır (Grafik 4.1).



Grafik 4.1. Sağlıklı doku (n:30), gastrit lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgelerde (n:52) ölçülen SP düzeyleri.

4.1.1. Hp (+) ve Hp (-) hastalarda SP düzeyindeki değişiklikler

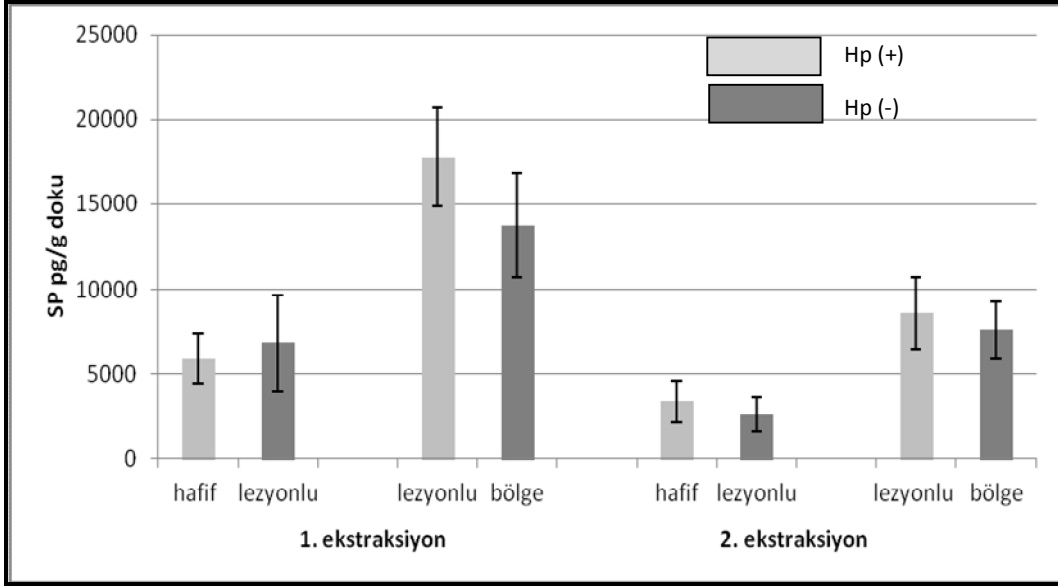
Çalışma grubundaki 52 hastanın 23'ünde Hp saptandı. Hp saptanan ve Hp saptanmayan hastaların hem lezyonlu bölgeleri arasında hem de hafif lezyonlu bölgeleri arasında SP düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 4.5 ve Grafik 4.2).

Tablo 4.4. Çalışma grubunda Hp (+) ve Hp (-) hastalarda SP düzeyleri.

SP ekstraksiyonu	Hafif lezyonlu bölge (pg/g doku)			Lezyonlu bölge (pg/g doku)		
	Hp (+)	Hp (-)	p*	Hp (+)	Hp (-)	p*
1.ekstraksiyon	5901,416 ±1447,182	6832,544 ±2846,801	0,687	17781,196 ±2889,425	13768,657 ±3034,950	0,767
2.ekstraksiyon	3363,751 ±1228,348	2645,330 ±981,911	0,465	8558,875 ±2189,797	7580,185±17 22,535	0,435

*unpaired test kullanılmıştır

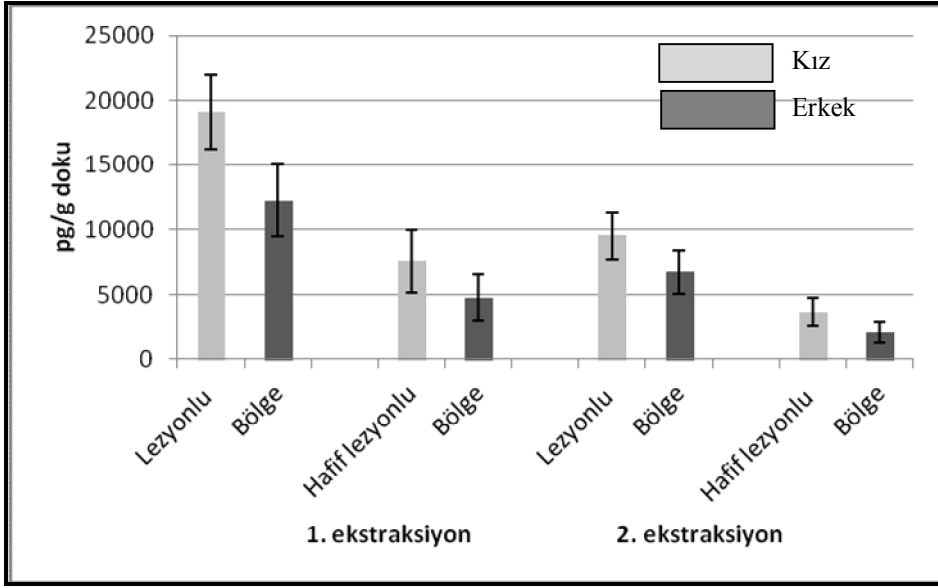
Değerler mean± SE olarak verilmiştir.



Grafik 4.2. Hp ve SP düzeyleri arasındaki ilişki.

4.1.2. Cinsiyetin doku SP düzeyi üzerine etkileri

Çalışmamızda lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgelerde kız ve erkek çocuklar arasında birinci ve ikinci ekstraksiyonlardaki SP düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptamadık ($p=0,116$, $p=0,302$ ve $p=0,299$, $p=0,277$, unpaired test).



Grafik 4.3. Lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgelerde kız (n:29) ve erkek (n:23) çocuk hastalarda SP düzeyinin karşılaştırılması.

4.2. Gastritli Hastalarda VIP Düzeyindeki Değişiklikler

Birinci (*) ve ikinci ekstraksiyonlarda (≠) gastriti olmayan sağlıklı mide doku örneklerinde VIP düzeyi gastrit saptanan hastaların lezyonlu ve hafif lezyonlu bölge doku örneklerine göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Gastritli hastaların doku örneklerinde lezyonlu bölgedeki birinci (£) ve ikinci (¥) ekstraksiyonlardaki VIP düzeyi hafif lezyonlu bölgeye göre anlamlı derecede azalmış olarak ölçüldü (Tablo 4.5 ve Grafik 4.4).

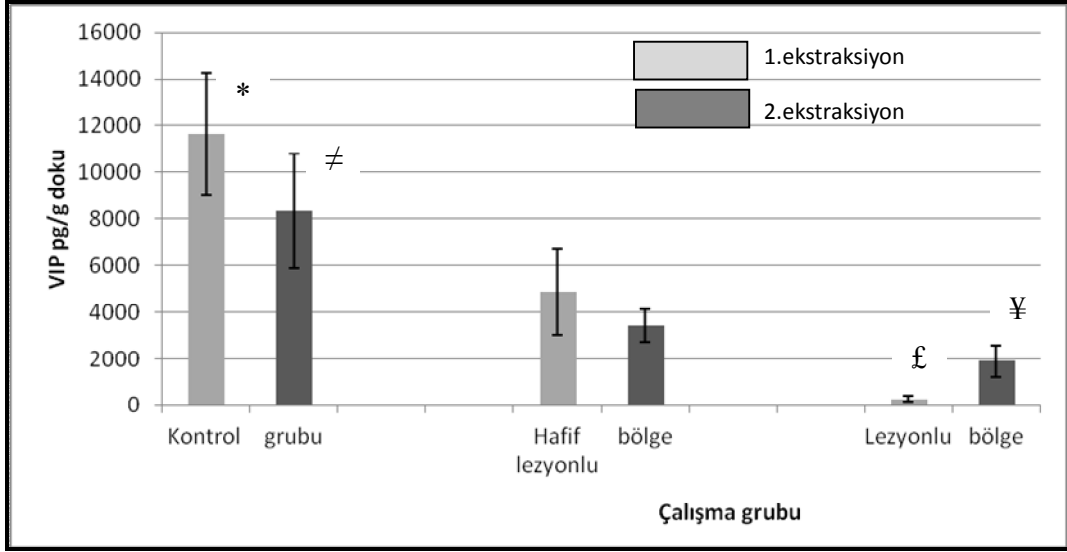
Tablo 4.5. Sağlıklı doku ve gastritli hastalardaki VIP düzeyleri.

VIP ekstraksiyonu	Kontrol grubu (pg/g doku)	Lezyonlu bölge (pg/g doku)	p*	Hafif lezyonlu bölge (pg/g doku)	p*	p#
1.ekstraksiyon	11633,706 ±2596,892	288,214 ± 116,240	0,0017	4867,640 ± 1862,844	0,0095	0,0174
2.ekstraksiyon	8339,032 ±2437,239	1895,538 ± 655,412	0.0301	3435,876 ± 707,746	0.0013	0.0305

p* unpaired test kullanılmıştır, kontrol grubu ile karşılaştırma yapılmıştır

p# paired test kullanılmıştır, lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgeler karşılaştırılmıştır

Değerler mean± SE olarak verilmiştir.



Grafik 4.4. Sağlıklı doku (n:30), gastrit lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgelerde (n:52) ölçülen VIP düzeyleri

4.2.1. Hp infeksiyonunun doku VIP düzeyi üzerine etkileri

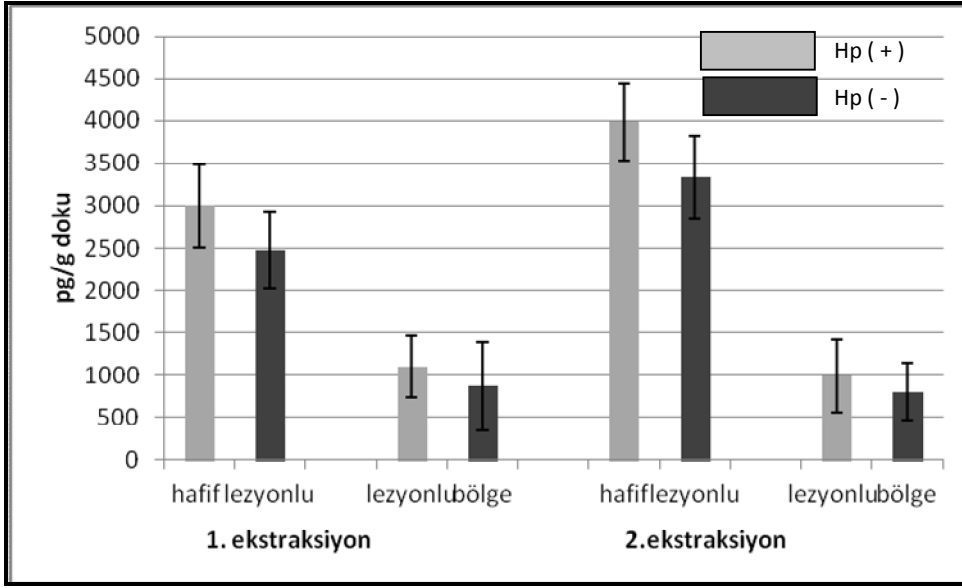
Hp saptanan ve Hp saptanmayan hastaların hem lezyonlu bölgeleri arasında hem de hafif lezyonlu bölgeleri arasında VIP düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 4.6 ve Grafik 4.5).

Tablo 4.6. Çalışma grubunda Hp (+) ve Hp (-) hastalarda VIP düzeyleri.

VIP ekstraksiyonu	Hafif lezyonlu bölge (pg/g doku)			Lezyonlu bölge (pg/g doku)		
	Hp (+)	Hp (-)	p*	Hp (+)	Hp (-)	p*
1.ekstraksiyon	3002,925 ±491,909	2481,125 ±455,536	0,656	1097,594 ±359,137	870,914 ±522,787	0.473
2.ekstraksiyon	3987,120 ±459,137	3336,785 ±490,731	0,566	987,342 ±433,245	797,594 ±340,212	0.569

*unpaired test kullanılmıştır

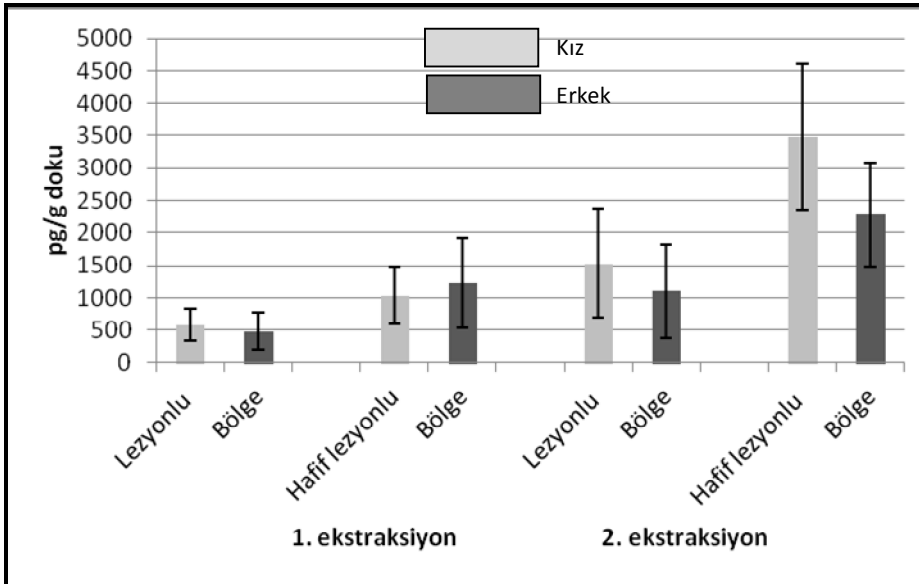
Değerler mean± SE olarak verilmiştir.



Grafik 4.5. Hp ve VIP düzeyleri arasındaki ilişki.

4.2.2. Cinsiyetin doku VIP düzeyi üzerine etkileri

Çalışmamızda lezyonlu ve lezyonsuz bölgelerde kız ve erkek çocuklar arasında birinci ve ikinci ekstraksiyonlardaki VIP düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptamadık ($p=0,833$, $p=0,730$ ve $p=0,398$, $p=0,286$, unpaired test)



Grafik 4.6. Lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgelerde kız (n:29) ve erkek (n:23) çocuk hastalarda VIP düzeyinin karşılaştırılması.

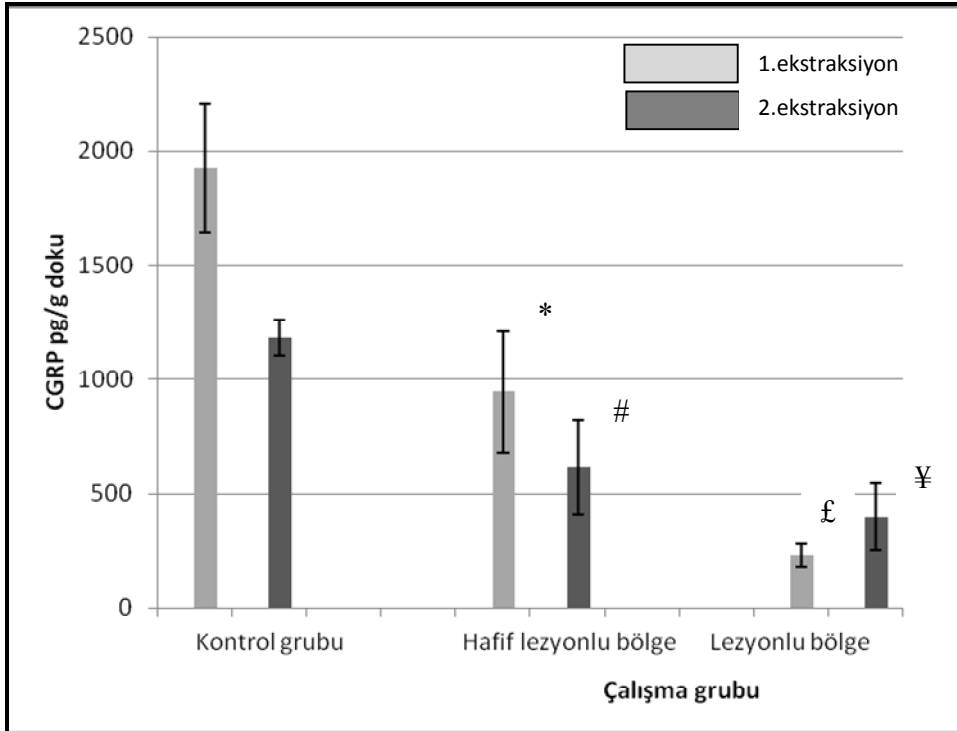
4.3. Gastritli Hastalarda CGRP Düzeyindeki Değişiklikler

CGRP birinci (*) ve ikinci ekstraksiyonlarda (#) gastritli hastaların hafif lezyonlu ve lezyonlu bölgelerinde sağlıklı kontrol grubuna göre azalmış bulundu. CGRP birinci (£) ve ikinci (¥) ekstraksiyonlarda gastritli hastaların lezyonlu bölgelerinde hafif lezyonlu bölgelere göre azalmış bulundu (Tablo 4.7 ve Grafik 4.7).

Tablo 4.7. Sağlıklı doku ve gastritli hastalardaki CGRP düzeyleri.

CGRP ekstraksiyonu	Kontrol grubu (pg/g doku)	Lezyonlu bölge (pg/g doku)	p*	Hafif lezyonlu bölge (pg/g doku)	p*	p#
1.ekstraksiyon	1925,794± 282,540	229,567 ±49,632	0,0027	947,428± 265,653	0,011	0,037
2.ekstraksiyon	1184,186 ±80,469	397,801 ± 145,840	0.0042	607,132± 206,230	0.031	0.046

p* unpaired test kullanılmıştır, kontrol grubu ile karşılaştırma yapılmıştır
p# paired test kullanılmıştır, lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgeler karşılaştırılmıştır
Değerler mean± SE olarak verilmiştir.



Grafik 4.7. Sağlıklı doku (n:30), gastrit lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgelerde (n:52) ölçülen CGRP düzeyleri.

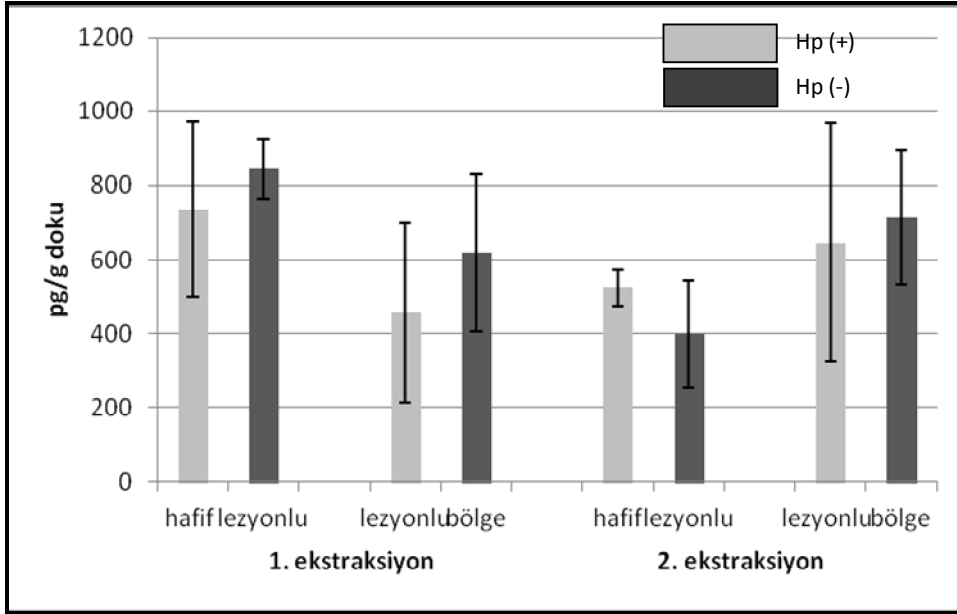
4.3.1. Hp infeksiyonunun doku CGRP düzeyi üzerine etkileri

Hp (+) ve Hp(-) gastritli hastaların lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgeleri arasında CGRP düzeyleri açısından birinci ve ikinci ekstraksiyonlarda anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 4.8 ve Grafik 4.8).

Tablo 4.8. Çalışma grubunda Hp (+) ve Hp (-) hastalarda CGRP düzeyleri.

CGRP ekstraksiyonu	Hafif lezyonlu bölge (pg/g doku)			Lezyonlu bölge (pg/g doku)		
	Hp (+)	Hp (-)	p*	Hp (+)	Hp (-)	p*
1.ekstraksiyon	735,436 ±234,609	843,645 ±80,469	0,746	456,163 ±243,645	618,024 ±212,856	0.434
2.ekstraksiyon	523,423 ±49,632	397,801 ±145,840	0,543	645,645 ±321,609	714,193 ±180,469	0.765

*unpaired test kullanılmıştır
Değerler mean± SE olarak verilmiştir.

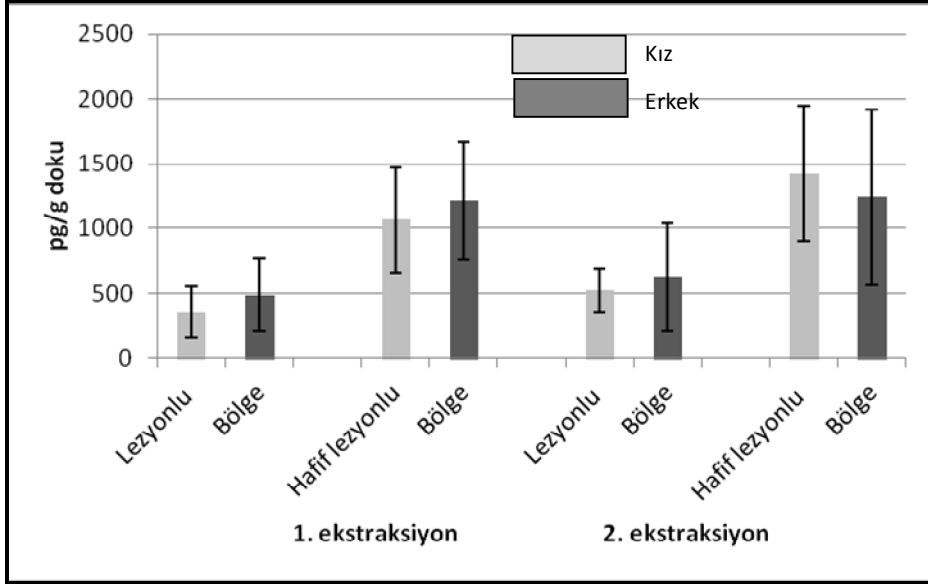


*paired test kullanılmıştır, Değerler mean± SE olarak verilmiştir.

Grafik 4.8. Hp ve CGRP düzeyleri arasındaki ilişki.

4.3.2. Cinsiyetin doku CGRP düzeyi üzerine etkileri

Çalışmamızda lezyonlu ve lezyonsuz bölgelerde kız ve erkek çocuklar arasında birinci ve ikinci ekstraksiyonlardaki CGRP düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptamadık ($p=0,833$, $p=0,730$ ve $p=0,398$, $p=0,286$, unpaired test).



Grafik 4.9. Lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgelerde kız (n:29) ve erkek (n:23) hastalarda CGRP düzeyinin karşılaştırılması

4.4. Gastritli hastalarda NEP değişimi

Çalışma grubunda 45 hastanın kontrol grubunda 29 hastanın gastrik mukozasında NEP boyaması yapılabildi. NEP boyası ile epitelyal ve lenfoplazmositer hücrelerde boyanma özellikleri kaydedildi.

Hem çalışma grubu hem de kontrol grubundaki olgularda gastrik epitelde NEP boyaması izlenmedi (Resim 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5).

Çalışma grubundaki 45 hastanın 38'inde lezyonlu bölgede lenfoplazmositer hücrelerde NEP boyaması pozitifken (fokal ya da diffüz), 7 hastada boyanma izlenmedi. Lezyonlu bölgede 28 hastada lenfoplazmositer hücrede diffüz boyanma görülürken 10 hastada fokal boyanma izlendi. Hafif lezyonlu bölgelerde 15 hastada diffüz boyama 24 hastada ise fokal boyanma izlendi. Bu sonuçlar analiz edildiğinde lezyonlu bölgelerin hafif lezyonlu bölgelere göre istatistiki olarak anlamlı derecede daha fazla diffüz boyanma özelliği olduğu görüldü ($p= 0,002$, Pearson ki-kare testi).

Hp gastriti olan olgularda lenfoid foliküllerin germinal merkezlerinde yoğun boyanma gözlemlendi (Resim 4.6).

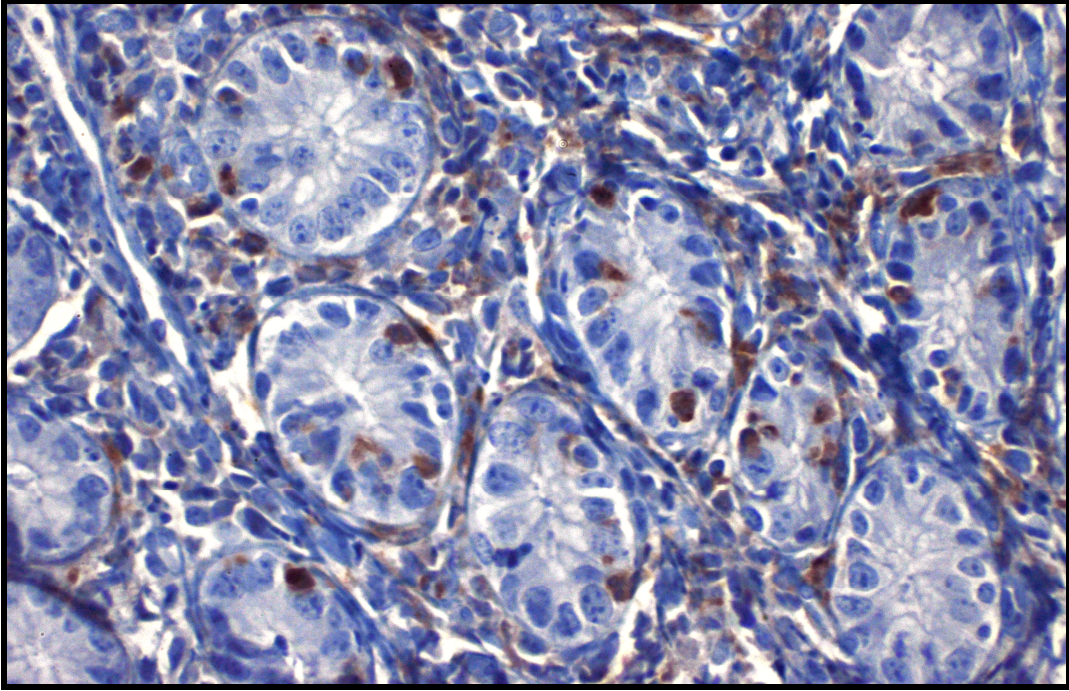
Kontrol grubunda 29 hastanın 27'sinde lenfoplazmositer hücrelerde NEP boyanması pozitif iken 2 hastada boyanma izlenmedi. 8 hastada diffüz, 19 hastada ise fokal boyanma izlendi. Bu sonuçlar kontrol grubunda çalışma grubu lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgeye göre daha az diffüz boyanmanın olduğunu göstermiştir (p=0,011 ve p= 0.040, Pearson ki-kare testi).

Tablo 4.9. Gastritli hastalarda lenfoplazmositer hücrelerde NEP boyanma durumu.

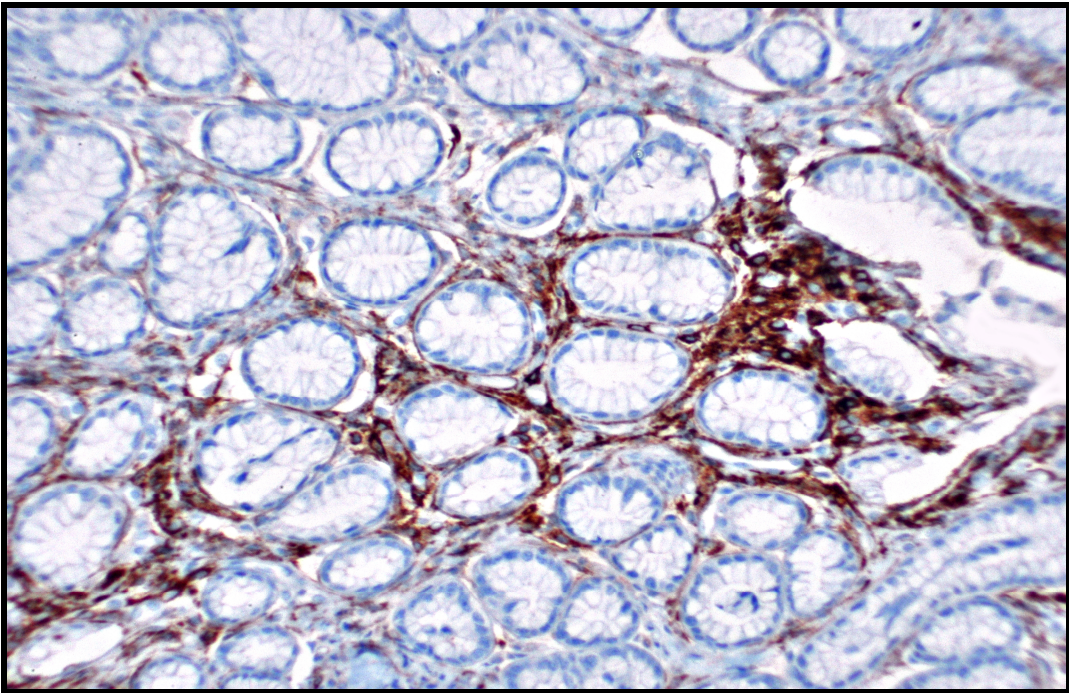
Boyanma durumu	Çalışma grubu		p	Kontrol grubu	p*
	Lezyon	Hafif lezyon			
Diffüz	24	10	0,002	8	0,011 ve 0,040
Fokal	15	28		19	
Boyanma yok	7			2	

p* = sırası ile lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgelerin kontrol grubu ile karşılaştırılması
Pearson ki-kare testi kullanılmıştır.

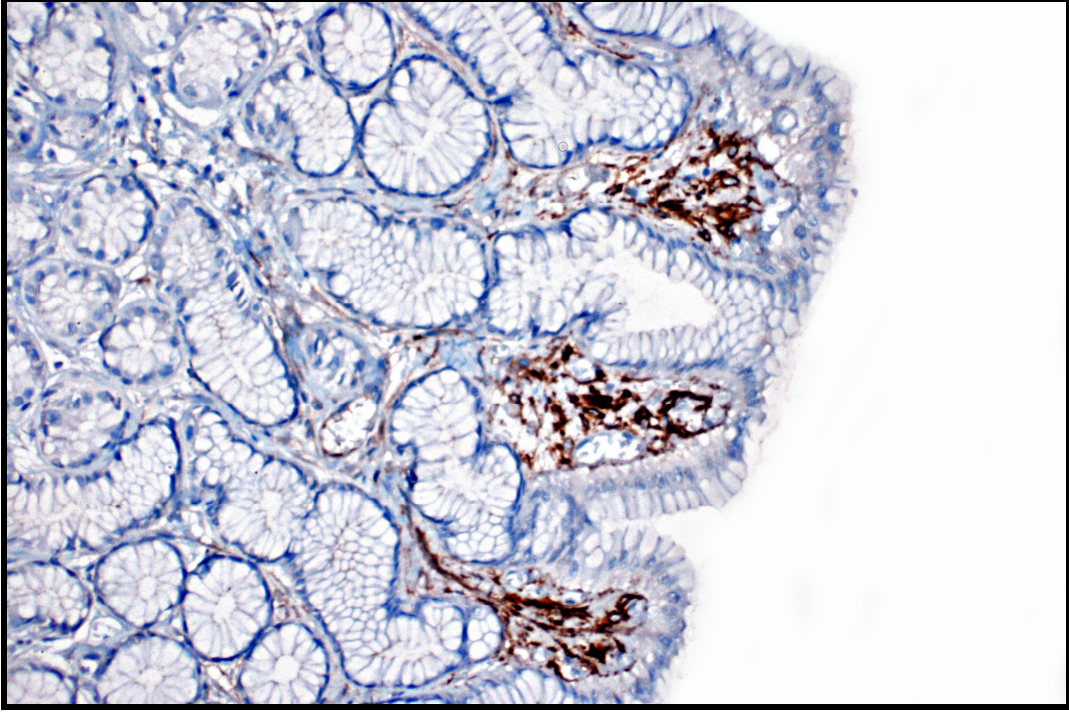
Kontrol grubundaki yani gastriti olmayan hastaların duodenal mukozasında gastriti olanlarla karşılaştırıldığında daha belirgin diffüz NEP boyanma paterni olduğu gözlemlendi (Resim 4.7 ve 4.8) (p < 0.05).



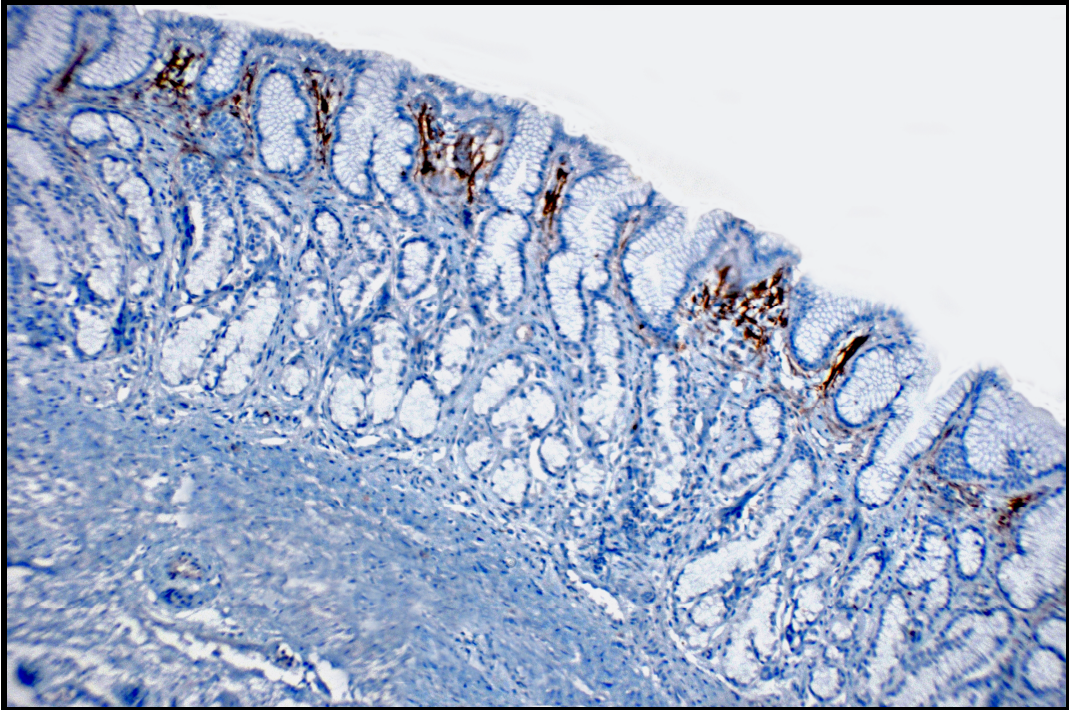
Resim 4.1. Gastrit olgusunda epitel içerisindeki lenfositlerde CD10 pozitifliği. Bez epitelinde boyanma izlenmiyor (CD10 x 400).



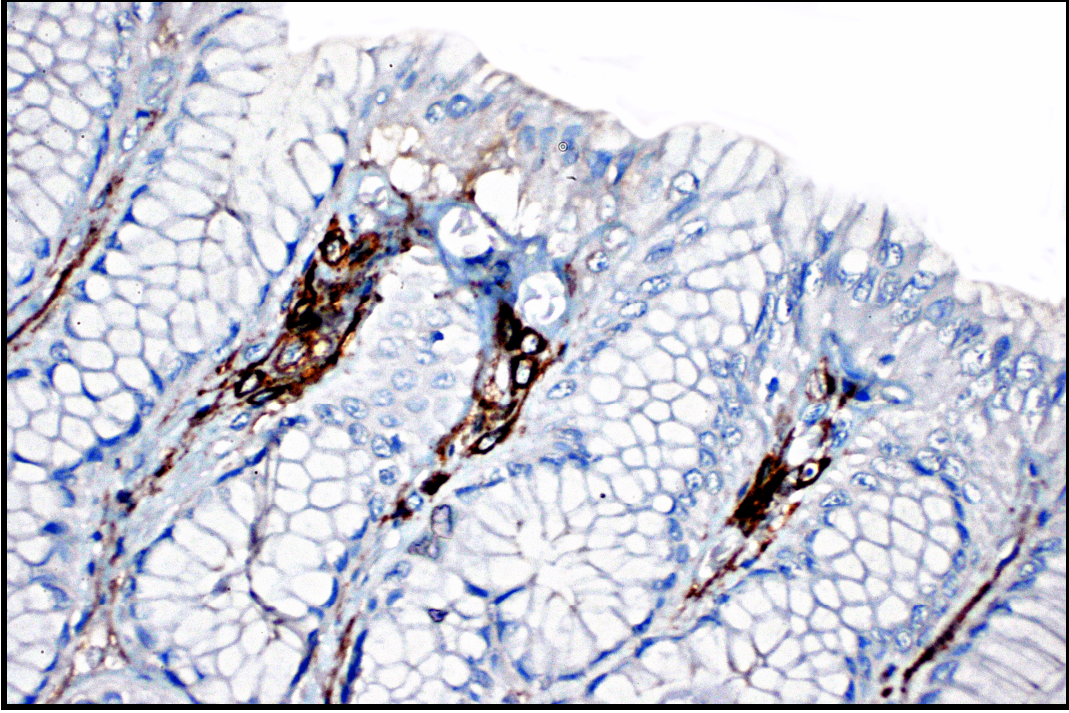
Resim 4.2. Gastritte yüzey epiteli altında lenfositlerde yaygın CD10 pozitifliği. Bez epitelinde boyanma izlenmiyor (CD10 x 200).



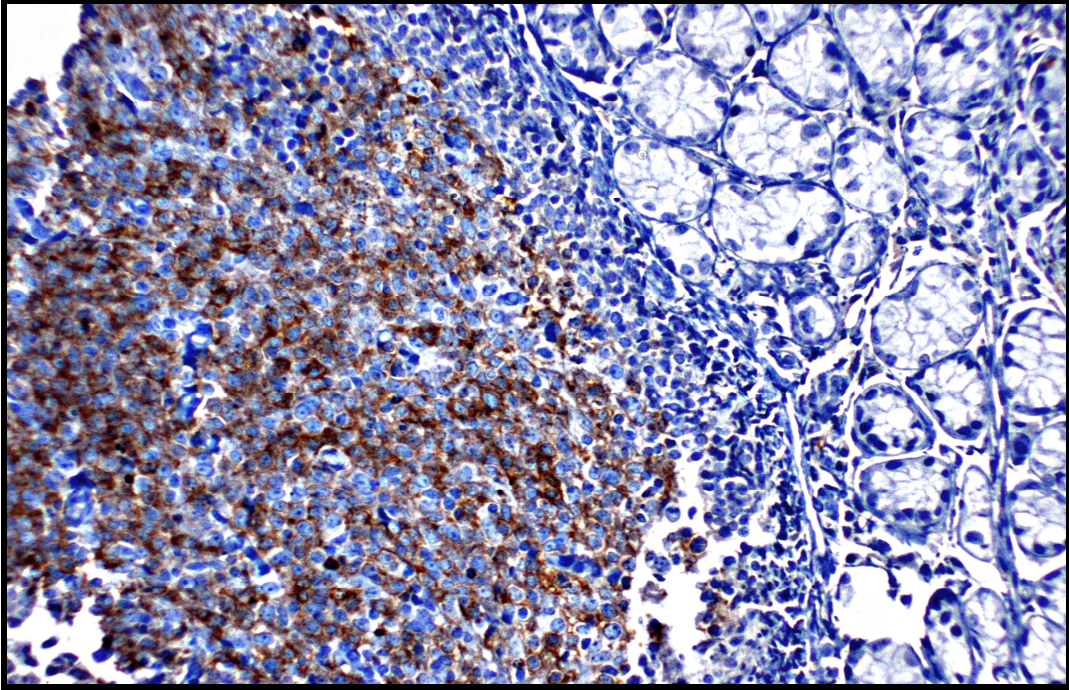
Resim 4.3. Gastritte yüzey epiteli altında lenfositlerde fokal CD10 pozitifliği. Bez epitelinde boyanma izlenmiyor (CD10 x 200).



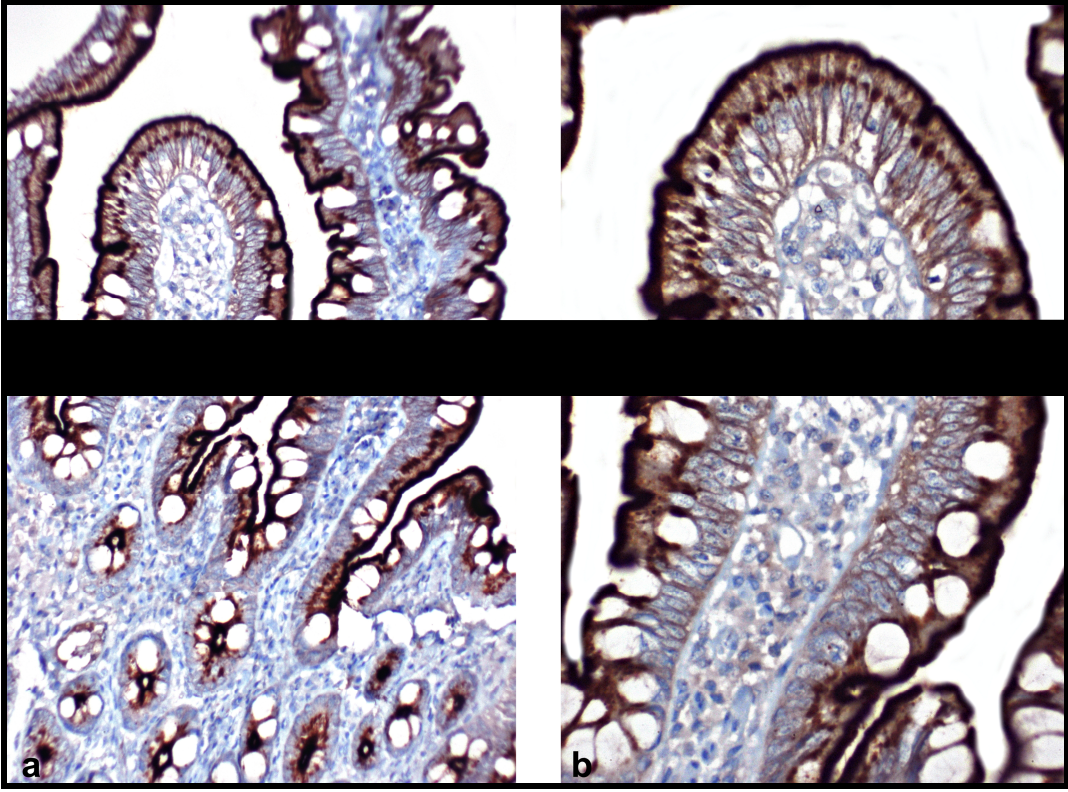
Resim 4.4. Gastritte yüzey epiteli altında lenfositlerde fokal CD10 pozitifliği. Bez epitelinde boyanma izlenmiyor (CD10 x 50).



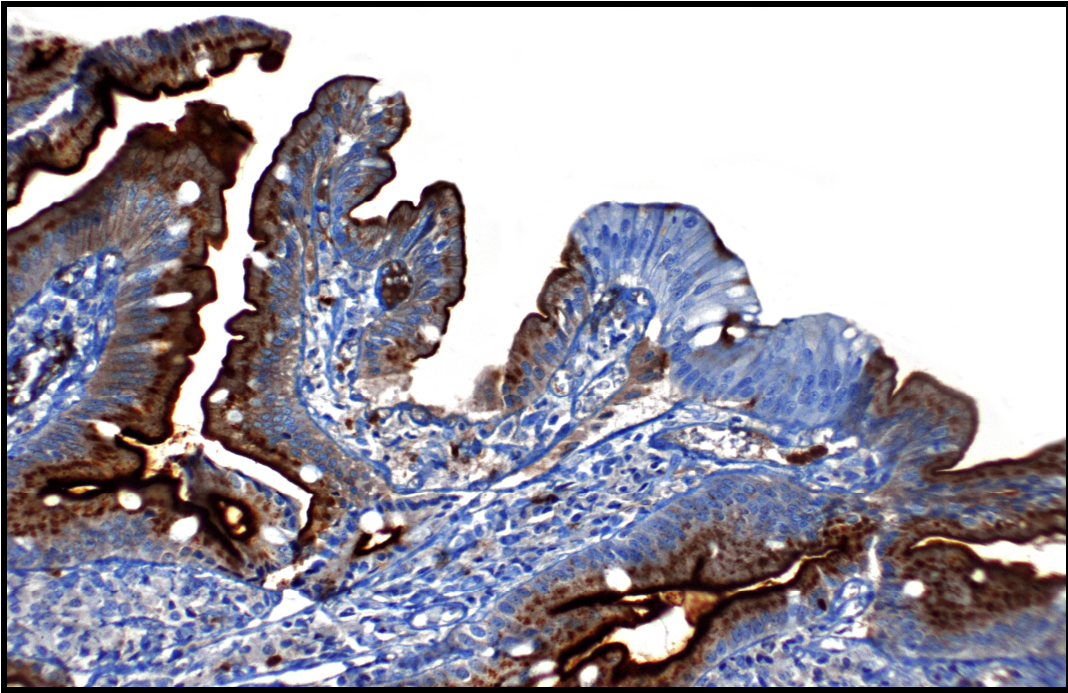
Resim 4.5. Gastritte yüzey epiteli altında lenfositlerde fokal CD10 pozitifliği. Foveolar epitelde boyanma izlenmiyor (CD10 x 400).



Resim 4.6. Midede germinal merkezde CD10 pozitifliği. Bez epitel hücrelerinde boyanma izlenmiyor (CD10 x 200).



Resim 4.7. Gastriti olmayan olgunun sağlıklı duodenum mukozası yüzey epitelinde fırçasmsı kenarlarda ve sitoplazmada süpranükleer yoğun pozitif boyanma (CD10, a: x100, b: x 200).



Resim 4.8. Gastriti olan olgunun duodenum mukozası yüzey epitelindeki boyanma kaybının yakından görünümü (CD10, x200).

5. TARTIŞMA

Mide mukozasının inflamasyonu olarak tanımlanan gastrit, çocuklardaki kronik karın ağrıların önemli nedenlerinden biridir. Mide mukozasının koruyucu ve agresif faktörleri arasındaki dengenin bozulması sonucu gastrit oluşmaktadır (1). Ancak mide mukozasının koruma mekanizmaları ve gastrit patogenezi henüz tam olarak bilinmemektedir. Günümüzde gastrik asit sekresyonunda artış gastrit patogenezinin sorumlu tutulan en önemli faktör olarak kabul edilmektedir (2). Ancak Hp'nin sorumlu olduğu gastritli olguların önemli bir kısmında dahi gastrik asit sekresyonunun yüksek, normal hatta azalmış olduğu bilinmektedir (98). Bu olgularda gastrit patogenezi koruyucu mekanizmalardaki eksiklikle de tam olarak açıklanamamaktadır. İntestinal sistem lamina propria mukoza ile ilişkili lenfoid doku, geniş bir sinir ağı ile birlikte VIP, SP, CGRP gibi çeşitli nöropeptidler içerir (99). SP değişik uyarılar neticesinde immün hücrelerden sitokin üretimini uyarak (99,100), CGRP, VIP eksikliğinde ise anti-inflamatuar etkinin azalmasıyla birlikte kronik gastrit gelişebileceği öne sürülmüştür (101,102). Ancak bu konu detaylıca araştırılmamıştır. Bu çalışma da nöronal ve non-nöronal kaynaklı peptitlerin kronik gastrit patogenezindeki rolleri araştırıldı. Bu amaç doğrultusunda üst endoskopi yapılarak gastrit saptanan hastaların lezyonun hafif olduğu ve lezyonun ağır olduğu bölgelerinden iki basamaklı ekstraksiyon yapılarak ELİSA yöntemi ile doku peptit miktarları ölçüldü. Birinci ekstraksiyonda daha çok nöron kaynaklı peptit miktarları ortaya çıkarken 2. ekstraksiyon ise nöron dışı peptit miktarlarını yansıtmaktadır. (104). Ayrıca endoskopi sonucu herhangi bir patolojiye rastlanmayan kişilerden sağlıklı dokular kontrol grubu olarak alındı.

SP esas olarak nöronlardan salınmakta ve enflamatuar bir peptit olarak bilinmektedir. SP ve reseptörleri gastrointestinal sistemde myenterik ve submukozal sinir pleksus nöronlarında yoğun olarak eksprese olur. SP nötrofiller, eozinofiller, makrofajlar ve dendritik hücreler gibi immünregülasyonda rol alan hücrelerden de salınmaktadır. Kas kasılması, epitelyal iyon transportu, vasküler permeabilite ve immün fonksiyonların düzenlenmesinde rolü vardır (56,102-106). SP'nin inflamatuvar etkinliği sıklıkla hayvan deneyleri ve in vitro çalışmalarda gösterilmiştir. Kahler ve ark. (100), SP içeren sinir uçlarının nötrofil, lenfosit, monosit ve fibroblast kemotaksisini arttırdığını yani bir nörojenik kontrolün olduğunu raporlamışlardır. SP'nin mast hücrelerinde TNF- α gen ekspresyonunu artırdığı (107,108) ve TNF- α

miktarının anti-SP ajanlarla baskılandığı da bilinmektedir (109). Yakın zamanda SP'nin inflamatuvar etkinliği çeşitli dokularda gösterilmiş olmakla birlikte gastrik mukozada SP'nin inflamatuvar etkinliği ile ilgili erişkinlerle sınırlı sayıda olgu ile yapılmış birkaç çalışma bulunmaktadır. Sipos ve ark. (9), kronik gastriti olan Hp (+) 10 hasta ve sağlıklı 10 erişkin hasta ile yaptıkları çalışmalarında SP içeren sinir ucu sayısını, aktive immün hücrelerin ve bunların ürettiği TNF-alfa gibi sitokinlerin Hp (+) kronik gastritli hastalarda arttığını tespit etmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar Hp (+) 10 hasta ve sağlıklı 5 erişkin ile yaptıkları bir başka çalışmada (110) benzer sonuçları bulmuşlardır. Araştırmacılar SP ve ilişkili olduğu bu değişikliklerin kronik gastrit gelişimine neden olduğunu belirtmişlerdir. Erin ve ark. (65), gastriti olan 57 erişkin hasta ile yaptıkları çalışmalarında gastritli hastaların SP düzeyinde iki yönlü değişiklik izlemişlerdir. Gastritli hastaların lezyonsuz mide dokularında *nöronal SP* miktarının sağlıklı dokuya göre belirgin azaldığı gözlenirken; lezyonlu mide dokularında SP düzeyinin sağlıklı dokudakine benzer düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Çalışmacılar gastritli hastaların lezyonsuz bölgelerinde nöronal SP miktarının baskılandığını öne sürmüşlerdir. Diğer taraftan; lezyonlu bölgede *nöron dışı SP* düzeyi sağlıklı dokuya göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Çalışmacılar bu durumu lezyonlu bölgedeki inflamatuvar hücrelerden kaynaklanan SP'ye bağlamışlardır.

Önceki çalışmada Hp (+) hastaların gastritli bölgelerinde nöronal SP düzeyini Hp (-) hastalardan daha düşük saptamışlardır. Çalışmamızda SP düzeylerini, lezyonlu bölgelerin birinci (nöronal kaynaklı SP) ve ikinci ekstraksiyonlarında (non-nöronal SP) hem hafif lezyonlu bölgeye göre hem de kontrol grubundaki sağlık dokuya göre yüksek bulduk. Bununla birlikte hafif lezyonlu bölge ile sağlıklı doku arasında birinci ve ikinci ekstraksiyonlardaki SP miktarlarında anlamlı bir farklılık izlemedik. Yani SP düzeyini çocuklarda hastalıklı dokuda yüksek saptadığımızı söyleyebiliriz. Çalışmamızda Hp (+) ve Hp (-) hastaların nöronal ve non-nöronal SP düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulmadık. Çalışmamızın sonuçları yakın zamanda erişkinlerle yapılmış çalışmalar ile kısmen örtüşmektedir. Çalışmamızın daha geniş bir popülasyonda yapıldığını göz önünde bulundursak SP'nin Hp enfeksiyonundan bağımsız olarak inflamatuvar etkilerinin olduğunu söyleyebiliriz. Çalışmamızda ek olarak aynı bireyin lezyon baskın ve hafif lezyonlu bölgelerinde de bu fark tespit edilmiştir.

İnflamatuvar ve otoimmün hastalıkların kadınlarda daha sık görülmektedir. Duyusal sinirlerden salınan nöropeptitlerdeki artışın bu hastalıkların etyolojisinde yer aldığı düşünülmektedir. Çalışmamızda kız ve erkek çocuk hastaların sağlıklı ve lezyonları bölgeleri arasındaki SP düzeyleri arasında bir fark bulmadık. Erişkin yaş grubunda hormonal faktörler gibi farklı belirleyicilerin rolü olabilir.

VIP içeren sinir uçları lamina propriyada kriptler, villuslar, muskularis mukoza ve Peyer plakları çevresinde yoğun olarak bulunmaktadır. Bazı VIP içeren sinir uçları epitelyum içerisine kadar uzanmaktadır. VIP içeren enterik sinir sisteminin inervasyonu intrinsik myenterik ve submukozal ganlionlar ve ekstrinsek parasempatik otonomik ve duysal sinir sistemi tarafından sağlanmaktadır (111). VIP'in proinflamatuvar sitokinlerin (TNF α , IL-6 ve IL-12) salınımını azaltarak, anti-inflamatuvar sitokinlerin (IL-10 gibi) salınımını artırarak ve Th1 aktivasyonunu azaltarak anti-inflamatuvar etkinlik gösterdiği saptanmıştır (74). VIP analoglarının endotoksik şok, crohn hastalığı, ülseratif kolit, romatoid artrit, Parkinson hastalığı, beyin hasarı gibi inflamatuvar ve otoinflamatuvar gibi modellerde yararının olduğu gösterilmiştir (75). VIP'in üst gastrointestinal hastalıklardaki değişimi ile bilgiler oldukça kısıtlıdır. Domschke ve ark. (60), 1985 yılında, duodenal ülseri olan sekiz erişkin hasta ile yaptıkları çalışmalarında; duodenal ülserli hastaların proximal duodenum mukozalarında VIP düzeyinin arttığını bildirmişlerdir. Erin ve ark. (65), 2012 yılında 57 erişkin hasta ile yaptıkları çalışmalarında sağlıklı dokuda nöronal VIP düzeyini gastritli ve ülserli hasta dokularına göre belirgin yüksek bulmuşlardır. Ayrıca VIP düzeyindeki azalmanın ülserli hastalarda özellikle nöronal kaynaklı VIP düzeyinde daha belirgin olduğunu vurgulamışlardır. Çalışmacılar VIP düzeyindeki azalmanın gastrit ve ülser gibi inflamatuvar gastrointestinal patolojilere neden olabileceği yargısına varmışlardır. Çalışmamızda sağlıklı mide doku örneklerinde VIP düzeyini birinci ve ikinci ekstraksiyonlarda gastrit saptanan hastaların lezyonlu ve hafif lezyonlu bölge doku örneklerine göre anlamlı derecede yüksek bulduk. Yine gastritli hastaların doku örneklerinde lezyonlu bölgedeki VIP düzeyini hafif lezyonlu bölgeye göre birinci ve ikinci ekstraksiyonlarda anlamlı derecede azalmış olarak ölçtük. Çalışmamızda VIP düzeyindeki azalma ile Hp enfeksiyonu arasında bir ilişki bulamadık. Üst gastrointestinal sistemde bulunan mukus mukozayı sindirim sırasındaki motilitenin yaratabileceği travmalardan ve yüzeyel hasarlar sonrasında gerçekleşen re-epitelizasyon sırasında korur. Mukus içinde bulunan bikarbonat, hidrojen iyonlarını nötralize eder, pepsin ve hidroklorik asite karşı bir engel

oluşturur. VIP aynı zamanda mukus yapısındaki HCO₃ salgısını artırmaktadır (112). Azalmış VIP düzeyi mide mukus bariyerinin bozulmasına, hidrojen iyonlarının geri diffüzyonuna ve mide epitelyum hücre hasarına neden olur ve dolaylı olarak Hp'nin kolaylıkla penetrasyonuna olanak sağlayabilir. Çalışmamızın sonucu Hp enfeksiyonunun gastrit için tek sebep değil, VIP'teki azalmanın bir sonucu olabileceğini de düşündürmektedir. Çalışmamızın sonuçları Erin ve ark.'nın erişkin hastalarla yaptıkları çalışmanın bulguları ile örtüşmektedir. Çalışmamız çocukluk dönemi gastritleri ile yapılmış ilk çalışma olup literatürde çocukluk dönemi gastrointestinal hastalıkları ile yapılmış benzer bir çalışmaya rastlamadık.

CGRP'nin nörojenik inflamasyonun mediatörlerinden biri olduğuna inanılmaktadır. CGRP içeren sinir uçları üst gastrointestinal sistemde mukozal ve submukozal damarları inerve etmekte ve vazodilatasyona neden olarak lokal kan akımını arttırmaktadır. Bu yolağın bloke edilmesi (aferent sinirlerin capsaicin ile ablasyonu gibi) uygun hiperemik yanıtın oluşmaması ile sonuçlanır. Sonuçta fizyolojik stres faktörlerinin etkisi ile inflamatuvar kaskat agreeve olarak hafif iritan faktörler ile mukozal hasar oluşur. CGRP enterik sinir sisteminde yaygın olarak bulunmaktadır (88-94). Yapılan deneysel çalışmalarda ekzojen CGRP verilmesi ile duyuşal sinirlerin uyarılması değişik deneysel gastrik ülser modellerinde koruyucu etki oluşturmuştur (97, 98). CGRP'in gastrik inflamasyondaki rolü ile ilgili klinik çalışmalar da son derece yetersizdir. Sipos ve ark. (9), gastriti olan 10 hasta ile yaptıkları çalışmalarında gastritli hastaların CGRP içeren immün reaktif sinir uçlarını kontrol grubuna göre hafifçe azalmış bulmuşlardır. Çalışmamızda CGRP'yi birinci ve ikinci ekstraksiyonlarda gastritli hastaların hafif lezyonlu ve lezyonlu bölgelerinde sağlıklı kontrol grubuna göre azalmış bulduk. Ayrıca CGRP'yi birinci ve ikinci ekstraksiyonlarda gastritli hastaların lezyonlu bölgesinde hafif lezyonlu bölgeye göre azalmış bulduk. Bu sonuç CGRP'nin VIP gibi gastrik mukozanın koruyucu nöropeptitlerinden biri olduğunu göstermektedir. Birinci ve ikinci ekstraksiyonlardaki CGRP düzeyinin lezyonun ağır olduğu bölgelerde hafif lezyonlu bölge ve sağlıklı dokuya göre yüksek saptanması inflamatuvar prosesle birlikte nörojenik inflamasyonunda önemini ortaya koymaktadır. Bilgilerimize göre bu çalışma gastriti olan çocuk hastalarda CGRP'nin değişimi ve etkileri ile ilgili ilk çalışmadır.

NEP membran bağı bir hücre yüzey enzimidir. NEP ince barsak mukozası fırçamsı kenarda yoğun olarak bulunmaktadır. Sağlıklı mukozada

immünohistokimyasal yöntemlerle lineer yani düzenli bir boyanma görülmektedir. NEP intestinal epitel hücrelerinin büyüme ve diferansiyasyonunda rol oynuyor olabilir. Halen mikrovillus inklüzyon hastalığı tanısını ışık mikroskopisi ile desteklemekte kullanılmaktadır (113-116). Ülseratif kolitli hastalarda ileal poş, ileo-anal anastomoz hattının değerlendirildiği bir çalışmada sağlıklı ileal mukozada düzenli boyanma paterninin olduğu bununla birlikte inflame mukozada boyanma kaybının olduğu saptanmıştır (117). Literatürde intestinal metaplazinin eşlik ettiği gastrik adenokarsinomlarda NEP ekspresyonunun izlendiği bir çalışma (118) dışında gastrik mukozanın inflamasyonu ile seyreden hastalıklarda NEP düzeyinin değerlendirildiği sadece bir çalışmaya rastladık. Trejdosiewicz ve ark. (116), çölyak hastalığı olan hastalarla yaptıkları çalışmalarında sağlıklı gastrik mukozada NEP boyaması izlenmediğini raporlamışlardır. Bizim çalışmamızda da mide dokusunda NEP enzim aktivitesi ve epitelyal NEP boyaması izlenmedi. Yine mide dokusunda non-epitelyal yani lenfoplazmositer hücrelerde NEP ekspresyonu ile ilgili bir çalışmaya da rastlamadık. Erişkinlerde kronik gastritte dokuda nötrofiller yoğundur. İntraepitelyal nötrofil yoğunluğu mukozal hasarın yaygınlığını gösterir. Çocuklarda ise nötrofil yoğunluğu erişkinlere göre belirgin olarak azdır. Lenfosit infiltrasyonu daha ön plandadır (119). Çalışmamızda lenfoplazmositer hücrelerde diffüz NEP boyamasını kontrol grubundaki sağlıklı doku örneklerinde hem lezyonlu hemde hafif lezyonlu bölgeye göre istatistiki olarak anlamlı derecede az saptadık. Yine lezyonlu bölgelerin hafif lezyonlu bölgelere göre daha yoğun NEP boyaması gösterdiğini bulduk. Ortak lenfoid progenitörler olarak adlandırılan ve T, B veya doğal öldürücü hücrelere dönüşme potansiyeli olan hematopoetik progenitör hücreler NEP eksprese ederler. NEP pozitif lenfoplazmositer hücrelerin inflamasyonlu bölgelerde daha fazla saptanması inflamasyonun başlaması veya ağırlaşmasında rolü olabileceğini düşündürmektedir. NEP'in SP'nin etkilerinin sona ermesinde rolü olduğu da bilinmektedir. Çalışmamızda lezyonlu bölgelerde SP'nin yüksek, NEP pozitif hücrelerin artmış saptanması reaktif bir sonuç olarak yorumlanabilir. Ayrıca çalışmamızda gastriti olmayan hastaların duodenal mukozasında gastriti olanlarla karşılaştırıldığında daha belirgin diffüz NEP boyanma paterni olduğu gözlemlendi. Sağlıklı duodenal mukozanın düzenli NEP boyaması gösterdiği birkaç çalışmada gösterilmiştir (117). Bu çalışma inflamasyonlu gastrik mukozada NEP düzeyi ve ekspresyonunun değerlendirildiği ilk çalışmadır.

6. SONUÇLAR

Çalışmaya gastriti olan 52 çocuk hasta, kontrol grubunda gastriti olmayan 30 olgu alındı.

1. Lezyonlu bölgedeki birinci ve ikinci ekstraksiyonlardaki SP miktarları sağlıklı dokudan (kontrol grubu) anlamlı olarak yüksek bulundu.
2. Lezyonlu bölge birinci ve ikinci ekstraksiyonlardaki SP miktarları hafif lezyonlu bölgeye göre anlamlı olarak yüksek bulundu.
3. Hafif lezyonlu bölge ile sağlıklı doku arasında birinci ve ikinci ekstraksiyonlardaki SP miktarlarında anlamlı bir farklılık izlenmedi.
4. Çalışma grubundaki 52 hastanın 23'ünde Hp saptandı. Hp saptanan ve Hp saptanmayan hastaların hem lezyonlu bölgeleri arasında hem de hafif lezyonlu bölgeleri arasında SP düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmadı.
5. Lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgelerde kız ve erkek çocuklar arasında birinci ve ikinci ekstraksiyonlardaki SP düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı.
6. Birinci ve ikinci ekstraksiyonlarda gastriti olmayan sağlıklı mide doku örneklerinde VIP düzeyi gastrit saptanan hastaların lezyonlu ve hafif lezyonlu bölge doku örneklerine göre anlamlı derecede yüksek bulundu.
7. Gastritli hastaların doku örneklerinde lezyonlu bölgedeki VIP düzeyi hafif lezyonlu bölgeye göre birinci ve ikinci ekstraksiyonlarda anlamlı derecede azalmış olarak ölçüldü.
8. Hp saptanan ve Hp saptanmayan hastaların hem lezyonlu bölgeleri arasında hem de hafif lezyonlu bölgeleri arasında VIP düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmadı.
9. Çalışmamızda lezyonlu ve lezyonsuz bölgelerde kız ve erkekler arasında birinci ve ikinci ekstraksiyonlardaki VIP düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı.
10. CGRP birinci ve ikinci ekstraksiyonlarda gastritli hastaların hafif lezyonlu ve lezyonlu bölgelerinde sağlıklı kontrol grubuna göre azalmış bulundu.

11. CGRP birinci ve ikinci ekstraksiyonlarda gastritli hastaların lezyonlu bölgesinde hafif lezyonlu bölgeye göre azalmış bulundu.
12. Hp (+) ve Hp(-) gastritli hastaların lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgeleri arasında birinci ve ikinci ekstraksiyonlarda anlamlı bir fark bulunamadı.
13. Çalışmamızda lezyonlu ve lezyonsuz bölgelerde kız ve erkekler arasında birinci ve ikinci ekstraksiyonlardaki VIP düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı.
14. Çalışma grubundaki 45 hastanın 38'inde lezyonlu bölgede lenfoplazmositer hücrelerde NEP boyaması pozitifken (fokal ya da diffüz), 7 hastada boyanma izlenmedi. Lezyonlu bölgede 28 hastada lenfoplazmositer hücrede diffüz boyanma görülürken 10 hastada fokal boyanma izlendi. Hafif lezyonlu bölgelerde 15 hastada NEP ile diffüz boyama 24 hastada ise fokal boyanma izlendi.
15. Lezyonlu bölgelerin hafif lezyonlu bölgelere göre daha fazla NEP ile diffüz boyanma özelliği olduğu saptandı.
16. Hp gastriti olan olgularda lenfoid foliküllerin germinal merkezlerinde NEP ile yoğun boyanma gözlemlendi.
17. Kontrol grubunda 29 hastanın 27'sinde lenfoplazmositer hücrelerde NEP boyanması pozitif iken 2 hastada boyanma izlenmedi. 8 hastada diffüz, 19 hastada ise fokal boyanma izlendi. Bu sonuçlar kontrol grubunda çalışma grubu lezyonlu ve hafif lezyonlu bölgeye göre daha az diffüz boyanmanın olduğunu göstermiştir.
18. Gastriti olmayan hastaların duodenal mukozasında gastriti olanlarla karşılaştırıldığında daha belirgin diffüz NEP boyanma paterni gözlemlendi.

7. ÖZET

ÇOCUKLUK DÖNEMİ GASTRİTLERİNDE NÖROPEPTİT VE NÖTRAL ENDOPEPTİDAZ DÜZEYİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLER

Gastrit mide mukozasının enflamasyonu olarak tanımlanan çocukluk dönemi kronik karın ağrısının önemli nedenlerinden biridir. Mide mukozasının koruyucu ve agresif faktörleri arasındaki dengenin bozulması sonucu gastrit oluştuğu bilinmektedir. Ancak mide mukozasının koruma mekanizmaları ve gastrit patogenezi henüz tam olarak bilinmemektedir.

Gastrointestinal sistem lamina propriası, geniş bir sinir ağı ile birlikte Vazoaktif intestinal peptit (VIP), Substans P (SP), kalsitonin gen ilişkili peptit (CGRP) gibi çeşitli nöropeptidler içerir. SP'nin inflamatuvar süreçte rol oynadığı, VIP'in ve CGRP'in anti-inflamatuvar etkileri mevcuttur. Nötral endopeptidaz (NEP) SP'yi hidroliz eder ve SP'nin biyolojik etkisi sona erdirir. Bununla birlikte gastrik mukozada SP, VIP ve CGRP'nin rolü detaylıca araştırılmamıştır. Bu çalışmada nöronal ve non-nöronal kaynaklı peptitlerin kronik gastrit patogenezindeki rollerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda SP düzeylerini, lezyonlu bölgelerin birinci (nöronal kaynaklı SP) ve ikinci ekstraksiyonlarında (non-nöronal SP) hem hafif lezyonlu bölgeye göre hem de kontrol grubundaki sağlık dokuya göre Hp'den bağımsız olarak yüksek saptandı. Bu sonuç SP'nin gastrik mukozada inflamatuvar etkilerinin olduğu anlamına gelir.

VIP düzeyleri sağlıklı mide doku örneklerinde gastritli dokuya göre ve gastritli hastaların lezyonlu bölgelerinde hafif lezyonlu bölgelere göre yüksek saptandı. Bu sonuç VIP'in anti-inflamatuvar etkisinin bir göstergesi olarak değerlendirilebilir.

CGRP düzeyleri gastritli hastaların hafif lezyonlu ve lezyonlu bölgelerinde sağlıklı kontrol grubuna göre ve her iki ekstraksiyonda gastritli hastaların lezyonlu bölgesinde hafif lezyonlu bölgeye göre azalmış bulundu. Bu sonuç CGRP'nin VIP gibi gastrik mukozanın koruyucu nöropeptitlerinden biri olduğunu göstermektedir.

Gastritli dokuda lenfoplazmositer hücrelerde belirgin derecede diffüz NEP boyaması izlendi. NEP pozitif lenfoplazmositer hücrelerin inflamasyonlu bölgelerde daha fazla saptanması inflamasyonun başlaması veya ağırlaşmasında rolü

olabileceğini düşündürmektedir. NEP'in SP'nin etkilerinin sona ermesinde rolü olduğu da bilinmektedir. Çalışmamızda lezyonlu bölgelerde SP'nin yüksek, NEP pozitif hücrelerin artmış saptanması reaktif bir sonuç olarak yorumlanabilir. Ayrıca gastriti olmayan hastaların duodenal mukozasında gastriti olanlarla karşılaştırıldığında daha belirgin diffüz NEP boyanma paterni gözlemlendi. Bu çalışma inflamasyonlu gastrik mukozada NEP düzeylerinin değerlendirildiği ilk çalışmadır.

Anahtar kelimeler: Gastrit, nöropeptit, nötral endopeptidaz, çocukluk dönemi.

8. ABSTRACT

CHANGES IN NEUROPEPTIDES AND NEUTRAL ENDOPEPTIDASE LEVELS IN CHILDREN WITH GASTRITIS

Gastritis which is defined as the inflammation of gastric mucosa is one of the important causes of chronic abdominal pain in childhood. Gastritis is known to develop as the result of impaired balance between protective and aggressive factors of gastric mucosa. However protection mechanisms of gastric mucosa and pathogenesis of gastritis are still not fully known.

Lamina propria of gastrointestinal tract include various neuropeptides like Vasoactive intestinal peptid (VIP), Substance P (SP), Calcitonin gene-related peptide (CGRP). SP is known to play a role in inflammatory process and VIP and CGRP have anti-inflammatory effects. Neutral endopeptidase (NEP) hydrolysis SP and terminates biologic effect of SP. However roles of SP, VIP and CGRP in gastric mucosa have not been investigated in detail. In this study, it was aimed to investigate the roles of neuronal and non-neuronal peptides in pathogenesis of gastritis.

In our study, SP levels were found high independently from Hp in the first (neuronal SP) and second extractions (non-neuronal SP) in diseased mucosa compared to the region with a mild lesion and the lesion free mucosa. This result indicates that SP has inflammatory effects in gastric mucosa.

VIP levels were found higher in healthy gastric tissue samples compared to tissue with gastritis and it was higher in the diseased mucosa compared to mucosa with mild lesion. This result may be interpreted as an indicator of anti-inflammatory effect of VIP.

CGRP levels were found lower in regions with a mild lesion or diseased mucosa compared to healthy control group and it was lower in the regions with diseased mucosa compared to the regions with mild lesion. This result indicates that CGRP is one of the protective neuropeptides of gastric mucosa like VIP.

A substantial diffuse NEP staining was observed in lymphoplasmocytic cells of gastritis tissue. Finding NEP positive lymphoplasmocytic cells more in

inflammation sites suggests that they may have a role in initiation or deterioration of inflammation. NEP is also known to have a role in termination of the effects of SP. In our study, finding SP and NEP positive cells high in lesion sites may be interpreted as a reactive outcome. In addition, diffuse NEP staining pattern was observed to be more predominant in duodenal mucosa of patients without gastritis compared to the ones with gastritis. This is the first study which evaluates NEP levels in inflamed gastric mucosa.

Key words: Gastritis, neuropeptides, neutral endopeptidase, childhood.

9. KAYNAKLAR

1. Rowland M, Bourke B, Drumm B. Acid-Peptic Disease. In: Kleinman RE, Gouglet OJ, Mieli-Vergani G, Sanderson IR, Sherman PM, Shneider BL, eds. Walker's Pediatric Gastrointestinal Disease. 5th ed. Hamilton, Ontario, Canada: BC Decker Inc 2008; 153-63.
2. McColl KE, el-Omar E, Gillen D. Helicobacter pylori gastritis and gastric physiology. Gastroenterol Clin North Am 2000; 29: 687-703.
3. Stead RH. Innervation of mucosal immune cells in the gastrointestinal tract. Reg Immunol 1992; 4: 91-9.
4. Weinstock JV, Walder J, Walder R. Eosinophils from granulomas in murine schistosomiasis mansoni produce substance P. J Immunol 1988; 141: 961-6.
5. Killingsworth CR, Shore SA, Alessandrini F, Dey RD, Paulauskis JD. Rat alveolar macrophages express preprotachykinin gene-I mRNA-encoding tachykinins. Am J Physiol 1997; 273: 1073-81.
6. Joos GF, Germonpre PR, Pauwels RA. Role of tachykinins in asthma. Allergy 2000; 55: 321-37.
7. Bost KL, Breeding SA, Pascual DW. Modulation of the mRNAs encoding substance P and its receptor in rat macrophages by LPS. Reg Immunol 1992; 4: 105-12.
8. Tuncel N, Tuncel M, Boul-Enein HY. Effects of the vasoactive intestinal peptide on stress-induced mucosal ulcers and modulation of methylation of histamine in gastric tissue of the rats. Farmaco 2003; 58: 449-54.
9. Sipos G, Altrofer K, Pongor E, Chen LP, Feher E. Neuroimmune link in the mucosa of chronic gastritis with Helicobacter pylori infection. Dig Dis Sci 2006; 51: 1810-7.
10. Takeuchi K, Ueshima K, Ohuchi T, Okabe S. The role of capsaicin-sensitive sensory neurons in healing of HCl-induced gastric mucosal lesions in rats. Gastroenterology 1994; 106: 1524-32.
11. Bunnett NW, Wu V, Sternini C, Klinger J, Shirnomaya E, Payan D, et al. Distribution and abundance of neutral endopeptidase (EC 3.4.24.11) in the alimentary tract of the rat. Am J Physiol 1993; 264: 497-508.
12. Pandol SJ, Raybould HE, Yee HF. Integrative responses of the gastrointestinal tract and liver to a meal. In: Textbook of Gastroenterology 5th ed. Ed by Yamada T, Alpers DH, Kalloo AN, Kaplowitz N, Owyang C, Powell DW. Black Well pub. 2009; 3-39.
13. Konturek SJ, Brzozowski T, Konturek PC, Schubert ML, Pawlik WW, Padol S, et al. Brain-gut and appetite regulating hormones in the control of gastric secretion and mucosal protection. J Physiol Pharmacol 2008; 59(2): 7-31.
14. Kobel FB, Barbero GJ. Gastric secretion in infancy and childhood. Gastroenterology 1967; 52: 1101-12.
15. Dunn BE. Pathogenic mechanisms of Helicobacter pylori. Gastroenterol Clin North Am 1993; 22: 43-57.

16. Mertz-Nielsen AJH, Frokiare H, Bukhave K, Rask-Madsen J. Gastric bicarbonate secretion and release of prostaglandin E2 are increased in duodenal ulcer patients but not in Helicobacter pylori positive healthy subjects. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31: 38-43.
17. Younan R, Pearson J, Allen A, Venables C. Changes in the structure of the mucus gel on the stomach in association with peptic ulcer disease. *Gastroenterology* 1982; 82: 827-31.
18. Cave TR, Cave DR. Helicobacter pylori stimulated pepsin secretion from isolated rabbit gastric glands. *Scand J Gastroenterol* 1991; 181: 9-13.
19. Rowland M, Bourke B, Drumm B. Helicobacter pylori and Peptic Ulcer Disease. Walker's Pediatric Gastrointestinal Disease. In: Kleinman RE, Goulet OJ, Sanderson IR, Sherman PM, Shneider P, Vergani GM, editors. Volume 1, Hamilton, 2008, BC Decker Inc 2008; 139-52.
20. Fox JG, Wang TC. Inflammation, atrophy, and gastric cancer. *J Clin Invest* 2007; 117: 60-9.
21. Fox JG, Beck P, Dangler CA. Concurrent enteric helminth infection modulates inflammation and gastric immune responses and reduces Helicobacter-induced gastric atrophy. *Nat Med* 2000; 6: 536-42.
22. Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 449-90.
23. Massimo Rugge MD, Robert M. Genta MD. Staging and grading of chronic gastritis. *Hum Pathol* 2005; 36: 228-33.
24. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1311-5.
25. Yamaoka Y, Orito E, Mizokami M, Gutierrez O. Helicobacter pylori in North and South America before Columbus. *FEBS Letters*. 2002; 517: 180-4.
26. Megraud F, Malfertheiner P, Morain C, Hungin A, Jones R, Axon et al. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection-the Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 167-80.
27. Crawford JM. The Gastrointestinal Tract. Pathologic Basis Of Disease. VI. Ed WB Saunders, Philadelphia 1999; 789-97.
28. Kumar V, Abbas K, Fausto N, Aster C, Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease, 8. baskı, Philedelphia, Elsevier 2010; 774-5.
29. Moss SF, Calam J, Agarwal B, Wang S, Holt PR. Induction of gastric epithelial apoptosis by Helicobacter pylori. *Gut* 1996; 38: 498-501.
30. Wu MS, Shun CT, Lee WC, Chen CJ, Wang H. Overexpression of p53 in different subtypes of intestinal metaplasia and gastric cancer. *Br J Cancer* 1998; 78: 971-3.
31. Di Gregorio C, Morandi P, Fante R, Fante R, Gaetani C. Gastric dysplasia. A followup study. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 1714-9.

32. Bearzi I, Brancorsini D, Santinelli A, Rezai B, Mannello B, Ranaldi R. Gastric dysplasia: a ten- year follow-up study. *Pathol Res Pract* 1994; 190: 61-8.
33. Rugge M, Farinati F, Di Mario F, Baffa R, Valiante F, Cardin F. Gastric epithelial dysplasia: a prospective multicenter follow-up study from the Interdisciplanry Group on Gastric Epithelial Dysplasia. *Hum Pathol* 1991; 22: 1002-8.
34. Farinati F, Rugge M, Di Mario F, Valiante F, Baffa R. Early and advanced gastric cancer in the follow-up of moderate and severe gastric dysplasia patients. A prospective study. I.G.G.E.D. Interdisciplinary Group on Gastric Epithelial Dysplasia. *Endoscopy* 1993; 25: 261-4.
35. Ono H, Kondo H, Gotoda T, Shirao K, Yamaguchi H, Saito D, et al. Endoscopic mucosal resection for treatment of early gastric cancer. *Gut* 2001; 48: 225-9.
36. Thomas JE, Austin S, Dale A, McClean P, Harding M, Coward WA, et al. Protection by human milk IgA against *Helicobacter pylori* infection in infancy. *Lancet* 1993; 342: 121.
37. Du MQ, Isaccson PG. Gastric MALT lymphoma: From aetiology to treatment. *Lancet Oncol* 2002; 3: 97-104.
38. Liu H, Ye H, Fourmestraux A. t(11;18) is a marker for all stage gastric MALT lymphomas that will not respond to *H. pylori* eradication. *Gastroenterology* 2002; 122: 1286-94.
39. Pellicano R, Franceschi F, Saracco G, Fagoonee S, Roccarina D, Gasbarrini A. *Helicobacters* and extragastric diseases. *Helicobacter* 2009; 14: 58-68.
40. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C. The European *Helicobacter* Study Group (EHSG). Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut* 2007; 56: 772-81.
41. Kürekçi AE, Atay AA, Sarıcı SU, Yeşilkaya E. Is there a relationship between childhood *Helicobacter pylori* infection and iron deficiency anemia? *J Trop Pediatr* 2005; 51: 166-9.
42. Franchini M, Veneri D. *Helicobacter pylori* infection and immune thrombocytopenic purpura: an update. *Helicobacter* 2004; 9: 342-6.
43. Gold BD, Colletti RB, Abbott M, Czinn SJ. *Helicobacter pylori* infection in children: recommendations for diagnosis and treatment. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31: 490-7.
44. Köksal F. *Helicobacter Pylori* Tanısında Kullanılan Moleküler Yöntemler. 3.Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, Program ve Bildiri Özet Kitabı 2004; 99-111.
45. Brown KE, Peura DA. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterol Clin North Am* 1993; 22: 105-15.
46. Cutler AF. Testing for *Helicobacter pylori* in clinical practice. *Am J Med* 1996; 100: 35-41.

47. Oderda G, Schherbakov P, Bontems P. Results from the Pediatric European Register for Treatment of Helicobacter pylori (PERTH). *Helicobacter* 2007; 12: 150-6.
48. Kadayıfçı A, Büyükhatipoğlu H, Savaş MC, Şimşek İ. Eradication of Helicobacter pylori with triple therapy: An epidemiologic analysis of trends in Turkey over 10 years. *Clin Ther* 2006; 11: 1960-6.
49. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Am J Surg Pathol 1996; 20: 1161-81.
50. Cutler AF. Testing for Helicobacter pylori in clinical practice. *Am J Med* 1996; 100: 35-41.
51. Chang MM, Leeman SE, Niall HD. Amino-acid sequence of substance P. *Nat New Biol* 1971; 232: 86-7.
52. O'Connor TM, O'Connell J, O'Brien Di, Goode T, Bredin CP, Shanahan F. The role of substance P in inflammatory disease. *J Celi Physiol* 2004; 201: 167-80.
53. Koon HW and Pothoulakis C. Immunomodulatory properties of substance P: the gastrointestinal system as a model. *Ann NY Acad Sci* 2006; 1088: 23-40.
54. De Swert KO, Joos GF. Extending the understanding of sensory neuropeptides. *Eur J Pharmacol* 2006; 533-3: 171-81.
55. Marshall KW, Chiu B, Inman RD. Substance P and arthritis: analysis of plasma and synovial fluid levels. *Arthritis Rheum* 1990; 33: 87-90.
56. Pernow B. Substance P. *Pharmacol Rev* 1983; 35: 85-141.
57. Blackshavv LA. and Dent J. Lower oesophageal sphincter responses to noxious oesophageal chemical stimuli in the ferret: involvement of tachykinin receptors. *J Auton Nerv Syst* 1997; 66: 189-200.
58. Pawlik WW, Konturek SJ, Czamobliski K, Sendur, Jaworek J, Yanaihara N. Role of tachykinins in the control of pancreatic secretion and circulation. *J Physiol Pharmacol* 1992; 43: 43-57.
59. Kaneko H, Mitsuma T, Uchida K, Furusawa A, Marise K. Immunoreactive somatostatin, substance P, and calcitonin gene-related peptide concentrations of the human gastric mucosa in patients with nonulcer dyspepsia and peptic ulcer disease. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 898-904.
60. Domschke S, Bloom SR, Lux G, Bryant MG, Domschke W. Gastroduodenal mucosal hormone content in duodenal ulcer disease. *Hepatogastroenterology* 1985; 32: 198-201.
61. Karmouty-Quintana H, Cannet C, Sugar R, Fozard JR, Page CP, Beckmann N. Capsaicin-induced mucus secretion in rat airways assessed in vivo and non-invasively by magnetic resonance imaging. *Br J Pharmacol* 2007; 150: 1022-30.
62. Sun NN, Wong SS, Keith I, Witten ML. Tachykinin substance P depletion by capsaicin exacerbates inflammatory response to sidestream cigarette smoke in rats *Toxicology* 2004; 201: 39-50.

63. Yamada N, Yanai R, Nakamura M, Inui M, Nishida T. Role of the C domain of IGFs in synergistic promotion, with a substance P-derived peptide, of rabbit corneal epithelial wound healing *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 1125-31.
64. David S, Kan T, Cheng Y, Agarwal R, Jin Z, Mori Y. Aberrant silencing of the endocrine peptide gene tachykinin-1 in gastric cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 378: 605-9.
65. Erin N, Türker S, Elpek O, Yıldırım B. Differential changes in Substance P, VIP as well as neprilysin levels in patients with gastritis or ulcer. *Peptides* 2012; 35: 218-24.
66. Erin N, Zhao W, Bylander J, Chase G, Clawson G. Capsaicin-induced inactivation of sensory neurons promotes a more aggressive gene expression phenotype in breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 2006; 99: 351-64.
67. Schwartz JC, de la Baume S, Malfroy B, Patey G, Perdrisot R, Swerts JP, et al. Enkephalinase, a newly characterised dipeptidyl carboxypeptidase: properties and possible role in enkephalinergic transmission. *Int J Neurol* 1980; 14: 195-204.
68. Shipp MA, Tarr GE, Chen CY, Svitzer SN, Hersh LB, Stein H, et al. CD110/neutral endopeptidase 24.11 hydrolyzes bombesin-like peptides and regulates the growth of small cell carcinomas of the lung. *Proc Natl Acad Sci* 1991; 88: 10662-6.
69. Papandreou CN, Usmani B, Geng Y, Bogenrieder T, Freeman R, Wilk S, et al. Neutral endopeptidase 24.11 loss in metastatic human prostate cancer contributes to androgen-independent progression. *Nat Met* 1998; 4: 50-7.
70. Letarte M, Vera S, Addis JB, Onizuka RJ, Quackenbush EJ, Quackenbush EJ, et al. Common acute lymphocytic leukemia antigen is identical to neutral endopeptidase. *J Exp Med* 1988; 168: 1247-53.
71. Howell S, Nalbantoğlu J, Crine P. Neutral endopeptidase can hydrolyze beta-amyloid (1-40) but shows no effect on beta-amyloid precursor protein metabolism. *Peptides* 1995; 16: 647-52.
72. Oefner C, Roques BP, Fournie-Zaluski Mc, Dale GE. Structural analysis of neprilysin with various specific and potent inhibitors. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 2004; 60: 392-6.
73. Chorny A, Gonzalez-Rey E, Varesa N, Robledo G, Delgado M. Signaling mechanisms of vasoactive intestinal peptide in inflammatory conditions. *Regul Pept* 2006; 137: 67-74.
74. Delgado M, Pozo D and Ganea D. The significance of vasoactive intestinal peptide in immunomodulation. *Pharmacol Rev* 2004; 56: 249-90.
75. Harmar AJ, Arimura A, Gozes I, Journat L, Labirthe M, Pisegna JR et al. International Union of Pharmacology. XVIII. Nomenclature of receptors for vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide. *Pharmacol Rev* 1998; 50: 265-70.
76. Ishihara T, Shigernoto R, Mori K, Takashi K, Nagaha S. Functional expression and tissue distribution of a novel receptor for vasoactive intestinal polypeptide. *Neuron* 1992; 8: 811-9.

77. Reubi JC. In vitro evaluation of VIP/PACAP receptors in healthy and diseased human tissues. Clinical implications. *Ann NY Acad Sci* 2000; 921: 1-25.
78. Delgado M, Martinez C, Jonshon MC, Gomariz RP, Ganea D. Differential expression of vasoactive intestinal peptide receptors 1 and 2 (VIP-R1 and VIP-R2) mRNA in murine lymphocytes. *J Neuroimmunol* 1996; 68: 27-38.
79. Gourlet P, Vandermeers A, Vertongen P, Rathe J, De Neef P, Cnudde J. et al. Development of high affinity selective VIP1 receptor agonists. *Peptides* 1997; 18: 1539-45.
80. Gourlet P, De Neef P, Cnudde J, Waelbroeck M, Robbercht P. In vitro properties of a high affinity selective antagonist of the VIP1 receptor. *Peptides* 1997; 18: 1555-60.
81. Usdin TB, Bonner TI, Mezey E. Two receptors for vasoactive intestinal polypeptide with similar specificity and complementary distributions. *Endocrinology* 1994; 135: 2662-80.
82. Hashimoto H, Nogi H, Mori K, Ohishi H, Shigernoto R, Yamamoto K, et al. Distribution of the mRNA for a pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide receptor in the rat brain: an in situ hybridization study. *J Comp Neurol* 1996; 371: 567-77.
83. Grider JR. Interplay of VIP and nitric oxide in regulation of the descending relaxation phase of peristalsis. *Ann J Physiol* 1993; 264: 334-40.
84. Goyal RK, Rattan S and Said SI. VIP as a possible neurotransmitter of non-cholinergic non-adrenergic inhibitory neurones. *Nature* 1980; 288: 378-80.
85. Sababi M, Hallgren A, Nylander O. Interaction between prostanoids, NO, and VIP in modulation of duodenal alkaline secretion and motility. *Am J Physiol* 1996; 271: 582-90.
86. Larsson LT, Sundler F. Is the reduction of VIP the clue to the pathophysiology of Hirschsprung's disease? *Z Kinderchir* 1990; 45: 164-6.
87. Pozo D, Delgado M. The many faces of VIP in neuroimmunology: a cytokine rather a neuropeptide? *FASEB J* 2004; 18: 1325-34.
88. Rosenfeld MG, Mermod JJ, Amara SG, Svanson LW, Sawchenko PE, Rivier J, et al. Production of a novel neuropeptide encoded by the calcitonin gene via tissue-specific RNA processing. *Nature* 1983; 304: 129-35.
89. McCulloch J, Uddman R, Kingman TA, Edvinsson L. Calcitonin gene-related peptide: functional role in cerebrovascular regulation. *Proc Natl Acad Sci* 1986; 83: 5731-5.
90. Brain SD, Williams TJ, Tippins JR, Morris HR, MacIntyre I. Calcitonin gene-related peptide is a potent vasodilator. *Nature* 1985; 313: 54-6.
91. Poyner DR, Sexton PM, Marshall I, Smith DM, Quirion R, Born W, et al. International Union of Pharmacology. XXXII. The mammalian calcitonin gene-related peptides, adrenomedullin, amylin, and calcitonin receptors. *Pharmacol Rev* 2002; 54: 233-46.
92. Arulmani U, Maassenvandenbrink A, Villalón CM, Saxena PR. Calcitonin gene-related peptide and its role in migraine pathophysiology. *Eur J Pharmacol* 2004; 500: 315-30.

93. Feher E, Burnstock G, Varndell IM, Polak JM. Calcitonin gene-related peptide-immunoreactive nerve fibres in the small intestine of the guinea-pig: electron-microscopic immunocytochemistry. *Cell Tissue Res* 1986; 245: 353-8.
94. Sternini C, Giorgio R. De, Furness JB. Calcitonin gene-related peptide neurons innervating the canine digestive system. *Regul Pept* 1992; 42: 15-26.
95. Allen JM, Bishop AE, Daly MJ, Larsson H, Carlsson E, Polak JM, Bloom SR. Effect of inhibition of acid secretion on the regulatory peptides in the rat stomach. *Gastroenterology* 1986; 90: 970-7.
96. Holzer P. Implications of tachykinins and calcitonin gene-related peptide in inflammatory bowel disease. *Digestion* 1998; 59: 269-83.
97. Clementi G, Amico-Roxas M, Caruso A, Cutuli VM, Maugeri S, Prato A. Protective effects of calcitonin gene-related peptide in different experimental models of gastric ulcers. *Eur J Pharmacol* 1993; 238: 101-4.
98. Zavros Y, Rieder G, Ferguson A, Samuelson IC, Merchant JL. Genetic or chemical hypochlorhydria is associated with inflammation that modulates parietal and G-cell populations in mice. *Gastroenterology* 2002; 123: 119-33.
99. Schratzberger P, Reinisch N, Prodinger WM, Kahler CM, Sitte BA, Bellmann R, et al. Differential chemotactic activities of sensory neuropeptides for human peripheral blood mononuclear cells. *J Immunol* 1997; 158: 3895-901.
100. Kahler C M, Sitte BA, Reinisch N, Wiedermann CJ. Stimulation of the chemotactic migration of human fibroblasts by substance P. *Eur J Pharmacol* 1993; 249: 281-6.
101. Martinez C, DelgadoM, Pozo D, Leceta J, Calvo JR, Ganea D, Gomariz RP. Vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase activating polypeptide modulate endotoxin-induced IL-6 production by murine peritoneal macrophages. *J Leukoc Biol* 1998; 63: 591-601.
102. Holzer P, Livingston EH, Saria A, Guth PH. Sensory neurons mediate protective vasodilatation in rat gastric mucosa. *Am J Physiol* 1991; 260: 363-70.
103. Reinshagen M, Patel A, Sottili M, French S, Sternini C, Eysselein VE. Action of sensory neurons in an experimental rat colitis model of injury and repair. *Am J Physiol* 1996; 270: 79-86.
104. Erin N, Zik B, Sarigül M, Tütüncü S. The effects of ehronic low-dose capsaicin treatment on substance P levels. *Regul Pept* 2009; 153: 83-7.
105. Batbayar B, Somogyi J Zelles T, Feh'er E. Immunohistochemical analysis of substance P containing nerve fibers and their contacts with mast cells in the diabetic rat's tongue. *Acta Biol Hung* 2003; 54: 275-83.
106. Ottaway CA, Stanisz AM. Neural-immune interactions in the intestine: Implications for inflammatory bowel disease. In: Kirsner JB, Shorter RG (eds) *Inflammatory bowel disease*. Williams and Wilkins, Baltimore 1995; 281-300.
107. Ansel J, Brown RJ, Payan DG, Brown MA. Substance P selectively activates TNF-a gene expression in murine mast cell. *J Immunol* 1993; 150: 4478-85.

108. Cocchiara R, Bongiovanni A, Albeggiani G, Azzolina A, Geraci D. Substance P selectively activates TNF- α mRNA in rat uterine immune cells: a neuroimmune link. *Neuroreport* 1997; 8: 2961-4.
109. Cocchiara R, Lampiasi N, Albeggiani G, Bongiovanni A, Azzolina A, Geraci D. Mast cell production of TNF-a induced by substance P evidence for a modulatory role of substance P-antagonists. *J Neuroimmunol* 1999; 101: 128-36.
110. Sipos G, Sipos P, Altdorfer K, Pongor E, Feher E. Corelation and immunolocalization of substance P nerve fibers activated immune cells in human chronic gastritis. *Anat Rec* 2008; 291: 1140-8.
111. Ichikawa S, Sreedharan SP, Goetzl EJ, Owen RL. Immunohistochemical localization of peptidergic nerve fibers and neuropeptide receptors in Peyer's patches of the cat ileum. *Regul Pept* 1994; 54: 385-95.
112. Yao B, Hogan DL, Bukhave K, Koss MA, Isenberg JI. Bicarbonate transport by rabbit duodenum in vitro: effect of vasoactive intestinal polypeptide, prostaglandin E2, and cyclic adenosine monophosphate. *Gastroenterology* 1993; 104: 732-40.
113. Danielsen EM, Vyas JP, Kenny AJ. A neutral endopeptidase in the microvillar membrane of pig intestine: partial purification and properties. *Biochem J* 1980; 191: 645-8.
114. Groisman GM, Amar M, Livne E. CD10: a valuable tool for the light microscopic diagnosis of microvillous inclusion disease (familial microvillous atrophy). *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 902-7.
115. Koepsell SA, Talmon G. Light microscopic diagnosis of microvillous inclusion disease on colorectal specimens using CD10. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 970-2.
116. Trejdosiewicz LK, Malizia G, Oakes J. Expression of the common acute lymphoblastic leukaemia antigen (CALLA gp100) in the brush border of normal jejunum and jejunum of patients with coeliac disease. *J Clin Pathol* 1985; 38: 1002-6.
117. Lloyd JM, Owens SR. CD10 immunohistochemistry stains enteric mucosa, but negative staining is unreliable in the setting of active enteritis. *Mod Pathol* 2011; 24: 1627-32.
118. Endoh Y, Tamura G, Motoyama T, Ajioka Y, Watanabe H. Well-differentiated adenocarcinoma mimicking complete-type intestinal metaplasia in the stomach. *Hum Pathol* 1999; 30: 826-32.
119. Crone J, Gold BD. *Helicobacter pylori* infection in pediatrics. *Helicobacter* 2004; 9: 49-56.

10. EKLER

Ek 1. Hasta Takip Formu.

HASTA TAKİP FORMU

Sıra No :

Tarih :

Dosya No :

Hasta Adı :

Yaş :

Cinsiyet :

Tel No :

Adres :

Endoskopi nedeni:

Özgeçmiş :

Diğer hastalıklar:

Aldığı ilaç tedavileri :

Endoskopi sonucu:

Biyopsi sonucu:

Patoloji

ELİSA

Tarih:	
SP	
VP	
CGRP	
Nepriylisin	

Ek 2. Çalışma Aydınlatılmış Onam Formu.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK GASTROENTEROLOJİ B.D

ÇOCUKLUK DÖNEMİ PEPTİK ÜLSER VE GASTRİTLERİNDE NÖROPEPTİT DÜZEYLERİNDEKİ DEĞİŞİKLİKLER VE NEUTRAL ENDOPEPTİDAZ'IN ROLÜ

ÇALIŞMASI AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

Sayın katılımcı;

Mide ülseri ve/veya gastriti olan hastalarla ilgili yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın adı “Çocukluk dönemi peptik ülser ve gastritlerinde nöropeptitler ve Nötral Endopeptidaz’ın rolü” dür.

Sizin çocuğunuzun da bu araştırmaya katılmasını öneriyoruz. Ancak bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni mide ülseri ve/veya gastrit hastalığına yol açabileceği düşünülen bazı maddelerin tespit edilmesine katkıda bulunmanızdır. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Gastroenteroloji Bölümünde bu hastalığın nedenlerini ortaya çıkaracak bir araştırma gerçekleştirilecektir.

Eğer çocuğunuzun araştırmaya katılmasını kabul ederseniz Çocuk Gastroenteroloji hekimleri tarafından rutin olarak yapılması gereken endoskopik incelemeniz yapılacak, endoskopi sırasında alınacak olan biyopsilere ek olarak çalışmamız için de biyopsi alınacaktır. Yine izniniz doğrultusunda çocuğunuzla ilgili bazı bilgiler kaydedilecektir. Bu kayıtlar ileride tekrar incelenerek doğru tanı konulmasına yardımcı olacaktır. Bu kayıtlar çocuğunuzun kimliği belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Kayıtlar bu amaçların dışında kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Bu çalışmayı yapabilmek için endoskopi sırasında aktif lezyon olan bölgeden ve sağlıklı görülen bölgeden örnekler almamız gerekmektedir. Alınan bu örneklerden hastalığa neden olduğu düşünülen maddeler çalışılacaktır.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığımız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Örnek alınması sırasında oluşabilecek riskler: Örnek alınan bölgede kanama görülebilir. Kanama endoskopi işleminde yaşanabilecek potansiyel bir risktir. Ancak bundan en az oranda zarar görmenizi sağlamak için elimizden geleni yapacağız. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler sizlere iletilecektir.

Yapılacak çalışmanın getireceği olası yararlar: Böyle bir analiz mide ülseri ve/veya gastrit hastalığının nedeninin öğrenilmesinde yararlı olacaktır. Şu anda bu çalışmanın hemen çocuğunuza bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde veya çocuğunuzun çalışmada olmasından dolayı uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz.

(Katılımcının Beyanı)

Sayın Doç.Dr. Aygen Yılmaz tarafından Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Gastroenteroloji Bilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra çocuğum böyle bir araştırmaya "katılımcı (denek)" olarak davet edildi.

Eğer çocuğum bu araştırmaya katılırsa hekim ile aramda kalması gereken çocuğuma ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında çocuğumun kişisel bilgilerinin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim (*Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağına bilincindeyim*). Ayrıca çocuğumun tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla çocuğum araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilir.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle çocuğumda meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında çocuğumda bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, hangi araştırmacıyı, hangi telefon ve adresten arayabileceğimi biliyorum.

Çocuğum bu araştırmaya katılmak zorunda değil ve katılmayabilir. Çocuğumun araştırmaya katılması konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun çocuğumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkilerimize herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde çocuğumun “katılımcı” (denek) olarak yer alması kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdın bir kopyası bana verilecektir.

Velinin

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza

Gönüllünün

Adı, soyadı:

Gönüllü ile görüşen hekim

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel:

İmza :