

SUBMANDİBULER BEZ EKSTRESİNİN YARA İYİLEŞMESİNE OLAN

E T K İ S İ

Deniz ERBAŞ* Tülin OYGÜR** Afitap ANIL***

GİRİŞ

Submandibuler bez üzerinde uzun yıllardan beri çalışılmaktadır. İlk kez Werle ve Doden (1) Kallikrein'in bu bezde bol miktarlarda bulunduğunu göstermişlerdir. İleriki yıllarda bu bez ile ilgili çalışmalar hızlandırılmış NGF (Nerve growth factor) (2), EGF (Epidermal growth factor) (3), ve diğer pekçok polipeptidin varlığı gösterilmiştir. Bu polipeptidler ve grupları Tablo 1'de gösterilmiştir. Biyolojik olarak aktif bu maddeler içinde özellikle EGF'nin yara iyileşmesinde hızlandırıcı etkileri vardır. EGF mide ülser yaralarının (4), göz yaralarının (5), deri yaralarının (6) iyileşmesini hızlandırıcı etkidedir. Ayrıca mideden HCL salınımını inhibe ederek ülser yaralarının iyileşmesinde etki göstermektedir (7). Erkek fare submandibular bezinin en zengin EGF kaynağı olduğu bildirilmiştir (1). Bu bez içinde «Yara kontrakte edici» faktör yada faktörlerin varlığından şüphelenilmiş ancak bu madde izole edilememiştir. Etki mekanizmasının ortaya çıkarılmasına yönelik bir çalışma da yapılmamıştır (1).

Bu bilgilerden hareketle bizde submandibuler tükrük bezi ekstresinin ciltteki yara iyileşmesine olan etkilerini araştırmayı amaçladık.

(*) G.Ü. Tıp Fakültesi Fiziyoji Anabilim Dalı.

(**) C.Ü. Dişhekimliği Fakültesi Patoloji Bilim Dalı.

(***) G.Ü. Tıp Fakültesi Morfoloji Anabilim Dalı.

SUBMANDİBULER BEZ EKSTRESİ - YARA İYİLEŞMESİ

TABLO 1 : Submandibuler bez içindeki polipeptidler ve grupları (1).

BÜYÜME ve DEĞİŞİM

Nerve growth factor
Epidermal growth factor
Mesodermal growth factor
Neural tube growth factor
Epithelial growth factor
Endothelial growth - stimulating factor.
Wound contraction factor

HOMEOSTASİS

Granulocytosis-inducing factor
Lymphoid factor
Bone marrow colony stimulating factor
Erythropoietin
Anticomplementary factor
Kallikreins
Renin
Lethal factor
Tonin
Angiotensin 11
Glucagon
Nonsuppressible insulin like activity
Somatostatin
Gastrin

DÜZENLEYİCİ

Esteropeptidase

SİNDİRİM

Acid phosphatase
Ribonuclease
Amylase

SUBMANDİBULER BEZ EKSTRESİ - YARA İYİLEŞMESİ

MATERYAL VE METOD

18 adet erkek farenin submandibuler bezleri çıkarılarak üzerine gram doku başına 9 ml soğuk distile su ilave edildi. 3 dk. süre ije buz soğukluğu ortamında VVarring tipi blendorda homojenize edildi. Soğutmalı santrifüjde 16.000 g'de santrifüje edildi. Üst faz alınarak derin dondurucuda saklandı (3).

19 adet erkek fare alınarak 3 gruba ayrıldı. 11. gruba 6 adet fare kondu ve sırt bölgelerine «Martin Elektrom 30» elektrokoteri ile insizyon yapıldı. Bu gruptaki farelere başka hiçbir işlem uygulanmadı. Kontrol olarak alındı.

2. gruba 6 adet fare kondu. Aynı yöntemler ile ciltlerine insizyon yapıldıktan sonra hergün 0.005 ml/1.5 g ağırlığa olacak şekilde hazırlanmış olduğumuz ekstreten intraperitoneal enjekte edildi.

3. gruptaki fareler 7 adetti. Aynı şekilde insizyonları yapıldı. Oluşan yaranın üzerine hergün 0.1 ml hazırlanmış olduğumuz ekstreten sürüldü. *

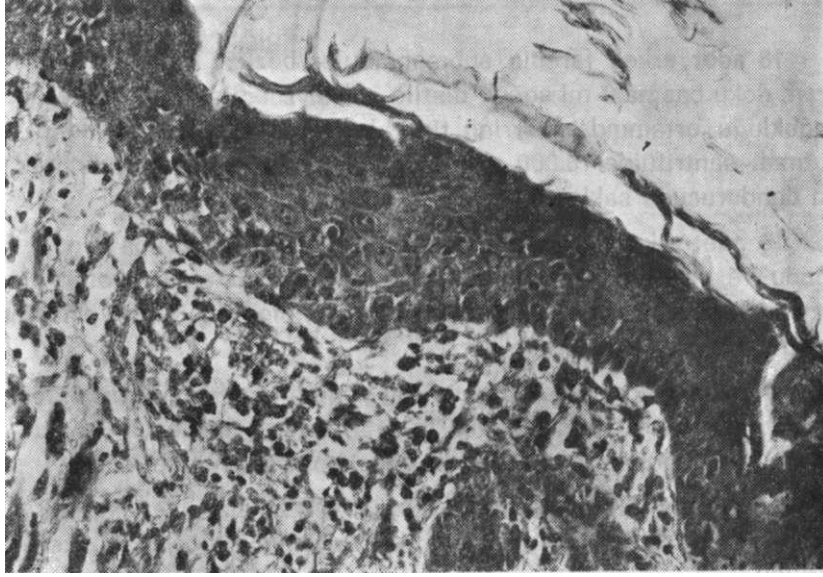
Yaraları oluşturduktan 7 gün sonra tüm fareler dekapite edildiler. Yara bölgelerinden alınan materyallere rutin laboratuvar işlemleri uygulanarak 6/M kalınlığında kesitler alındı. Hematoksilin eozin ile boyanan kesitler ışık mikroskopunda değerlendirildi.

BULGULAR

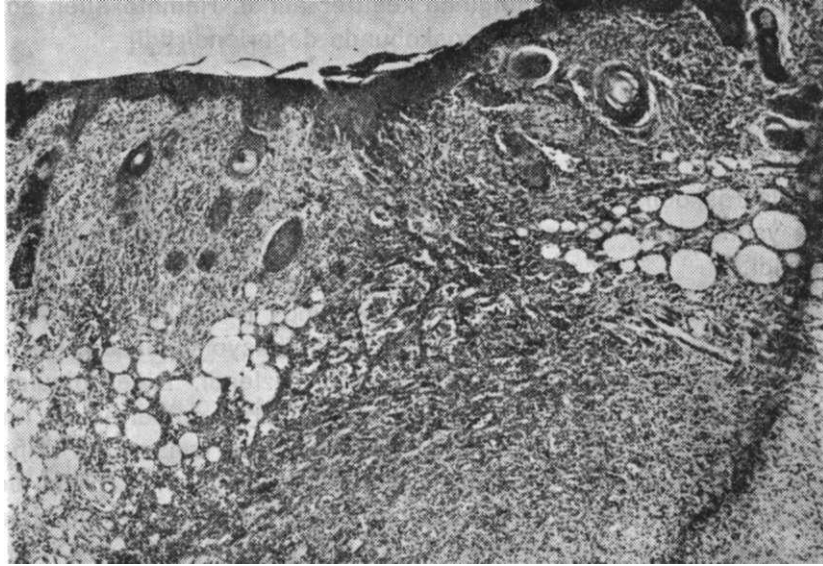
Makroskopik bulgular : Enjeksiyon ve sürülerek (topikal) uygulama yapılan yara iyileşmesinin kontrollere oranla daha hızlı olduğu gözlemlendi.

Mikroskopik bulgular : Kontrol grubunda 1 örnekte epidermiste ülserasyon ve şiddetli nötrofil lökosit akümülyasyonu, daha altta çok yoğun kronik iltihabi hücre infiltrasyonu gözlemlendi. Diğer olgularda epidermizasyonun tamamlandığı, bazı olgularda epidermiste hafif akantoz olduğu Şekil 1, altta subepidermiste kanama ve iltihabi hücre infiltrasyonunun bulunduğu; bu hücrelerin olgun yağ hücreleri arasına kadar infiltre oldukları Şekil 2, damarlanmanın arttığı, damarların hiperemik olduğu ve yer yer ödem izlendi.

Enjeksiyon grubunda epidermiste hafif akantoz gözlemlendi. Bazı olgularda dermişteki granülyasyon dokusunun fibrositlerden ve kolla-



ŞEKİL 1 : Epidermiste hafif akantoz, keratohyalin granüllerinde belirginleşme.

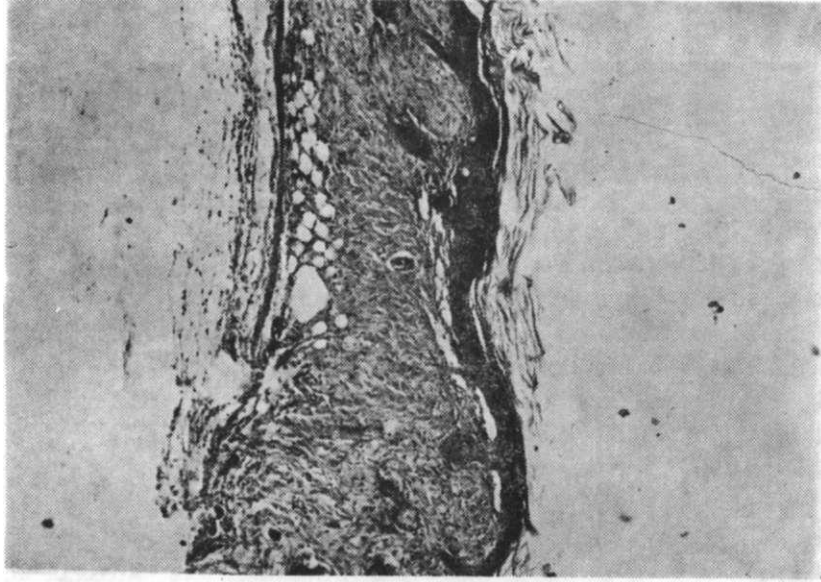


ŞEKİL 2 : Subepidermisten başlayan ve dermisen alt tabakalarına uzanan yoğun iltihabi hücre infiltrasyonu.

genden zengin olduğu ve iltihabi hücrelerin perivaskuler olarak dağıldıkları gözlemlendi, Şekil 3. Birkaç olguda granülasyon dokusunun kollagenden çok fibroblast içerdiği izlendi, Şekil 4.

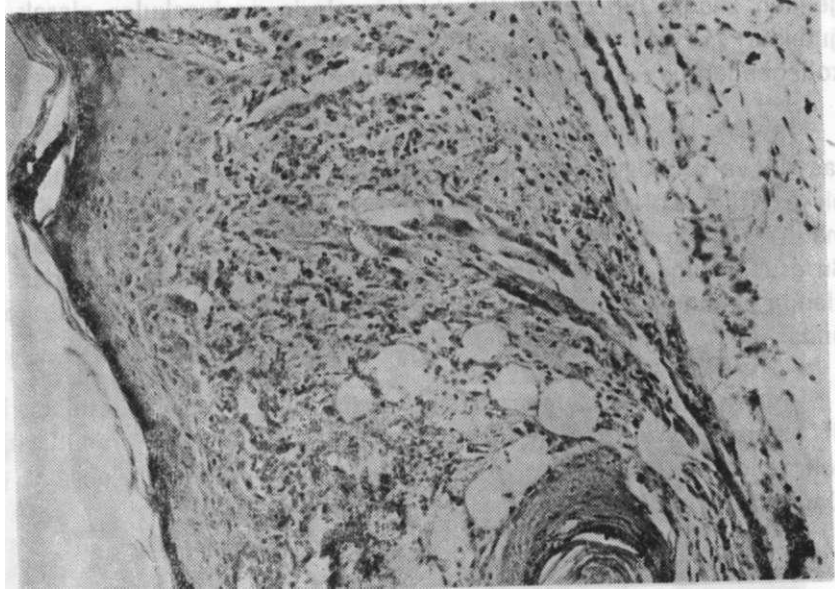
Topikal uygulama yapılan grupta bir olguda epidermiste üiserasyon ve altında çok yoğun kronik iltihabi hücre infiltrasyonu izlenirken, diğer olgulardan birinde hemen hiç iltihabi hücreye rastlanmadı. Bölgenin tamamen fibröz doku ile dolduğu dikkati çekti, Şekil 5. Bu grubun diğer örneklerinde iltihabi hücre infiltrasyonunun dar bir alanda kaldığı ve periferindeki kollagenden zengin bağ dokusu tarafından adeta sıkıştırılmış bir durumda olduğu izlendi, Şekil 6.

Tüm gruplarda izlenen ortak bulgular şunlardı : Epidermiste hafif akantoz, bazı olgularda hiperkeratoz, keratohyalin granüllerinde belirginleşme (stratum granulosum'un belirginleşmesi), normal görünümde kıl follikülleri ve yağ bezleri.

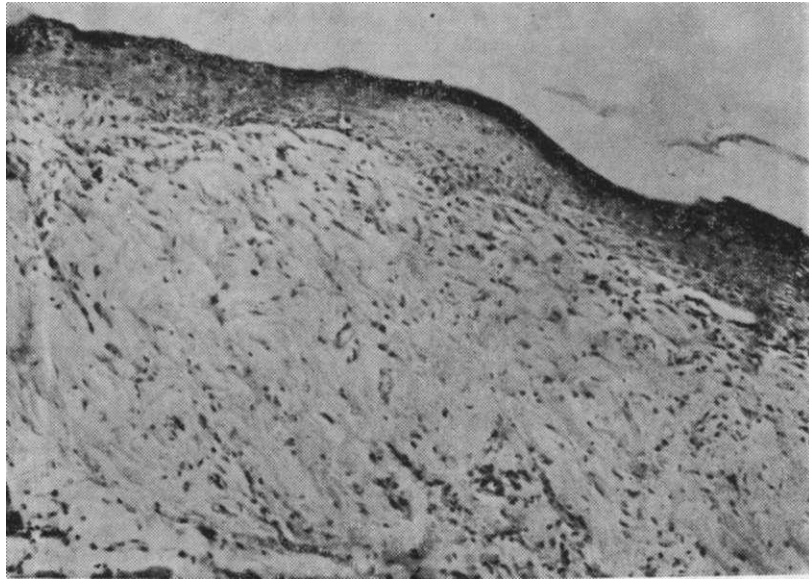


ŞEKİL 3 : Kollagenden zengin bağ dokusu.

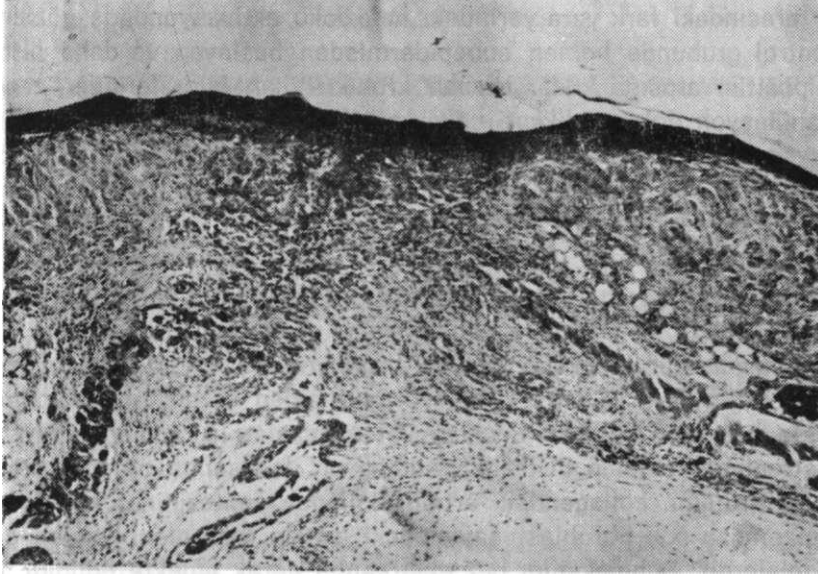
SUBMANDİBULER BEZ EKSTRESİ - YARA İYİLEŞMESİ



ŞEKİL 4 : Fibroblastlardan zengin granüiasyon dokusu.



ŞEKİL 5 : Fibröz doku.



ŞEKİL 6 : Periferinde fibröz dokunun yer aldığı dar bir granülasyon dokusu.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada ciltteki yaraya topikal uygulanan ve intraperitoneal enjekte edilen submaksiller bez (submandibuler) ekstresinin yara yerinde bağ doku elemanlarının artışına yol açtığı gözlemlendi. Submaksiller bezde saptanan ve yaygın şekilde araştırılan biyolojik yönden aktif maddelerden biri EGF'dir (1). Submaksiller bez ekstresinde mevcut olan bu polipeptidin yara iyileşmesinde hızlandırıcı rol oynadığı bildirilmiştir (6). Bu etkisi güçlü bir mitojen oluşuna bağlı olarak epidermal keratinizasyonun hızlandırılması ve epidermin tüm katlarında artış oluşturması şeklinde gözlenmiştir (8). Yanısıra insan fibroblastlarında EGF için yaygın reseptörlerin bulunduğu gösterilmiştir (9). Bulgularımızda 3 gruptaki epitelizasyonun önemli farklılıkta olmadığı, stratum granulozumdaki belirginleşmenin her 3 grupta da yer aldığı dikkati çekti. Epidermisdeki hiperplazinin gruplar arasında farklı olmayıp altındaki (subepidermal) iltihap hücresi yoğunluklarına bağlı olarak değiştiği, bu irritasyonun şiddeti arttıkça epidermin kalınlaştığı ve dermise doğru proliferasyon olduğu görüldü. Buna göre bağ doku artışı dikkati çekti. Topikal uygulama grubunda üstteki epidermiste belirgin bir proliferasyon saptanmadı. Yara iyileşmesinde grup-

SUBMANDİBULER BEZ EKSTRESİ - YARA İYİLEŞMESİ

lar arasındaki fark yara yerindeki bağ doku aktivasyonunda gözlemlendi. Kontrol grubunda hemen subepidermisden başlayan ve daha alttaki adipositler arasına kadar uzanan kronik iltihap hücrelerinden zengin granülasyon dokusu dikkati çekerken, her iki deney grubunda granülasyon dokusu alanının belirgin şekilde daraldığı ve fibroblastlardan zenginleştiği, özellikle submaksiller bez ekstresinin topikal uygulandığı olgulardan birinde insizyon yerinin tamamen kollajenden zengin bağ doku ile dolmuş olduğu gözlemlendi. Yara iyileşmesinin ikinci fazı yaranın beşinci gününde başlar ve kollajenin yapıldığı dönemdir (10). Bu faz iyileşmenin tamamlandığı güne kadar devam eder. Çalışmamızda yaranın yedinci gününde saptadığımız kollajenden zengin doku (Scatris) bu fazın normalden erken tamamlandığını göstermektedir. Nitekim Buckley ve arkadaşları (6) submaksiller bez ekstresinde yer alan EGF'nin granülasyon dokusunun organizasyonunu arttırdığını, kollajendeki artışın kollagen sentezinin spesifik uyarılmasından çok fibroblast sayısındaki artışla ilgili olabileceğini göstermişlerdir. Submaksiller bez ekstresinin gerek enjekte edildiği, gerekse uygulandığı iki grupta da gözlemlediğimiz fibroblast artışı ekstrede yer alan EGF'nin mitojenik indüksiyonuna (1) ve kollagen yapımı ise fibroblastlarda EGF için yer alan reseptörlere bu polipeptidin bağlanması sonucu fibroblastların kollagen sentezlemesinin stimülasyonuna (9) bağlı olabilir. Ayrıca bezde varlığı gösterilmiş olan «yara kontrakte edici faktör»ün de deney gruplarında yara iyileşmesini hızlandırdığını düşünmekteyiz.

Konu ile ilgili daha açık sonuçlara gitmek için denek sayısının artırıldığı, yanısıra biyokimyasal ve histokimyasal yöntemlere yer verildiği çalışmalara gereksinim vardır.

Ö Z E T

Erkek farelerde oluşturulan cilt yaralarının iyileşmesinde SMBE' (Submandibular bez ekstresi)'nin etkisine bakılan bu çalışmada, epitelizasyonun gruplar arasında farklılık göstermediği, ancak SMBE'nin intraperitoneal enjekte edildiği ve yara yerine topikal uygulandığı grupların yaralarının kontrol grubuna göre daha hızlı iyileşme gösterdiği, fibroblastların artmış olduğu, kollagen içeriğinin de arttığı gözlemlendi. Bu iyileşme SMBE'de bulunan EGF (Epidermal growth factor) ve diğer faktörlere bağlı olabilir.

SUMMARY

EFFECT OF SUBMANDIBULAR GLAND EXTRACT ON WOUND HEALING

Effect of SMGE (Submandibular gland extract) on wound healing has been detected in this study. Epithelization was not different between the groups, but wound healing in the groups where SMGE was applied topically and injected intraperitoneally was faster than the controls. Also, the amount of fibroblasts and collagen were found to be increased in the test groups. The results may be due to EGF (Epidermal growth factor) and other factors found in SMGE.

KAYNAKLAR

- 1 — Barka, T. : Biologically active polipeptides in submandibular gland. J. Histochem Cytochem., 28 (8) : 836-59, 1980.
- 2 — Cohen, S., Levi-Montalcini, R.A. : A Nerve growth stimulating factor isolated from snake venom. Proc. Natl. Acad. Sci., 42 : 571, 1956.
- 3 — Cohen, S. : Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. J. Biol. Chem., 237 : 1555, 1962.
- 4 — Sakamoto, T., Swierczek, J.S., Ogden, W.D., Thompson, J.C. : Cytoprotective effect of pentagastrin and epidermal growth factor on stress ulcer formation. Ann. Surg., 201 (3) : 290-5, 1985.
- 5 — McAuslan, B.R., Bender, V., Boss, B.A. : New functions of epidermal growth factor: Stimulation of capillary cell migration and matrix dependent proliferation. Celi Biol. Int. Reports, 9 (2) : 175-82, 1985.
- 6 — Buckley, A., Davidson, J.M., Kamerath, C.D., et. al. : Sustained release of epidermal growth factor accelerates wound repair. Proc. Natl. Acad. Sci., 82 : 7340-44, 1985.
- 7 — Koffman, C.G., Elder, J.B., Ganguli, P.C. : The effect of urogastrone on gastric secretion and serum gastrin concentration in patients with duodenal ulceration. Gut., 23 : 951-56, 1982.
- 8 — Cohen, S., Elliot, G.A. : The stimulation of epidermal keratinization by a protein isolated from the submaxillary gland of the mouse. J. Invest. Dermatol., 40 : 1, 1963.
- 9 — Hollenberg, M.D., Gregory, H. : Human urogastrone and mouse epidermal growth factor share a common receptor site in cultured human fibroblasts. Life Sci., 20 : 267, 1977.
- 10 — Dunphy, E., Udupa, K. N. : Chemical and histochemical sequences in the normal healing of wound. N. Eng. J. Med., 253: 847-51, 1955.