

SİSTEMİK NİKOTİN UYGULAMASININ ORAL MUKOZA, SUBMANDİBÜLER TÜKÜRÜK BEZİ VE DİL ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ELEKTRON MİKROSKOPİK OLARAK İNCELENMESİ

Mehmet YALTIRIK*, Seyhan SOLAKOĞLU**, Okan ORAL*,
Çetin KASAPOĞLU*, Cüneyt K. ORAL*

ÖZET

Toksik etkili alkaloidlerden biri olan nikotin günümüzde yaygın olarak sigara içimi ile tüketilmektedir. Yapılan birçok çalışmada nikotinın ağız sağlığını olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir. Çalışmamızda deney grubundaki 10 sıçana 12 hafta süreyle vücut ağırlığına göre intraperitoneal olarak 1.65 mg/kg dozunda %0.1'lik nikotin enjekte ettik. Kontrol grubundaki 10 sıçana ise aynı süre boyunca serum fizyolojik enjeksiyonu yaptık. On iki haftalık deney süresinin sonunda deney ve kontrol gruplarındaki bütün sıçanların oral ve bilateral olarak çıkarılan submandibüler tükürük bezlerinden alınan doku örneklerine ait 0.5 µm kalınlığındaki kesitler, yapısal değişiklikler açısından elektron mikroskop ile incelendi. Deney grubundan elde edilen doku örneklerinde en belirgin değişiklikler submandibüler tükürük bezlerinde gözlemlendi. Dilin yüzeyini örten çok katlı yassı epitelde ve oral mukozada keratinleşme dikkati çekiyordu.

Anahtar Kelimeler: Nikotin, elektron mikroskopi.

SUMMARY

Electron Microscopic Evaluation of The Effects of Systemic Nicotine Application on The Oral Mucosa, Submandibular Gland, and Tongue of The Rats. Nicotine is a toxic alcoholoid, which is highly consumed by smoking. It was presented in numerous studies that nicotine has negative effects on oral health. In this study doses of 1.65 mg/kg of 0.1% nicotine were administered intraperitoneally to ten rats for a period of 12 weeks. Saline solution was injected to the control group of ten rats for 12 weeks. At the end of the study, 0.5 µm thick cross-sections of tissue samples from the oral mucosa, tongue and bilaterally excised submandibular salivary glands were prepared. The structural differences in both the experiment and control groups were examined by electron microscopy. The most significant differentiations were observed in the submandibular salivary gland. The keratinization in the oral mucosa, and in the epithelium of the tongue were also found of importance.

Key Words: Nicotine, electron microscopy.

GİRİŞ

Sigara içimi ve aşırı miktarda alkol alımının oral kanserler için risk faktörü olduğu bildirilmiştir. Bugüne kadar, sigara içenlerde larenks kanserlerine daha sık rastlandığını gösteren çok sayıda makale yayınlanmıştır (2,3,6).

Nikotin kuvvetli yan etkileri olan bir alkaloid olup, içimi ile tüketilmektedir. Günümüzde yaygın olarak sigara içimi ile tüketilen nikotin ile yapılan epidemiyolojik çalışmalar-

da periodontal doku hastalıklarına, ağız mukozası lezyonlarına ve bu lezyonlarda malign transformasyonlara daha sık rastlandığı tespit edilmiştir (2,6).

Nikotin sigara içimi ile tüketildiğinde, en çok ağız mukozasında ve midede absorpsiyona uğradığı, absorpsiyon miktarının ise nikotin'in pH'sı ile ilgili olduğu saptanmıştır (3,7,8).

Sigara içimi ile vücuda alınan nikotinin tükürük epidermal faktörünü azalttığı ve ya-

nak mukozasında da epidermal büyüme faktörü reseptörlerinin fonksiyonunu bozarak oral dokularda patolojik değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir (7).

Oral mukozada nikotinik lokal iritasyon yaparak, inflamasyon ürünlerine etki ederek epiteliyal proliferasyon ve hiperplazilere neden olduğu, nikotinik vasküler etkisiyle birlikte periodontal doku hastalıkları ve tükürük salgı hızında, tükürük miktarında azalma ve tükürük kalitesinde değişikliklere yol açtığı bildirilmiştir (2,6,8).

Bu çalışmada ağız sağlığına zararlı olduğu bilinen sigara ile tüketilen nikotini Wistar Albino sıçanlara sistemik olarak uyguladık. Deney hayvanlarının oral mukozaları, dil ve submandibüler tükürük bezleri üzerine nikotinik etkilerini elektron mikroskop ile incelemeyi amaçladık.

MATERYAL ve METOD

Araştırmamızı İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Deneyel Tıp Araştırma ve Uygulama Enstitüsü (DETAE), İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında gerçekleştirdik. Araştırmamızda vücut ağırlığı 200±50 gr olan 8 haftalık toplam 20 adet Wistar Albino sıçan kullandık.

Deney hayvanları normal şehir suyu ve İstanbul Yem Sanayii tarafından hazırlanan %21 oranında protein içeren yemlerle beslendiler. Çalışma sırasında deney grubundaki 10 sıçana vücut ağırlığına göre intraperitoneal olarak %0.1'lik 1.65 mg/kg nikotin, günde iki kez ve haftada beş gün olmak üzere 12 hafta süreyle enjekte edildi. Kontrol grubundaki 10 sıçana ise aynı süre boyunca serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı.

Deney sürelerinin sonunda sıçanlar eter anestezisi altındaki sakrifiye edilip, bütün sıçanların oral mukozası ve dilden alınan doku örnekleri ve bilateral çıkarılan submandibü-

ler tükürük bezleri 0.1 M sodyum kaskodilat (Na caccodylate) ile tamponlanmış olan %2.5'lik glutaraldehid çözeltisi ile fikse edildi. Aynı tampon çözeltisi içindeki %1'lik osmium tetroksit ile post fiksasyon yapıldıktan sonra kademeli alkol serileri ve propilen oksit ile rutin dehidratasyon işlemlerinin ardından Epon-812 plastik gömme ortamında bloklanmış örneklerden 0.5 µm. kalınlığında kesitler alındı ve kurşun sitrat-uranil asetat çözeltisinde kontrastlandı. Deney ve kontrol gruplarındaki yapısal değişiklikler Jeol-100 elektron mikroskopunda incelendi.

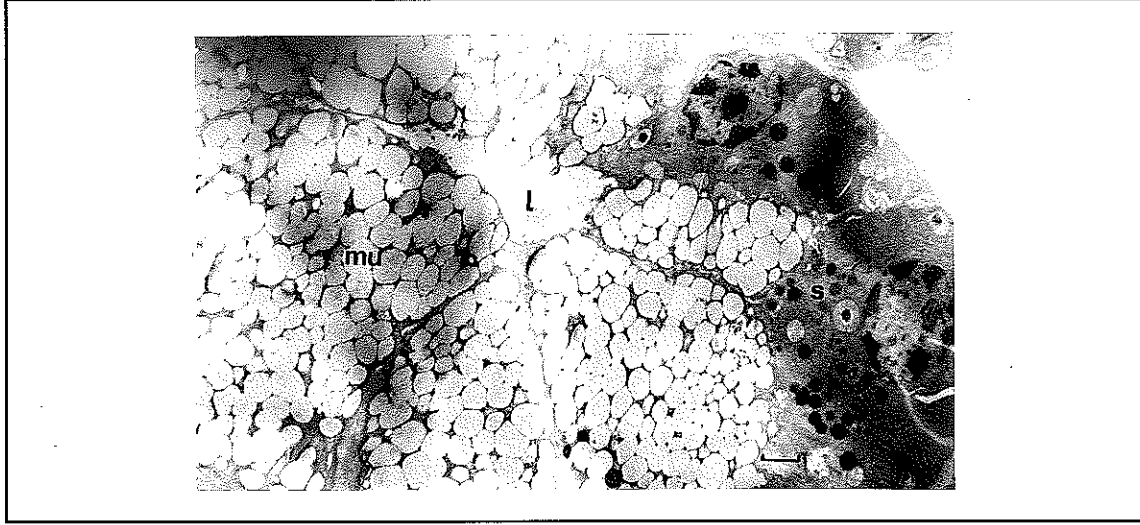
BULGULAR

On iki hafta süreyle intraperitoneal nikotin enjeksiyonu yaptığımız deney grubundan alınan dil, bukkal mukozadan alınan doku örnekleri ve bilateral çıkarılan tükürük bezlerinden elde edilen kesitler elektron mikroskopunda incelendi.

Deney grubundan elde edilen doku örneklerinde en belirgin değişiklikler submandibüler tükürük bezlerinde gözlemlendi. Kontrol grubundaki sıçanların submandibüler tükürük bezi kesitlerinde seröz asinüsler çoğunlukta olup, arada yer yer muköz salgı yapan hücreler görüldü. Seröz hücrelerin polarizasyon ve morfolojisinde herhangi bir anormallik izlenmiyordu. Salgı bileşeni, daha ziyade, yüksek yoğunlukta glikoprotein içeren olgunlaşmış, koyu granüller içeriyordu. Muköz hücrelerinin müsin granülleri lümene yakın bölümde birleşik büyük kitleler oluşturuyordu. Ayrıca Golgi kompleksi üzerinde müsinojen granüllere benzer madde içeren geniş veziküller mevcuttu (Resim 1).

Deney grubundaki sıçanların kesitlerinde ise, asinüslerin büyük bir bölümünde salgı granülleri izlenmiyordu. Granül içeren hücrelerin bulunduğu az sayıda asinüslerin seröz salgı ağırlıklı olduğu görüldü. Salgı granülleri düşük yoğunlukta glikoprotein içeren

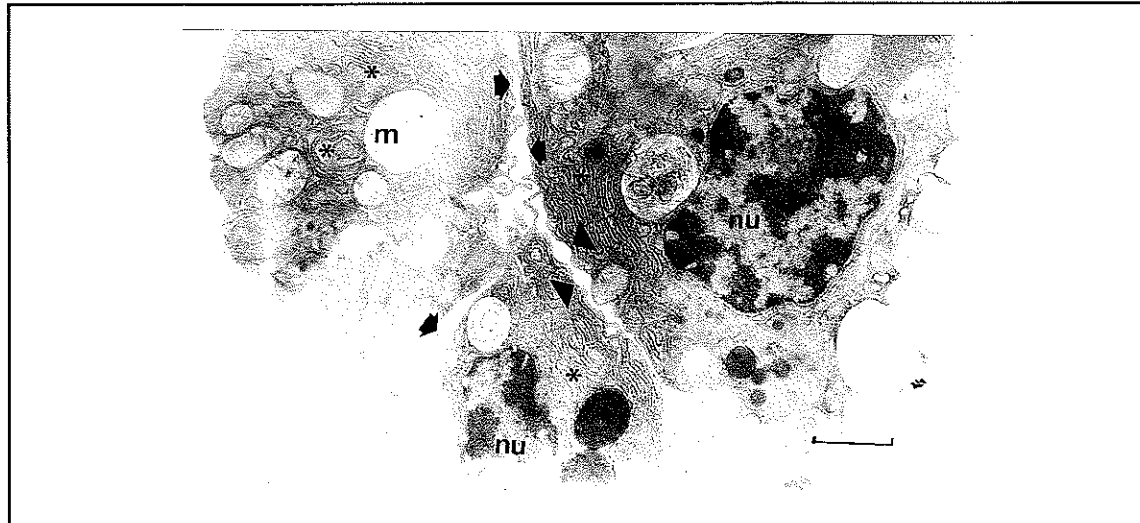
Resim 1. Kontrol grubundaki sıçanlara ait submandibüler tükürük bezinin elektron mikrogramında yüksek yoğunlukta glikoprotein içeren seröz hücreler (s) ve müsin granülleri içeren müköz hüceler (m) izlenmektedir. Hücrelerin asinüs lümenine (l) göre polarizasyon ve morfolojlerinde herhangi bir anormallik görülmemektedir. Çizgi=1µm.



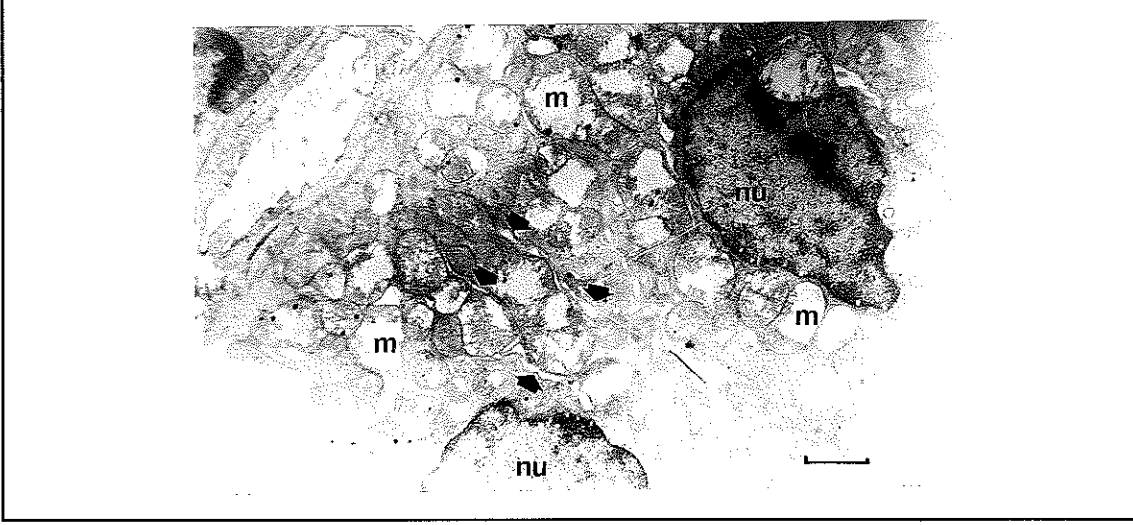
olgunlaşmamış, açık granüller içeriyordu. Hücrelerin endoplazma retikulumunda artış ve yer yer dilatasyon, hücreler arası bağlantı komplekslerinde kısmen açılmalar izlenmekteydi (Resim 2). İntersellüler kanaliküllerin mikrovilluslarında obliterasyon mevcuttu. Salgı hücrelerinin çoğunda mitokondri-lerde krista kaybı gözlenmekteydi (Resim 3). Bazı asinüslerin lümenlerinin kapalı, hücrelerin salgı granülü taşımadığı görüldü. Kontrol grubundaki hayvanların dil epitelin-

de, subepitelyal alanda mast hücreleri mevcuttu (Resim 4). Deney grubunda, dilin yüzeyini örten çok katlı yassı keratinize epiteldeki keratin katmanları ve keratinositlerin bulunduğu tabakanın bazal tabaka kalınlığına oranının artmış olduğu izleniyordu. Keratinositler içinde çok sayıda keratohyalin granülü ve lameller cisimcikler bulunuyordu (Resim 5). Deney grubundaki hayvanlarda yer yer melanositlerin bulunduğu, subepitelyal alanda ise incelenen tüm kesit alanların-

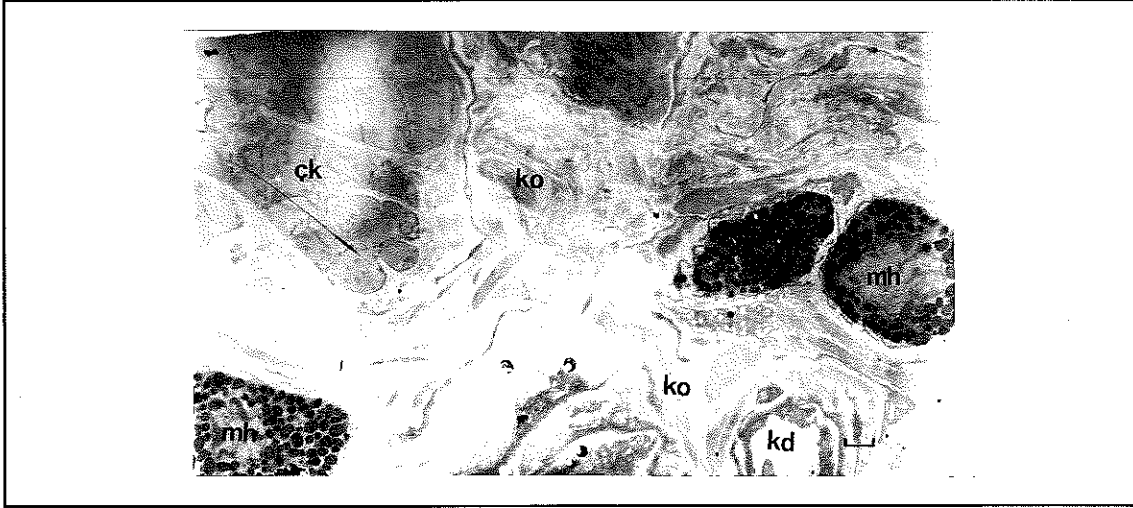
Resim 2. Nikotin verilen sıçanların submandibüler tükürük bezlerinde salgı yapan hücrelerin hücreler arası bağlantı komplekslerinde kısmi açılmalar (ok başı), intersellüler kanaliküllerin mikrovilluslarında silimleri (ok) ve GER bileşenindeki artışı (asteriks) gösteren elektron mikrogram; (nu)= nukleus, (m)= mitokondri. Çizgi=1µm.



Resim 3. Nikotin verilen sıçanların submandibüler tükürük bezlerinde hücrelerin mitokondri kristallerinde silinmeyi (m) gösteren elektron mikrogram. Hücreler arasındaki mikrovillusların ortadan kalktığı (ok) görülüyor; (nu)= nükleus. Çizgi= 1µm.



Resim 4. Kontrol grubundaki hayvanların dil epitelinde, subepitelyal alanda mast hücrelerini (mh) ve kolajen lifleri (ko) ve çizgili kas demetlerini (çk) gösteren elektron mikroskop fotoğrafı. Çizgi= 1µm.



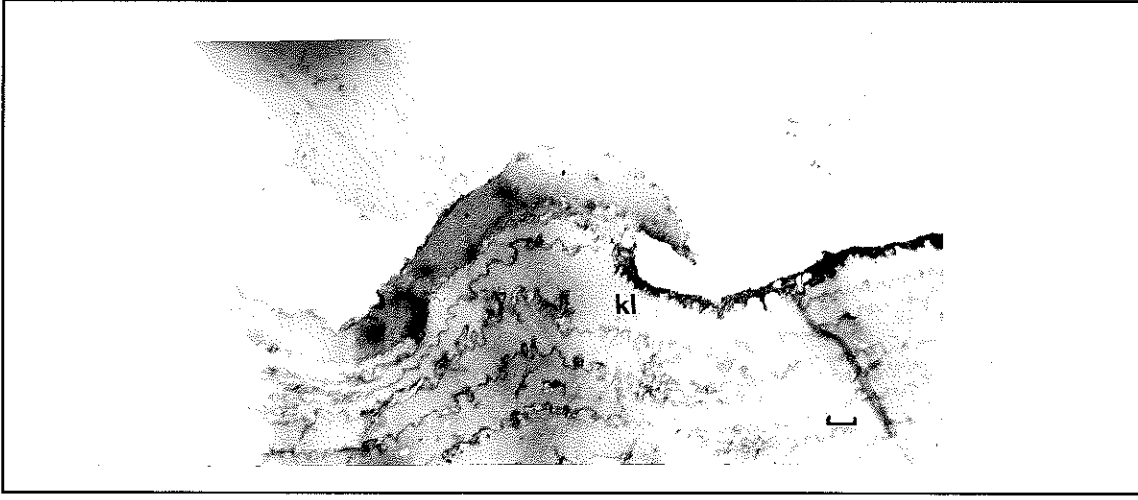
da mast hücrelerinin görülmemesi dikkati çekiyordu. Çizgili kast liflerinin bulunduğu bölgede kan damarlarının endotelinde yer yer mikrovillus transformasyonu izleniyordu.

Oral mukozada ise deney grubunda keratinleşme dikkati çekiyordu (Resim 6). Ancak kontrol grubunda da keratin ve keratohyalin granülleri mevcuttu. Bu durumun beslenme alışkanlığı ile ilgili olduğunu düşünmekteyiz.

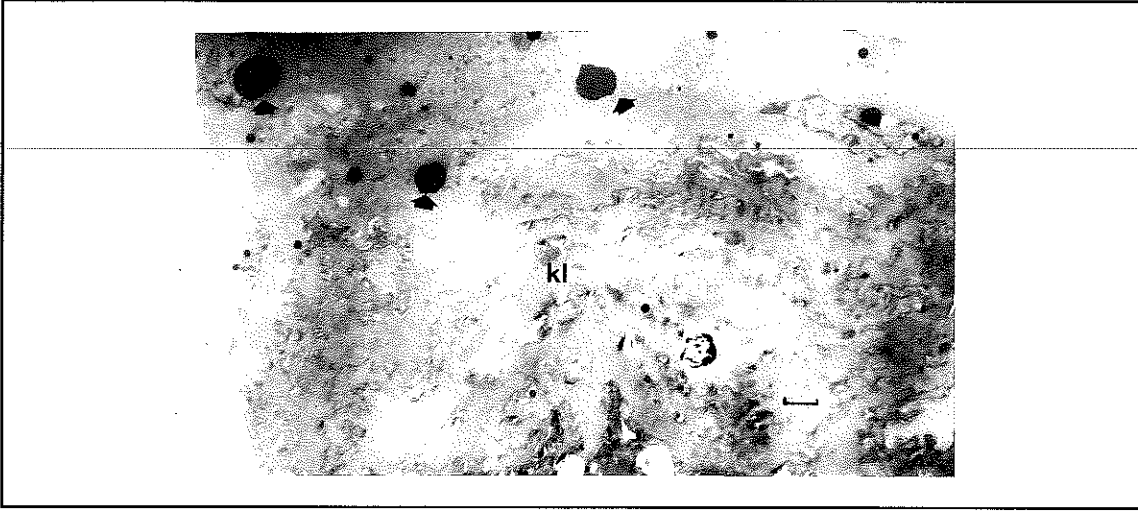
TARTIŞMA

Toksik etkili alkaloidlerden biri olan nikotin günümüzde yaygın olarak sigara içimi ile tüketilmektedir. Yapılan birçok çalışmada nikotin ağız sağlığını olumsuz yönde etkilediğini ve oral kanserler için risk faktörü olduğu bildirilmiştir (2,3,6). İntraperitoneal olarak nikotin enjeksiyonu yaptığımız deney hayvanlarının oral dokularındaki yapısal değişiklikleri elektron mikroskop ile incelediğimiz çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular-

Resim 5. Deney grubundaki dilin yüzeyini örten çok katlı yassı keratinleşmiş epiteldeki keratin katmanları (kl) gösteren elektron mikroskop fotoğrafı. Çizgi= 1µm.



Resim 6. Keratositler içinde çok sayıda keratohyalin granülü ve lameller cisimcikler (ok) gösteren elektron mikroskop fotoğrafı. Çizgi= 1µm



da, nikotinin daha çok tükürük bezlerini etkilediğini gözlemledik.

Wu-Wang ve arkadaşları, nikotinin mısır yağı içindeki çözeltisini sıçanların yanak mukozasına topikal olarak uyguladıkları deneysel çalışmalarında, sıçanların submandibüler tükürük bezlerindeki prostaglandin sentezini araştırmışlardır. Bu araştırmacılar, nikotinin prostaglandin sentezini azaltarak, tükürük akış hızını etkilediğini ve müsin sekresyonunda ve tükürük elektrolitlerinin konsantrasyonunda değişikliklere neden olduğunu bildirmişlerdir ⁽⁸⁾. Biz de çalışmamızda , tü-

kürük bezi asinüslerinin büyük bir bölümünde salgı granüllerine rastlamadık. Granül içeren hücrelerin bulunduğu asinüslerin ise düşük yoğunlukta glikoprotein içeren olgunlaşmamış, açık granüller içeren seröz salgı ağırlıklı olduğunu tespit ettik.

Bugüne değin yapılan birçok çalışmada nikotinin, tükürük bezlerinde, morfolojik ve fonksiyonel değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir ^(3,7).

Ringdahl ve arkadaşları, topikal nikotin uyguladıkları sıçanların oral mukozalarında epitelial parametreleri inceledikleri çalışmala-

rında, epitel proliferasyonunda ve histolojik parametrelerde bir değişiklik bulamamışlardır (4). Biz de çalışmamızda deney grubunda keratinleşmenin daha yoğun olduğunu tespit ettik. Kontrol grubunda da keratinleşmenin varlığının beslenme alışkanlığı ile ilgili olduğunu düşünmekteyiz.

Johnson ve arkadaşları, vazokonstriktif etkisinden ötürü periodontal dokularda zararlı etkisi olduğu bilinen nikotinin, %0.1'lik çözeltisinin sistemik ve topikal uygulamada köpeklerin dişeti kan dolaşımındaki etkisini araştırdıkları çalışmada, sistemik nikotin uygulamasının, nikotinin plazma konsantrasyonunu üzerinde anlamlı bir şekilde etkili olduğunu belirtmişler ve sistemik nikotin uygulaması ile topikal uygulama arasında anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir (5). Araştırmacılara paralel olarak biz de çalışmamızda %0.1'lik nikotini 1.65 mg/kg dozunda sistemik olarak uyguladık.

Chen ve arkadaşları, sıçanların yanak mukozalarına haftada üç kez nikotin sürerek, yanak mukozasındaki değişiklikleri, histolojik olarak inceledikleri çalışmalarında, mukozada hiperkeratoz, hiperplazi ve displazi gibi değişiklikler tespit etmişlerdir. Araştırmacılar sonuç olarak nikotinin kanserojen etkisi olabileceğini bildirmişlerdir (1). Biz, sistemik nikotin uyguladığımız sıçanların yanak mukozalarında keratin, keratohyalin granülleri ve keratinositlerin yoğun olduğunu tespit ettik.

Maier ve arkadaşları, nikotinin sıçanların parotis bezi asiner hücrelerinde artışa, intraglandüler sinir hücrelerinin Golgi kompleksinde genişlemeye, endoplazma retikulumu granüllerinde artışa ve ödematöz değişikliklere yol açtığını tespit etmişler, bu morfolojik değişikliklerin, nikotinin beta-adrenerjik reseptörlere ve böbrek üstü bezlerinde salgılanan katekolaminlere etkisine bağlı olarak geliştiğini saptamışlardır (3). Bizim çalışmamızda da, çoğu asinüsün lümeni kapalı, hücreleri salgı granülsüz olarak izlendi. Salgı

yapan hücrelerin hücreler arası bağlantı komplekslerinde yer yer açılmalar, interselüler kanaliküllerin mikrovilluslarında silinmeler, asinüs lümeninde kapanmalar ve granüler endoplazma retikulumunda artış olduğunu gözledik. Buna ek olarak mitokondri kristallarında hasar ve endoplazma retikulumu sisternalarında dilatasyon mevcuttu. Söz konusu bulgular çerçevesinde, morfolojik olarak saptanan salgı azalmasının asinüsün yapısal düzeyde sergilediği dejeneratif değişikliklerin bir sonucu olabileceği düşünülebilir.

SONUÇ

Nikotin uygulanan deney hayvanlarının ağız mukozası, tükürük ve dilde ortaya çıkan ince yapı düzeyindeki değişiklikleri incelediğimiz bu çalışmada tükürük bezlerinde saptanan dejeneratif ve fonksiyonel değişikliklerin, sistemik nikotin uygulamasının olumsuz etkisini yansıttığı sonucuna vardık.

KAYNAKLAR

1. Chen YP, Johnson GK, Squier CA: Effect of nicotine and tobacco-specific nitrosamines on hamster cheek pouch and gastric mucosa. *J Oral Pathol Med* 23:4 (1994).
2. Llewellyn J, Mitchell R: Smoking, alcohol and cancer in south East Scotland; a 10 year experience. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 32:146 (1994).
3. Maier H, Mail G, Bornia: Sialadenitis of the parotid gland after chronic nicotine use. *Laryngorhinootologie* 70:1 (1991).
4. Ringdahl BE, Johnson GK, Ali RB, Organ CC: Effect of nicotine on arachidonic metabolites and epithelial parameters in rat oral mucosa. *J Oral Pathol Med* 26:40 (1997).
5. Johnson GK, Todd GL, Johnson WT, Fung YK, Dubois LM: Effects of topical and systemic nicotine on gingival blood flow in dogs. *J Dent Res* 70:906 (1991).
6. Joschko MA, Drcosti IE, Tulsı RS: The teratogenic effects of nicotine in vitro in rats: A light and electron microscope study. *Neurotoxicology and teratology* 13:307 (1991).
7. Wang SL, Millies M, Wu-Wang CY, Mardinossian G: Effect of cigarette smoking on salivary epidermal growth factor (EGF) and EGF receptor in human buccal mucosa. *Clin Pharmacokinetics* 12:1 (1987).
8. Wu-Wang CY, Wany SL, Srinham M, Correa A, Slamiyany A, SLamiyany BL: Effects of Benzo (a) Pyrene and nicotine on prostaglandin synthesis in buccal pouch and submandibular glands of the Syrian hamster. *Arch Oral Biol* 38:1045 (1993).