

**AFYONKARAHİSAR KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÖSTROJEN HORMONUNUN**  
**OVARIEKTOMİZE RATLARIN İNCE BAĞIRSAKLARINDA**  
**LEPTİN RESEPTÖRÜ ÜZERİNE ETKİSİ**

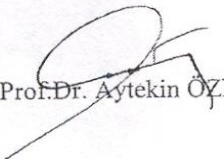
**Özlem ÖZDEN**


**VETERİNER HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİMDALI**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
**DANIŞMAN**  
**Yrd. Doç. Dr. Korhan ALTUNTAŞ**


**2008 - AFYONKARAHİSAR**

KABUL VE ONAY

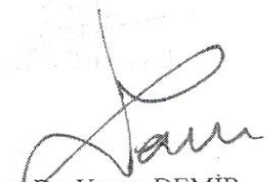
Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı  
Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki juri tarafından  
**Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.  
Tez Savunma Tarihi: 03.01.2008

  
Prof. Dr. Aytekin ÖZER

  
Doç. Dr. Berrin ZİK

  
Yrd. Doç. Dr. Korhan ALTUNBAŞ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Özlem ÖZDEN'in "Östrojen Hormonunun Ovariectomize Ratların İnce Bağırsaklarında Leptin Reseptörü Üzerine Etkisi" başlıklı tezi 03.01.2008 günü saat 13.00'da Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

  
Doç. Dr. Yavuz DEMİR  
Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Ob geninin ürettiği yağ doku kaynaklı bir molekül olan leptin, 1994 yılında keşfedilmesinden bu yana üzerinde en fazla araştırma yapılan hormonlardan biri olmuştur. Yağ dokusu ve merkezi sinir sistemi arasındaki sinyalizasyonu sağlaması, gıda alımı ve enerji tüketimindeki rolü nedeniyle büyük ilgi uyandırmıştır.

Başlangıçta bir tokluk faktörü olarak tanımlanan leptinin vücuttaki bir çok organ ve dokuda reseptörlerinin gösterilmesiyle, sadece gıda alımı ve enerji tüketiminin düzenlenmesinde görev almadığı, büyüme, gelişme, üreme, immün, sempatik, endokrin ve gastrointestinal sistem gibi vücuttaki birçok sistemin fonksiyonlarının düzenlenmesinde etkili olduğu belirlenmiştir. Bu sebeple; farklı doku ve organlarda leptinin fizyolojik ve patolojik rolleri öğrenilmeye çalışılmaktadır.

Tezimin hazırlanması süresince danışmanlığımı yapan, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda yardım ve desteğini yanımda hissettiğim değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Korhan ALTUNBAŞ'a; bir yıl boyunca çalışma imkanı bulduğum bilgi ve tecrübeleriyle gelişimime büyük katkısı olan değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Artay YAĞCI'ya; tezimin istatistiksel analiz çalışmaları sırasında yardımları ile destek veren Yrd. Doç. Dr. Aziz BÜLBÜL'e; araştırmamın her aşamasında birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli arkadaşım Mustafa YILDIZ'a, her konuda yanımda olan ve destekleyen Himmet AKKAYA'ya ve bu günlere ulaşmamda her zaman manevi desteklerini hissettiğim sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Özlem ÖZDEN

## İÇİNDEKİLER

	<b><u>Sayfa No</u></b>
Kabul ve onay	II
Önsöz	III
İçindekiler	IV
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	VII
Şekiller	IX
Tablolar	XII
<b>ÖZET</b>	<b>XIII</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>XIV</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. İnce Bağırsaklar	1
1.1.1. İnce Bağırsakların Anatomisi	1
1.1.2. İnce Bağırsakların Histolojisi	2
1.1.2.1. Tunika Mukoza	2
1.1.2.2. Tunika Muskularis	9
1.1.2.3. Tunika Seroza	9
1.1.3. İnce Bağırsakların Histofizyolojisi	9
1.1.3.1. Motilite	9
1.1.3.2. Sindirim ve Emilim	10
1.1.3.3. Savunma Sistemi	14
1.2. Leptin	15
1.2.1. Leptinin Yapısal Özellikleri	15
1.2.2. Leptin Salınımı	15
1.2.3. Leptin Reseptörleri	16
1.2.4. Leptin, Leptin Reseptörleri ve Mide Bağırsak Kanalı	17
1.2.5. Leptin ve Obezite	18
1.2.6. Leptin, Leptin Reseptör ve Östrojen	19
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>22</b>
2.1. Gereç	22
2.1.1. Hayvan	22
2.1.2. Cihazlar	23

2.1.3. Tespit ve Doku Takibinde Kullanılan Kimyasallar	24
2.1.3.1. Tespit ve Doku Takibinde Kullanılan Solüsyonların Hazırlanışı	24
2.1.4. İmmunohistokimyasal Yöntemde Kullanılan Gereçler	25
2.1.4.1. İmmunohistokimyasal Yöntemde Kullanılan Solüsyonların Hazırlanışı	25
2.2. Yöntem	26
2.2.1. Dokuların Alınması	26
2.2.2. Tespit, Doku Takibi ve Kesit Alma	26
2.2.3. İmmunohistokimyasal Boyama	27
2.3. Değerlendirme	30
2.4. İstatistiksel Analiz	30
<b>3. BULGULAR</b>	
3.1. Duodenum Dokusunda Leptin Reseptör İmmunoreaksiyonu	31
3.1.1. Duodenum Dokusunda 18. Saate Leptin Reseptörlerinin İmmunohistokimyasal Skorlama Sonuçları	31
3.1.2. Duodenum Dokusunda 90. Saate Leptin Reseptörlerinin İmmunohistokimyasal Skorlama Sonuçları	32
3.1.3. Duodenum Dokusunda 162. Saate Leptin Reseptörlerinin İmmunohistokimyasal Skorlama Sonuçları	32
3.2. Jejunum Dokusunda Leptin Reseptör İmmunoreaksiyonu	33
3.2.1. Jejunum Dokusunda 18. Saate Leptin Reseptörlerinin İmmunohistokimyasal Skorlama Sonuçları	33
3.2.2. Jejunum Dokusunda 90. Saate Leptin Reseptörlerinin İmmunohistokimyasal Skorlama Sonuçları	34
3.2.3. Jejunum Dokusunda 162. Saate Leptin Reseptörlerinin İmmunohistokimyasal Skorlama Sonuçları	35
3.3. İleum Dokusunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	35
3.3.1. İleum Dokusunda 18. Saate Leptin Reseptörlerinin İmmunohistokimyasal Skorlama Sonuçları	35
3.3.2. İleum Dokusunda 90. Saate Leptin Reseptörlerinin İmmunohistokimyasal Skorlama Sonuçları	36
3.3.3. İleum Dokusunda 162. Saate Leptin Reseptörlerinin İmmunohistokimyasal Skorlama Sonuçları	37

<b>4.TARTIŞMA</b>	<b>56</b>
<b>5.SONUÇ</b>	<b>60</b>
<b>6.KAYNAKLAR</b>	<b>61</b>

**SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ**

<b>%:</b>	Yüzde
<b>µg:</b>	Mikrogram
<b>AN:</b>	Arkuat Nükleus
<b>APUD:</b>	Amine Precursor Uptake and Dekarboxylation
<b>Ca:</b>	Kalsiyum
<b>Cl:</b>	Klor
<b>Cm:</b>	Santimetre
<b>DAB:</b>	Substrat – kromojen (Diaminobenzidin)
<b>Db gen:</b>	Diabet gen
<b>Dk:</b>	Dakika
<b>DMN:</b>	Dorsomedial Nükleus
<b>DNES:</b>	Diffuz Nöroendokrin Sistem
<b>ERβ:</b>	Östrojen reseptör beta
<b>FAE:</b>	Follicle-Associated Epithelium
<b>Fe:</b>	Demir
<b>Gr:</b>	Gram
<b>H:</b>	Hidrojen
<b>HCO<sub>3</sub>:</b>	Karbonik asit
<b>HRP:</b>	Horse Raddish Peroksidaz
<b>HRT:</b>	Hormone replacement Treat
<b>IU:</b>	İntenational Unite
<b>İ.m:</b>	İntra muskuler
<b>İ.p:</b>	İntra peritonal
<b>JAK:</b>	Janus Kinazlar
<b>K162:</b>	Kontrol 162. saat
<b>K18:</b>	Kontrol 18. saat
<b>K90:</b>	Kontrol 90. saat
<b>Kb:</b>	Kilobayt
<b>KDa:</b>	Kilo dalton
<b>Kg:</b>	Kilogram
<b>Lep –R:</b>	Leptin Reseptör

## VIII

<b>LH:</b>	Lateral Hipotalamus
<b>Mg:</b>	Miligram
<b>ml:</b>	Mililitre
<b>Mm:</b>	Milimetre
<b>mRNA:</b>	Messenger Ribo Nucleic Acide
<b>N:</b>	Nervous
<b>Na :</b>	Sodyum
<b>NPY:</b>	Nöropeptid Y
<b>Ob:</b>	Obezite
<b>Ob-gen:</b>	Obezite gen
<b>Ob-R:</b>	Obezite reseptör
<b>OVX:</b>	Ovariektomize
<b>Ö162:</b>	Östrojen 162. saat
<b>Ö18:</b>	Östrojen 18.saat
<b>Ö90:</b>	Östrojen 90. saat
<b>PBS:</b>	Phosphate Buffer Solituan
<b>PEPT1</b>	H <sup>+</sup> /di -Tripeptide Transporter
<b>PO<sub>4</sub>:</b>	Fosfat
<b>PVN:</b>	Paraventrikuler Nükleus
<b>SBP:</b>	Streptavidin Biotin Peroksidaz
<b>SO<sub>4</sub>:</b>	Sülfat
<b>SPSS:</b>	Statiscal Package For Social Sciences
<b>STAT:</b>	Signal Transducer and Activator of Transcription
<b>V:</b>	Vena
<b>VMH:</b>	Ventromedial Hipotalamus
<b>VMN:</b>	Ventral Premamiller Nükleus



**ŞEKİLLER DİZİNİ**

	<b><u>Sayfa No</u></b>
<b>Şekil 3.1.A</b> Duodenum Dokusunda 18. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptörler İmmunreaksiyonu	38
<b>Şekil 3.1.B</b> Duodenum Dokusunda 18. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	38
<b>Şekil 3.2.A</b> Duodenum Dokusunda 18. Saate Östrojen Grubunda Leptin Reseptörler İmmunreaksiyonu	39
<b>Şekil 3.2.B.</b> Duodenum Dokusunda 18. Saate Östrojen Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	39
<b>Şekil 3.3.A</b> Duodenum Dokusunda 90. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptörler İmmunreaksiyonu	40
<b>Şekil 3.3.B</b> Duodenum Dokusunda 90. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	40
<b>Şekil 3.4.A.</b> Duodenum Dokusunda 90. Saate Östrojen Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	41
<b>Şekil 3.4.B.</b> Duodenum Dokusunda 90. Saate Östrojen Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	41
<b>Şekil 3.5.A</b> Duodenum Dokusunda 162. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptörler İmmunreaksiyonu	42
<b>Şekil 3.5.B</b> Duodenum Dokusunda 162. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	42
<b>Şekil 3.6.A</b> Duodenum Dokusunda 162. Saate Östrojen Grubunda Leptin Reseptörler İmmunreaksiyonu	43
<b>Şekil 3.6.B</b> Duodenum Dokusunda 162. Saate Östrojen Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	43
<b>Şekil 3.7.A</b> Jejenum Dokusunda 18. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptörler İmmunreaksiyonu	44
<b>Şekil 3.7.B</b> Jejenum Dokusunda 18. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	44
<b>Şekil 3.8.A</b> Jejenum Dokusunda 18. Saate Östrojen Grubunda Leptin Reseptörler İmmunreaksiyonu	45

<b>Şekil 3.8.B</b> Jejenum Dokusunda 18. Saate Östrojen Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	45
<b>Şekil 3.9.A</b> Jejenum Dokusunda 90. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptörler İmmunreaksiyonu	46
<b>Şekil 3.9.B</b> Jejenum Dokusunda 90. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	46
<b>Şekil 3.10.A.</b> Jejenum Dokusunda 90. Saate Östrojen Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	47
<b>Şekil 3.10.B</b> Jejenum Dokusunda 90. Saate Östrojen Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	47
<b>Şekil 3.11.A</b> Jejenum Dokusunda 162. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptörler İmmunreaksiyonu	48
<b>Şekil 3.11.B</b> Jejenum Dokusunda 162. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	48
<b>Şekil 3.12.A</b> Jejenum Dokusunda 162. Saate Östrojen Grubunda Leptin Reseptörler İmmunreaksiyonu	49
<b>Şekil 3.12.B</b> Jejenum Dokusunda 162. Saate Östrojen Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	49
<b>Şekil 3.13.A</b> İleum Dokusunda 18. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptörler İmmunreaksiyonu	50
<b>Şekil 3.13.B</b> İleum Dokusunda 18. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	50
<b>Şekil 3.14.A</b> İleum Dokusunda 18. Saate Östrojen Grubunda Leptin Reseptörler İmmunreaksiyonu	51
<b>Şekil 3.14.B</b> İleum Dokusunda 18. Saate Östrojen Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	51
<b>Şekil 3.15.A</b> İleum Dokusunda 90. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptörler İmmunreaksiyonu	52
<b>Şekil 3.15.B</b> İleum Dokusunda 90. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	52
<b>Şekil 3.16.A</b> İleum Dokusunda 90. Saate Östrojen Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	53

<b>Şekil 3.16.B</b> İleum Dokusunda 90. Saate Östrojen Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	53
<b>Şekil 3.17.A</b> İleum Dokusunda 162. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptörler İmmunreaksiyonu	54
<b>Şekil 3.17.B</b> İleumum Dokusunda 162. Saate Kontrol Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	54
<b>Şekil 3.18</b> İleum Dokusunda 162. Saate Östrojen Grubunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu	55

## TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo 1.1</b> Diffuz nöroendokrin sistem hücrelerinin; tipleri, yerleşimleri, ürettikleri hormonlar ve başlıca etkileri	7
<b>Tablo 2.1</b> Araştırmada kontrol ve östrojen grubu sıçanlarına uygulanan deneysel prosedür	22
<b>Tablo 3.1</b> Duodenum dokusunda 18. saat kontrol ve östrojen grubunda leptin reseptör immunohistokimyasal skorlama sonuçları	31
<b>Tablo 3.2</b> Duodenum dokusunda 90. saat kontrol ve östrojen grubunda leptin reseptör immunohistokimyasal skorlama sonuçları	32
<b>Tablo 3.3</b> Duodenum dokusunda 162. saat kontrol ve östrojen grubunda leptin reseptör immunohistokimyasal skorlama sonuçları	33
<b>Tablo 3.4</b> Jejenum dokusunda 18. saat kontrol ve östrojen grubunda leptin reseptör immunohistokimyasal skorlama sonuçları	34
<b>Tablo-3.5</b> Jejenum dokusunda 90. saate leptin reseptörlerinin immunohistokimyasal skorlama sonuçları	34
<b>Tablo 3.6</b> Jejenum dokusunda 162. saat kontrol ve östrojen grubunda leptin reseptör immunohistokimyasal skorlama sonuçları	35
<b>Tablo 3.7</b> İleum dokusunda 18. saat kontrol ve östrojen grubunda leptin reseptör immunohistokimyasal skorlama sonuçları	36
<b>Tablo 3.8</b> İleumdokusunda 90. saate leptin reseptörlerinin immunohistokimyasal skorlama sonuçları	36
<b>Tablo 3.9</b> Jejenum dokusunda 162. saat kontrol ve östrojen grubunda leptin reseptör immunohistokimyasal skorlama sonuçları	37

**ÖZET**

Ob gen tarafından kodlanan 16 kDa ağırlığında bir hormon olan leptin hormonunun, gıda alımının, vücut yapısının ve enerji tüketiminin düzenlenmesinde rolü olduğu bilinmektedir. Leptin reseptör ekspresyonu ince bağırsaklar da dahil olmak üzere birçok dokuda gösterildi. İnce bağırsaklarda leptin reseptörü hakkında çok az bilgi bulunmaktadır ve bu bilgiler çelişkilidir.

Çalışmamızda immunohistokimya boyama yöntemi ile ince bağırsaklarda leptin reseptör ekspresyonunun belirledik. Leptin reseptör ekspresyonu ince bağırsağın villus ve kript epitelinde ve duodenumun Brunner bezlerinde bulundu. Kriptlerin dip kısımlarında kuvvetli bir reaksiyon gözlenirken, kriptlerin diferensiyel hücrelerin bulunduğu üst kısımları ile villuslarda zayıf bir reaksiyon belirlendi.

Östrojen reseptörlerini içeren ince bağırsak dokularında östrojen hormonunun farklı fonksiyonları etkilediği bilinmektedir. Menopoz sonrası şartların oluşturulduğu hayvan modeli olan ovariektomize edilmiş ratların ince bağırsak dokularında leptin reseptörü üzerine 17  $\beta$  estradiol (E2)'ün etkilerini ortaya çıkarmayı amaçladık. Ovariektomize ratlarda östrojenin süreye bağlı etkisini görebilmek için her biri altı hayvandan oluşan üç kontrol (K18, K90, K162), üç östrojen (Ö18, Ö90, Ö162) grubu olmak üzere toplam altı grup oluşturuldu. Kontrol grubundaki ratlara 0,2 ml susam yağı, östrojen grubundakilere ise 25  $\mu$ g 17  $\beta$ -östrodiol uygulandı. Ratlar 18., 90, ve 162. saatlerde servikal dislokasyon yöntemiyle öldürüldü. Duodenum, jejunum ve ileum örnekleri alınarak immunohistokimyasal boyama yöntemi ile boyandı.

Ovariektomize ratlarda E2 uygulamaları, 90. saatte duodenumda ve jejunumda ( $p<0.05$ ), 18. saatte ileumun villus ve kript epitelinde ( $p<0.05$ ) ve de 162. saatte duodenumun villus epitelinde ( $p<0.05$ ) leptin reseptör ekspresyonunu arttırdı. Bu sonuçlar göstermektedir ki gıda alımı ve sindiriminden sonra glikoz ve diğer besin maddelerinin emildiği ince bağırsaklarda E2, leptin reseptör ekspresyonunu arttırarak sindirim, emilim ve mukus salgılanması gibi ince bağırsak fonksiyonlarını düzenler.

Anahtar Kelimeler : Östrojen, Leptin Reseptör, Ovariektomize, Rat

## SUMMARY

Leptin, a 16 kDa hormone encoded by the ob gene, is known for its role in the regulation of food intake, body composition and energy expenditure. Leptin receptor expression has been showed in several tissues including small intestine. There is a few data about the expression of leptin receptor in the small intestine and these data are contradictory. In the present study we detected the expression of leptin receptor in the small intestine using the methods of immunohistochemistry. Leptin receptor expression was found in villi and crypt epithelium of small intestine and in brunner gland of duodenum. While the strong reaction was essentially observed in base of the crypt, weak reaction was determined in differentiated upper region of the crypt and villi. Estrogen is known to influence different functions on the small intestine contain estrogen receptor. We have aimed to elucidate the effects of 17  $\beta$  estradiol (E2) on leptin receptor in the small intestine of ovariectomized rats, a model of postmenopausal condition. Ovariectomized rats were apportioned into three control (C18, C90, C162) and three estrogen groups (E18, E90, E162) (n=6 each) to evaluate time dependent effect of estrogen. 0.2 ml sesame oil to control group, 25  $\mu$ g 17  $\beta$ -estradiol to estrogen group were administrated. Rats were killed by cervical dislocation at 18, 90 and 162 hours respsectiveley. Duodenum, jejunum and ileum samples were removed and stained using immunohistochemistry. In ovariectomized rat, E2 administrtion increased the leptin receptor expression on epithelium of villi and crypt in duodenum and jejunum at 90 hours ( $p<0,05$ ); and ileum at 18 hours ( $p<0,05$ ); and also on epithelium of villi in duodenum at 162 hours ( $p<0,05$ ). These results indicated that E2 may upregulate the expression of leptin receptor in small intestine where glucose and other nutrients are absorbed after food intake and digestion; and also regulate intestine fuctions like digestion, absorbtion and secretion of mucin, in this wise.

Key Words : Estrogen, Leptin receptor, Ovariectomize, Rat

## 1. GİRİŞ

### 1.1. İnce Bağırsaklar

İnce bağırsaklar mide ile kalın bağırsaklar arasında kalan; gıdaların sindiriminin ve emiliminin yapıldığı bağırsak bölümüdür (1).

#### 1.1.1. İnce Bağırsakların Anatomisi

İnsanda on iki parmak uzunluğunda olduğu için on iki parmak bağırsağı olarak da isimlendirilen duodenum, ince bağırsakların ilk bölümüdür (2). Midenin piloris bölgesinden sonra gelen duodenum, karın duvarına doğru seyrederek; karaciğerin arka yüzünü sağ karın duvarına kadar izler ve burada geriye kıvrılır; lumbal kasların hizasına gelince orta hatta doğru bir kıvrım daha yapar. Önde kolon transversusun hizasına kadar gelir ve buradan sonra jejenum olarak devam eder. Ligamentum duodeno-kolikum aracılığıyla kolon desendens ile birleşir (3). Duodenumun kıvrıntısına, dantel şeklinde olan pankreasın bir kısmı yerleşmiştir. Pars ekskretoryaların birleşmesi sonucu şekillenen pankreasın büyük akıtıcı kanalı duktus pankreatikus duodenumun başlangıç kısmına açılmaktadır. Sığırcılarda safra kesesi bulunmadığından; karaciğerde yapılan safra, duktus hepaticus ile doğrudan duodenuma verilmektedir (4).

Jejenum, bağırsak lumeninin boş olması ya da içerisinde çok az derecede sulu besinlerin görülmesi nedeniyle boş bağırsak olarak da adlandırılmaktadır (2). Duodenumun bittiği yerden kısa ve ters bir “u” harfi yaparak başlayan jejenum, ince bağırsakların en uzun bölümünü oluşturur (2, 4). Büyük bir kısmı karın boşluğunun sağ yarımındadır ve karının ventral duvarı ile temas halindedir (3). Jejenum, pilika duodenokolika ile duodenumdan, ileosekalis denilen bant aracılığıyla ileumdan ayrılır (2). Jejenum uzun bir mezenterium ile asılıdır (3) ve jejenum kıvrımları bu mezenterium tarafından bir arada tutulur (4).

Jejunumu takip eden ileum, ince bağırsakların en kısa bölümüdür (3). İleumun son kesimi kısmen sekumun içine girer ve deliğin çevresi sirküler bir kas tabakasıyla çevrilidir (2). İleosekal orifisium adı verilen bu bölgede bir ganglion bulunur (3).

### **1.1.2. İnce Bağırsakların Histolojisi**

Bağırsak bölümleri glandular bir mukozaya sahiptir. Mideden ince bağırsaklara geçince mukoza kıvrımları şeklindeki yükselmelerle ince bağırsakların yüzeyi bir hayli genişler. Bu mukoza kıvrımlarına plika sirkularis veya Kerckring plika'ları adı verilir (5). Çıplak gözle görülebilen bu plikalar en çok jejunumda gelişmiştir ve karakteristik yapıdadırlar. Duodenum ve ileumda da sıklıkla görülmesine karşın, önemli bir özellik göstermezler (1). İleuma gidildikçe alçalan bu plikaların lumene bakan yüzeyleri duodenumda yaprak şeklinde, ileuma doğru ilerledikçe parmak biçimini alan, yaklaşık 0.5-1.5 mm uzunluğunda makroskopik yapılarla donanmıştır (1). Bu mukoza çıkıntıları villus intestinalis adını alırlar (5, 6). Türe ve fizyolojik aktivitelere bağlı olarak villus intestinalislerin uzunluğu değiştiği için değişik segmentlerin tanımlanmasında villus uzunluğu güvenilir bir özellik değildir (7). Villus intestinalislerin uzun eksenleri doğrultusunda, emilen yağların lenf dolaşımına taşınmasını sağlayan ve luminal yüzleri epitel hücreleri ile kaplı lenf yarığı (merkezi kilus kanalı) bulunur (5).

İnce bağırsak duvarı 3 tabakadan oluşur. 1-Tunika mukoza, 2-Tunika muskularis, 3-Tunika seroza (5, 6, 7).

#### **1.1.2.1. Tunika Mukoza**

Tunika mukoza ince bağırsakta 4 laminalıdır (6).

#### **Lamina Epitelyalis:**

Lamina Epitelyalis ince bağırsağın iç yüzü, dolayısıyla villus ve plikaların üzeri tek katlı prizmatik hücreler ve bunların arasında bulunan goblet (kadeh -mukus) hücrelerinden oluşur (5, 6).

#### **Emilim Yapan Prizmatik Hücreler**

Emilim yapan prizmatik hücreler, hücrenin tabanına yakın yerleşmiş oval bir çekirdeğe ve çizgili kenar (firçamsı kenar) oluşturan belirgin mikrovilluslara sahiptir. Hücre sitoplazmasının apikalinde yaklaşık 1µm uzunluğunda 0.5 µm çapındaki silindirik çıkıntılar halinde bulunan, aktin mikroflamanları ile diğer hücre iskeleti proteinlerinin oluşturduğu bir nüveyi saran hücre membranından meydana gelirler. Emilim yapan hücrelerde ortalama 3000 mikrovillus belirlenmiştir. Mukozanın 1 mm<sup>2</sup>'inde bu yapıların sayısı 200 milyonu bulur. Mikrovilluslar



bağırsak yüzeyi ile besinler arasında ilişki yüzeyini oldukça artırdıkları için önemli fizyolojik işleve sahiptir (1, 7).

Elektron mikroskopunda, mitokondrilerin bazal bölgede çekirdeğin yakınında bulunduğu; apikal sitoplazmanın ise terminal web ve trigliserid sentezi için gerekli olan granülsüz endoplazma retikulumu içerdiği görülmektedir. Ayrıca emülsiyon halindeki yağların şilomikrona dönüştürülmesinde ve sindirim enzimlerinin salgılanmasında görev alan gelişmiş bir golgi kompleksine sahiptirler. Serbest ribozomlar ve granüllü endoplazma retikulumu ise hücrenin bazal kısmında bulunmaktadır (7).

### **Goblet (kadeh) hücresi**

Prizmatik hücreler arasına dağılmış olan goblet hücrelerinin sayısı ince bağırsağın distal bölgesine doğru artış gösterir (7, 8). İleumda duodenumdan 2-3 kat daha fazla goblet hücresi bulunmaktadır. Villusların uç kısımlarında goblet hücrelerinin sayısının azaldığı görülür (7).

Hücrenin mukus damlacıklardan dolayı apikal bölgesi şişkinleşirken; çekirdek ve sitoplazmanın geri kalan kısmı dar hücre tabanına sıkışmış durumdadır ve tipik bir kadehi andırmaktadır (7). Goblet hücreleri asit mukopolisakkarit yapısında mukus salgılar; bu mukus bağırsak mukozasını kayganlaştırıcı ve koruyucu bir yüzey oluşturur (6).

### **M (membranöz epitel-mikro katlantı) Hücresi**

Payer plaklarındaki lenf foliküllerinin üzerini ince bağırsaktaki prizmatik epitel hücrelerine eşdeğer M hücreleri kaplamaktadır (1, 9). Bu hücrelerin özelliği çukurcuklar oluşturan çok sayıda bazal zar girintileri göstermesidir. Bu çukurcuklarda intraepiteliyal lenfositler ve antijen-sunan hücreler (makrofajlar) bulunurlar (1, 5, 10).

M hücreleri, intraepiteliyal hücreler (lenfositler) ve makrofajları da içeren epitel örtüsü, folikülle olan ilişkileri de dikkate alınarak, folikülle ilişkili epitel (follicle-associated epitelyumium-FAE) adını alır (5). M hücreleri makro moleküler düzeydeki intraluminal antijenleri luminal yüzeylerinden alıp, veziküler halde dar olan sitoplazmalarından geçirerek (transitozis) bazal yüzlerinden lamina propriadaki makrofajlara ve lenfoid hücrelere sunarlar; sonuçta bu bölgedeki lenf foliküllerinin germinal merkezlerindeki plazmasitlerden IgA yapımı gerçekleştirilir (1, 5, 10).

### **Lamina Propria**

Lamina propriya villusların esasını şekillendirir ve Lieberkühn kriptlerini çevreler. Kollajen iplikler yanında elastik ve retikulum ipliklerini de içeren gevşek bir bağ dokudan meydana gelir. Bu yoğun iplik ağı içerisinde, kan ve lenf damarları, sinir telleri, lökositler, fibrositler, düz kas hücreleri, plazma hücreleri ve mast hücreleri bulunur (1, 5, 6, 7). Birçok evcil türün bağırsak mukozasında globuler lökositlere rastlanmaktadır. Bu lökositler, küçük bir çekirdeği çevreleyen, iri eozinofilik globuler materyaller içerir. Fakat bu lökositlerin fonksiyonları bilinmemektedir (7).

Lamina propriada yer yer lenfosit infiltrasyonlarına ya da lenf foliküllerine rastlanır. Lenf folikülleri çoğu kez submukozadan buraya doğru yayılırlar. Bunlar ya tek tek (soliter lenf folikülleri) ya da gruplar (agregat lenf folikülleri- peyer plakları) halindedir (5). Lenf foliküllerinin sayısı ileuma doğru artar. Lamina propria içinde tek lenf folikülleri özellikle bezlerin çevresinde görülür. Peyer plakları ise ileumda, mezenterin yapıştığı duvarın karşı bölümünde yer alır. Peyer plaklarının bulunduğu bölgede villus ve kript yoktur ve bağırsak duvarı ile lenfoid doku arasında yüzey epiteli bulunur (6). Peyer plakları özellikle gençlerde mukozayı kubbelendirir buna “dom bölgesi” adı verilir (5). Karnivorlarda midedekine benzer bir yapıda stratum kompaktum kriptlerin tabanı ve lamina muskularis arasında bulunabilir (7, 10). Villusun lamina propriasının merkezinde kilus kanalı olarak adlandırılan tek bir lenfatik kapillar bulunur. Bu damar villusun uç kısmında kör bir terminal sona sahiptir ve villusun tabanında bir pleksüs yapan lenf damarlarından köken alır. Bu bazal pleksüs, intestinal kriptleri ve lenf foliküllerini çevreleyen daha büyük bir pleksüse sebep olur (7).

Lamina propria içerisinde villusların tabanına açılan basit tubuler intestinal bezler (Lieberkühn kriptleri), yer alır (10). Lieberkühn kriptlerini değişik hücre tipleri oluşturur (5, 6, 10). Bu hücreler emilim yapan prizmatik hücreler, goblet hücreleri, Paneth hücreleri, matriks hücresi, enterokromaffin hücre ve enteroendokrin hücrelerdir (10).

### **Emilim Yapan Prizmatik Epitel Hücresi**

Yüzey epitel hücrelerinin kript içindeki benzerleridir. Ancak kript içindeki bu hücrelerin mikrovillusları daha kısa ve daha azdır. En çok kriptin orta bölümünde bulunurlar (6).

### **Goblet (kadeh) Hücresi**

Kriptleri oluşturan epitel hücreleri arasında yer yer goblet hücrelerine rastlanır (5). Bu hücreler özellikle kriptin orta bölümünde yoğunlaşırlar. Goblet hücrelerinin sayısı duodenumdan ileuma gittikçe artarken; emilim yapan hücrelerin sayısı azalır (6).

### **Matriks (indiferensiye epitel) Hücresi**

Kriptlerin dip kısmında bulunan, düzensiz kübik biçimli, kriptlerdeki diğer hücrelerin kaynağını oluşturan hücrelerdir (6). Çok aktif mitotik bölünme yeteneğinde olan bu hücreler mitozla çoğaldıktan sonra kriptteki herhangi bir hücreye diferansiye olabilirler (5, 6). Bu hücreler vücudun en hızlı çoğalan hücreleridir (6). Yeni oluşan hücreler kriptlerin ve villusların bazal membranı boyunca yukarı doğru kayar ve villusların uç kısmına kadar yayılır (5, 7). Yukarı göç sırasında hücre, yapısal ve enzimatik gelişimini tamamlar (6). Villusların uç kısmındaki diferansiye olmuş bir hücrenin yaşam süresi yaklaşık 36-48 saat kadardır. Ölen hücreler lumene atılırlar ve yerlerini sürekli olarak kript tabanından çoğalarak gelen hücreler alırlar. Böylece kriptlerin dip kısmından villusların uç kısmına doğru sürekli bir hücre akımı olur (5, 7).

### **Paneth Hücresi:**

Kriplerin dip tarafında çok az sayıda bulunan piramit şekilli, asidofilik granül içeren hücrelerdir (5, 6, 7). Özellikle, ruminant, atlar, ve insanlarda (10) bulunur; etçillerde çok az domuzda ise yoktur (5). Çekirdek ve hücre apikalı arasında lokalize olmuş belirgin asidofilik granüllere sahiptirler. Bu hücrelerin bazal kısımları ise bazofilik boyanmaktadır (10).

Enzim üreten hücrelerin karakteristik özelliklerine sahiptirler. Antibakteriyel bir içerik olan peptidaz ve lizozim salgırlarlar. Bu hücreler peptidazın aktivasyonunda önemli olduğu bildirilen çinko da içermektedir (7). Kimusun (kısmen sindirilmiş kimyasal besin bileşimi) asitlik durumu bağırsak içeriği ile alkalileştirildiğinde mide içeriğinin bakterisid etkisi azalır Bu durumda bakterilere karşı lizozim ile denge sağlanmaya çalışılarak mikrobiyal bağırsak florası korunur (5). Bu hücrelerde mitoz bölünme görülmez, çoğalan indiferensiye hücrelerin

yukarıya göç etmeyip yerlerinde kalanların farklılanması ile oluşurlar. Ortalama ömürleri 30 gündür (6).

### **Diffuz Nöroendokrin Sistem (DNES - Enteroendokrin - APUD) Hücreleri**

Mide bağırsak kanalının hemen bütün bölümleri boyunca mukozaya içine dağılmış, değişik peptidler üreten hücrelerdir (6). Sindirim sisteminin polipeptid salgılayan hücreleri 2 tiptir. Açık tip hücrenin apikalinde mikrovilluslar vardır ve organın lumeniyle temas halindedir. Kapalı tip hücrenin uç kısmı diğer epitel hücreleri ile örtülüdür. İnce bağırsakta açık tip endokrin hücreler emilim yapan komşu hücrelerden daha ince bir görünümündedir; hücrelerin apikalinde düzensiz mikrovilluslar ve sitoplazmasında küçük salgı granülleri bulunur. Sindirim kanalındaki kimyasal içeriğin açık tip hücrelerin mikrovilluslarını etkileyebileceği ve böylece hücre salgısında bir artışa yol açabileceği ileri sürülmüştür (1).

Bu hücrelerin salgıladığı çok sayıdaki enterohormon sindirim olaylarında düzenleyici role sahiptir (5). Gastrik ve pankreatik salgıların salınımını, bağırsak hareketlerini ve safra kesesinin kasılması gibi olayları kontrol ederler (tablo 1) (1, 9). Enteroendokrin hücreler uyarıldıklarında salgılarını ekzositoz yoluyla salıverirler. Salınan bu hormonlar ise parakrin (lokal) veya endokrin etki gösterirler (1).

Diffuz Nöroendokrin Sistem hücrelerinin bir çoğu biyojenik monoaminlerin öncü yapılarını alıp dekarboksilasyon işlemi yapmaktadırlar ve bu nedenle Amine Precursor Uptake and Dekarboxylation (APUD) hücre serisi olarak adlandırılan büyük bir hücre grubunun bir kısmını oluşturdukları düşünülmektedir. APUD hücre tipleri gastrointestinal kanal (mide, incebağırsak ve kalın bağırsak), solunum sistemi, pankreas ve tiroid bezlerinin epitelinde bulunurlar (9).

**Tablo 1.1.** Diffuz nöroendokrin sistem hücrelerinin; tipleri, yerleşimleri, ürettikleri hormonlar ve başlıca etkileri

Hücre tipi ve yerleşimi	Üretilen hormon	Başlıca etkisi
A-mide	Glukagon	Hepatik glikojenoliz
G-pilor	Gastrin	Gastrik asit sekresyonunun uyarılması
S-ince bağırsak	Sekretin	Pankreas ve safra yoluyla bikarbonat ve su sekresyonu
K-ince bağırsak	Gastrik inhibitör polipeptid	Gastrik asit sekresyonunun inhibisyonu
L-ince bağırsak	Glukagon-benzeri madde (glistentin)	Hepatik glikojenoliz
I-ince bağırsak	Kolesistokinin	Pankreatik enzim sekresyonu, safra kesesi kontraksiyonu
D-pilor, duodenum	Somatostatin	Diğer endokrin hücrelerin lokal inhibisyonu
Mo-ince bağırsak	Motilin	Bağırsak motilitesinin artırılması
EC-sindirim kanalı	Serotonin, substans P	Bağırsak motilitesinin artırılması
D1-sindirim kanalı	Vazoaktif intestinal polipeptid	İyon ve su sekresyonu, bağırsak motilitesinin artırılması

Gastrointestinal endokrinoloji bilgileriyle hala bazı olayların açıklanamamasına karşın, sindirim sistemi etkinliğinin sinir sistemi tarafından kontrol edildiği, lokal olarak salınan peptid hormonlarının oluşturduğu karmaşık ve etkin bir sistem tarafından düzenlendiği açıklık kazanmıştır (1).

### **Lamina Muskularis**

Lamina propria ve submukozayı birbirinden ayıran içte sirküler, dışta longitudinal seyirli ince düz kas tabakasıdır. Bu tabakadan ayrılan düz kas hücreleri villus içerisine uzanır. Kaslar arasında elastik ipliklerde bulunur. Bu kas hücrelerinin kasılması villusların lateral hareketinden sorumludur ve villusun kısalmasına neden olur. Kas kontraksiyonu aynı zamanda kilus kanalındaki lenf sıvısının aşağıda bulunan lenf pleksüsüne pompalanmasına yardımcı olur. Submukozadaki arteriyel pleksüsten tek bir kol lamina muskularise uzanır ve yüzey epitelinin hemen altında arteriyovenular halka ve kapilar bir ağ şekillendirerek villus içerisinde seyrederek. Sindirim aktivitesi sonucunda vasküler ağ kanla dolar ve villusun genişlemesine neden olur. Kas kontraksiyonu esnasında vilus kısalırken, kan dışarı pompalanır. Bundan olayı villus, genel dolaşıma kanı ve lenfi taşıyan bir pompa istasyonu görevi görür (7).

### **Submukoza**

Çok sayıda kan ve lenf damarları içeren, yer yer yağ hücrelerinin bulunduğu gevşek fibröz bağ dokusundan oluşur (6, 11).

Submukozada ayrıca, Payer plakları ve soliter lenf folikülleri bulunur. Soliter lenf folikülleri ince bağırsak boyunca bulunur, agregat lenf folikülleri ise ince bağırsağın her üç bölümünde de yer almasına karşın, özellikle ileum için karakteristik bir özellik gösterir (6, 7).

Submukozada sadece duodenumun ilk bölümlerinde tubulo-alveolar bezler yer alır (5, 10). Duodenumun belirleyici özelliği olan bu bezlere glandula duodenalis ya da Brunner bezleri adı verilir (5, 7, 9). Duodenum bezlerinin en önemli görevi, duodenal mukozayı mide içeriğinin kuvvetli aşındırıcı etkisinden korumaktır. Bu görev, mideden duodenuma giren asidik nitelikteki kimusu nötralize eden ya da tamponlayan alkalın mukus ve bikarbonat iyonlarını salgılama yolu ile yapılır. Duodenum bezleri salgılarını, asidik kimusun lumene girişi ve vagus sinirinin parasempatik inervasyonu sonucu lumene boşaltırlar (9). Böylece duodenumun müköz zarı asit mide içeriğinin etkilerinden korunmasının yanı sıra, ince bağırsak içeriğini pankreatik enzimin etkisine uygun pH'ya gelmesi sağlanır (1, 6). Ayrıca duodenal bezler bir polipeptid hormon olan urogastron (epidermal büyüme faktörü) yapımıyla da midede HCl salgılanmasını engeller ve ince bağırsak epitel hücrelerin proliferasyona neden olur (5, 6, 9). Bu bezlerin tek katlı prizmatik

epitelle döşeli akıtıcı kanalları lamina muskularisi geçereklamına propriya uzanırve villusların dip kısımlarına açılırlar (5, 6). Bu kanalları oluşturan hücreler, açık renkte boyanan sitoplazmaları ile kolaylıkla kripteke diğerk hücrelerden ayrılabilirler (5).

#### **1.1.2.2. Tunika Muskularis:**

İçte sirküler, dışta longitudinal seyirli düz kas tabakasıdır. Bu iki kas tabakasının arasında yer alan gevşek bağ dokusu miyenterik pleksus içermektedir (5-7).

#### **1.1.2.3. Tunika Seroza:**

Gevşek bağ dokusu yapısındaki subseroza ve onu da çevreleyen tunika seroza organı dıştan sarar. Peritonun visseral yaprağı olan tunika seroza, mezenter ile bağlantı yerinde mezenter üzerine geçerek devam eder (5, 6).

### **1.1.3. İnce Bağırsakların Histofizyolojisi**

#### **1.1.3.1. Motilite**

Bağırsak içeriği, bağırsak hareketleri ile karıştırılır, hareket ettirilir ve ileriye sürüklenir. Tunika muskularisin sirküler kas katmanında sirküler kasılma vardır. Bu kasılmalar itici güç değildir; bunlar içeriği karıştırır, sindirim ve emilimi kolaylaştırır. Sirküler kas katmanındaki sirküler kasılmayı takiben, longitudinal kas katmanının kısalması şeklinde meydana gelen Peristaltik hareket luminal içeriği ilerletir. Peristaltik kasılmalarda ekstrinsik innervasyondan ziyade tam bir intrinsik sinir desteği (submukozal ve pleksus miyenterikus) önemli rol oynar (10).

Düz kaslar kasılmaya yanıt olarak bağırsak kanal duvarını uzatır (miyenterik refleksi). Normal peristaltik hareketler yavaş olarak materyallerin yeterli emilimini gerçekleştirir. Aşırı kas kasılmaları (peristaltik hızlı hareketleri) bağırsaktan geçişi hızlandırır ve bunun sonucunda diyare, emilim ve sindirim bozukluğuna neden olabilirler (10).

Ekstrinsik sinir desteği, intrinsik bağırsak aktivitesinin şiddetine ve sıklığına etki eder. N. vagus bağırsak düz kas aktivitesini artırırken; sempatik uyarımı azaltır ya da tamamen engeller. Çeşitli bölgelerin duyuusal uyarıları bağırsakları inhibe edebilir. Bağırsağın herhangi bir bölümü gerildiğinde (intestinointestinal inhibitör

refleks) bağırsak hareketleri durabilir. Travma, peritonitis, tıkanma ve operasyon da bağırsaklarda ki peristaltığı durdurabilir (10).

İntestinal uyarı mideye gıda girdiğinde ya da ince bağırsaklara kimus girdiği zaman meydana gelir (gastrointestinal tetikleyici refleks). Gastrin ve kolesitokinin intestinal motiliteyi uyarırken; sekretin engeller (10).

### **1.1.3.2. Sindirim ve Emilim**

Besin maddelerinin sindirimi ve bu maddelerin daha sonra emilerek vücuda alınması ince bağırsakların en önemli fonksiyonudur (10).

İnce bağırsağın submukozal bezleri ve kripleri döşeyen hücreler ve goblet hücreleri, su, elektrolit, musin, immunglobulin A ve enzim gibi çeşitli bağırsak salgılarını ince bağırsak lumenine salgırlar. Mekanik ve kimyasal uyarılar bağırsak sekresyon artışında etkilidir. Sekretin ve kolesitokinin bağırsak submukozal bezlerini uyarır. Köpeklerde ince bağırsak ekstratının içerdiği bir madde olan enterokrinin de sekresyonu uyarabilir (10).

Sindirim olayı, gıdalarda bulunan yaşam için gerekli maddelerin, mekanik ve kimyasal olaylara katılarak, mide-bağırsak kanalının duvarından vücut sıvıları olan kan ve lenfe geçmesidir. Mekanik olaylar belli kasların kasılması ile olur. Kimyasal olaylar az veya çok özel enzimler ile gerçekleşir. Lamina epiteliyalis ve pankreas hücrelerinin içerdiği, sindirime katkıda bulunan pek çok enzim bu hücrelerin parçalanması ile lumene boşalır. Bazı enzimler (sukraz, laktaz, maltaz ve aminopeptidaz) bağırsak lumenine salınmaz; hücrelerin fırça kenar oluşturduğu plazma membranında önemli bileşenler olarak kalırlar ve besinlerin emilim öncesi sindirimlerinde rol oynarlar (12, 13).

### **Karbonhidratların Sindirimi ve Emilimi**

Normal besin maddelerinde sakkaroz, laktoz, nişasta olmak üzere üç büyük karbonhidrat kaynağı vardır. Bunun dışında daha az olarak alınan glikojen, alkol, laktik asit, pirüvik asit, pektinler, dekstrinler diğer karbonhidratlardır.

Karbonhidratların (polisakkaritler) sindirimi parotis bezinden salgılanan pityalin ( $\alpha$ -amilaz) enzimi ile ağızda başlar. Besinler mideden duodenuma boşaldıktan sonra, pankreas sindirim enzimleri ile karışır; amilaz enziminin etkisiyle de disakkaritlere kadar yıkımlanır (5). Disakkaritler bağırsak mukoza



hücrelerinin lumene yönelik yüzeyindeki sindirim enzimleriyle monosakkaritlere parçalanırlar (5, 13).

Bakterilerce oluşturulan fermentatif sindirimde ise parçalanma daha da ilerletilir ve uçucu yağ asitleri meydana gelir. Bunların çoğunluğunu asetik, propiyonik ve butirik asitler oluşturur (13).

İnsanlarda selülozu sindiren enzim bulunmamaktadır. Sıçanlarda ise selülozun son sindirimi sekumda gerçekleşir (4).

Karbonhidratların tümü monosakkarid şeklinde emilir (12, 14, 15), ancak çok az miktarda disakkaridler de emilebilmektedir (12).

Monosakkaridler kolaylaştırılmış difüzyon ile emilirler (10). Glikoz (galaktoz da), epitel hücrelerinin fırçamsı kenarında bulunan taşıyıcı protein ve sodyum aracılığıyla hücre içine taşınır. Taşıyıcı proteinin, glikoz ve sodyum iyonunun bağlanabileceği birer reseptörü vardır. Hücre dışı ile içinde farklı konsantrasyonda olan sodyum, hücre içine difüze olurken glikozu da birlikte sürükler böylece glikoz taşınması için gerekli enerjiyi sağlar. Bu olaya sodyumun ko-transport'u ya da glikozun sekonder aktif transportu adı verilir (12). Hücre içine giren monosakkaridler, hücrenin bazal yüzünden intersitisyuma ve kan kılcallarına difüzyonla geçerler; venöz kan damarlarıyla da vena porta'ya taşınırlar (5). Fruktoz ise portal vene geçmeden önce, epitel hücrelerinde önce fosforile olur, sonra da glikoza çevrilir ve nihayet epitel hücresinden kana verilir (12).

### **Proteinlerin Sindirimi ve Emilimi**

Proteinler birbirine, peptid bağlarıyla bağlı uzun aminoasit zincirlerinden ibarettir (12).

Proteinlerin sindirimi midede başlar ve ince bağırsaklar boyunca sürdürülür (13). Protein ve peptidler mide ve pankreas enzimleri ile hidroklorik asit tarafından sindirilir (10).

Midede proteinlerin sindirimi prensipal hücrelerden salgılanan pepsinojen ile sağlanır. Öncül bir enzim olan pepsinojen midenin asit ortamına salgılandıktan sonra hızlı bir şekilde aktif bir proteolitik olan pepsine dönüşür (1). Pepsin genellikle diyetdeki çeşitli proteinlerin tümünü sindirebilir (12). Pepsinin proteinler üzerine etki gösterebilmesi için mide sıvısının asitli olması gerekir. Mide asidinin duodenumda safra ve pankreasın  $\text{HCO}_3^-$ , tarafından nötralize edilmesi ile pepsin kısmen inaktive olur (15). Proteinler mideyi terk ettikleri sırada başlıca pepton,

proteos ve büyük polipeptidler halinde bulunular. Kısmen sindirilmiş bu ürünler bağırsağa geçer geçmez pankreastan gelen tripsin, kimotripsin ve karboksipeptidaz enzimlerinin etkisiyle karşılaşır. Tripsin ve kimotripsin protein moleküllerini küçük polipeptidlere ve dipeptidlere parçalayabilir. Villus epiteline ulaşan dipeptidlerin kalan bağları pankreatik karboksipeptidaz ve bağırsak mukozası tarafından üretilen aminopeptidaz enzimlerince hidrolize edilir. Peptidlerin son olarak aminoasitlere parçalanması ise dipeptidazlar tarafından gerçekleştirilir (12, 15).

Aminoasitlerin emilimi mikrovillusların bulunduğu apikal yüzde olur (13). Aminoasitlerin bağırsak mukozasından emilimi bağırsak lümeninde sindirilmelerinden çok daha hızlıdır ve aminoasitler bağırsak içeriğinde toplanmaksızın doğrudan aktif taşıma ile bağırsak epitel hücrelerine alınır (5, 12).

Aminoasitlerin bağırsak lümeninden mukoza hücrelerine taşınımından  $Na^+$  ko transport sistemleri sorumludurlar (12, 15). Glikoz taşınmasında olduğu gibi taşıyıcı protein hem sodyum hem de aminoasit için reseptöre sahiptir ve her ikisinde reseptöre bağlandığında ikisini de hücre içine taşır (5, 12). Böylece hücre içinde aminoasit konsantrasyonu yükselir ve daha sonra bu aminoasitler hücrelerin bazal yüzlerinden kolaylaştırılmış difüzyonla portal dolaşıma geçer (5,12,15).

Yeni doğanlarda ve süt emen yavrularda protein molekülleri bütün olarak büyük partiküller halinde pinositozla sitoplazmaya alınabilirler (5). Özellikle kuzu, oğlak, buzağı, tay, köpek ve domuz yavruları gibi hayvan türlerinde kolostrumdaki immunglobulinler, doğumdan hemen sonra emilebilirler (10, 13). Ancak daha sonra bu tür emilim mümkün olmaz, bağırsak hücresine alınma gittikçe azalır ve doğumdan 24-36 saat sonra tamamen durur (5).

### **Yağların Sindirimi ve Emilimi:**

Diyetteki yağların büyük bölümü trigliserid olarak da bilinen nötral yağlardır. Trigliseridler, gliserinin üç yağ asitiyle olan esterleridir ve suda hemen hiç erimezler (12, 13, 16).

Besinlerle alınan yağlar neredeyse hiçbir işleme uğramadan ince bağırsağa gelir ve yağ sindirimi, ince bağırsaklarda (duodenumda safra ve pankreas salgısının döküldüğü yerde) başlar. Bağırsakta yağ sindiriminde rol oynayan iki önemli faktör bulunur (14):

- 1) Safra salgısı
- 2) Pankreas lipazı

Safra salgısının içindeki safra asidi ve tuzları, yağların yüzey gerilimini azaltarak, büyük yağ damlacıklarının ince bağırsağın karıştırıcı hareketleriyle küçük damlacıklar halinde dağılmalarını sağlar (10, 13, 14). Bu durum, enzimlerin yağ moleküllerine daha iyi etkimesine yol açar (14).

Duodenumda safra tuzlarının etkisiyle küçük damlacıklar haline getirilmiş olan yağ molekülleri, pankreatik lipaz tarafından parçalanır (14). Yağların mekanik olarak emülsiyon haline gelmelerini sağlayan yağ-su ara yüzünde, lipazlar aktifleşirler. Lipaz trigliseridlere, diğer yağlara (mono ve digliseridlere) göre daha hızlı ve öncelikli etkiye eğilimindedir (14). Trigliseridlerin çoğu serbest yağ asitleri ve monogliseridlere parçalanırlar. Çok küçük bir bölümü de sindirilmeden digliserid halinde kalır (5, 12).

(Safra+ Çalkalama)

Pankreas Lipazı

Yağ----->emülsiyon halinde yağ ----->yağ asitleri ve monogliseridler (12).

Trigliseridlerin serbest yağ asitleri ve monogliseridlere parçalanmasından sonra bu maddeler safra asitleriyle birleşerek 20 angström çapındaki küçük miselleri şekillendirir. Çok sayıdaki misel, mikrovilluslar yoluyla apikal sitoplazmaya geçer (5, 10). Bu hücre içine geçiş ısıya bağlı olmaksızın basit difüzyonla enerji gerektirmeden gerçekleşir (13). Yağların emilimi kimusun jejunumun sonuna ulaşması ile tamamlanır. Fakat safra tuzları misellerden ayrılarak ileumdan emilirler (Na<sup>+</sup> beraber ikincil aktif taşımım) (13, 15).

Bağırsak hücresine alınan yağ asidi ve monogliseridler, granülsüz endoplazma retikulumuna girerler ve çok enzimli karmaşık bazı reaksiyonlar sonucunda yeniden trigliserid biçiminde esterleştirilirler (5, 10, 12, 13, 15).

Bağırsak epitel hücrelerinde trigliserid sentezinden sonraki aşama, lenf yollarına geçecek olan şilomikronların oluşumudur. Şilomikronların esasını trigliseridler oluşturur; bununla birlikte %7 oranında fosfolipid, %7 oranında kolesterol ile %1 oranında da protein içerirler. Trigliseridler granülsüz endoplazma retikulumundan golgi kompleksine taşınır ve burada etrafı bir membranla sarılır, bu şekilde oluşan bu şilomikronlar lateral hücre duvarından interselüler aralığa verilir. 0.5 mikron çapındaki şilomikronlar interselüler aralığın bazal bölümüne geçerek lamina propria içindeki ince duvarlı lenf kılcalına (merkezi kilus damarına) ve oradan da lenf dolaşımına ulaşırlar. Mezenteriyel lenf düğümlerinden geçerek lenf dolaşımında ilerleyen şilomikronlar, duktus torasikus yoluyla V. Jugularis ve V.

Subklavya'nın bulunduğu yerde ven dolaşımına karışırlar. Gıdalardaki yağların hemen tamamı emilerek lenfe karıştıkları halde, bunların çok küçük bir oranını oluşturan kısa zincirli yağ asitleri doğrudan V. Porta dolaşımına geçerler (5).

### **Suyun, Mineral ve Vitaminlerin Emilimi**

Su, intestinal membrandan tamamen difüzyon işlemiyle taşınır. Bu difüzyon genel osmoz yasalarına uygun olarak gelişir; kimus dilüe olduğu zaman, su bağırsak villuslarından kana geçer (13).

İnsanda ve tüm omnivorlarda duodenunda sindirim kanalına salgılanan su, emilen miktara az çok eşittir. Bu nedenle duodenumde net emilimden pek söz edilmez. Su emilimi en çok jejunumda gerçekleşir. Bunu sırasıyla ileum ve kolonlar izler (12).

Erimiş maddeler bağırsak lümeninden emildikçe, kimusun osmatik basıncı azalır. Fakat su, bağırsak kanalında kolayca difüze olduğu için (epitel hücreler arasında "sıkı bağlantılar" denen intersellüler porlardan su geçmektedir), iyonlar ve besin maddeleri ile birlikte su da emilmektedir. Bu yolla kimus bağırsak kanalını geçerken, sadece iyon ve besin maddeleri değil, suyun %99 kadarı da emilir (13).

Öte yandan, su aksi yönde, plazmadan kimusa geçebilir. Bu durum, özellikle mideden duodenuma hiperosmatik eriyikler geçtiği zaman görülür. Genellikle, dakikalar içinde, osmozis ile yeterli miktarda su geçerek kimusu plazma ile izosmatik duruma getirir. Bu nedenle kimus, ince ve kalın bağırsakları geçişi sırasında hemen hemen izosmatik durumda tutulur (13).

İnce bağırsaklardan diğer besin maddelerinden safra tuzu,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  ve  $\text{Fe}^{++}$  emilir. Duodenumdan safra tuzu, B12 Vitamini ve  $\text{H}^+$ ; ileumdan ise sülfatlar emilmez (10).

### **1.1.3.3. Savunma Sistemi**

IgA oldukça geniş mukozal yüzeye sahip mide-bağırsak kanalında mikroorganizmalara karşı ilk savunma hattını oluşturur. Diğer bir koruyucu mekanizma hücreler arası sıkı bağlantılardır. Bu bağlantılar ile birlikte antikor salgılayan plazma hücreleri, makrofajlar ve çok sayıdaki lenfositler savunma sistemini oluşturur. Bu hücrelerin hepsine birden sindirim sistemi ile ilişkili lenfatik doku (gut-associated lymphatic tissue-GALT) denir (1). İnterferon da epitel hücreleri mikroorganizma girişine karşı bir engel oluşturur. Koruyucu bariyeri

gastrointestinal kanalda mukoza ve submukozada yerleşmiş lenf folikülleri destekler. Asit pH'daki mide özsuyu, mikroorganizmalar üzerine bakterisid etki yapar. Safra sıvısı entero-patojen virusları inaktive eder. Bağırsak salgısının asıl unsuru olan laktoferrin bakteriyostatik etkiye sahiptir. Fizyolojik bağırsak florası da çoğu kez patojenik etkenlerin yerleşmesini önler (5).

## **1.2.Leptin**

Leptin (Ob), ilk kez 1994 yılında Zhang ve arkadaşları tarafından tanımlanan ve Yunanca'da leptos, "ince" kelimesinden türetilen, 16 kDa ağırlığında 167 aminoasitten oluşan bir hormondur (17).

### **1.2.1. Leptinin Yapısal Özellikleri**

Leptin, Ob (obezite) geni tarafından üretilmektedir (17). Ob geni sıçanların 6. kromozomunda bulunmaktadır. Bu gen iki intron kısımları ile ayrılan, üç ekzondan (ekzon 1, ekzon 2, ekzon 3) oluşmaktadır. Ob genini kodlayan bölge 2. ve 3. ekzonda bulunur ve bu ekzonlar glutamin-49 ile serin-50 kodonları arasına yerleşik olan 2,3 kb intron tarafından ayrılır (18, 19). Ob geni insanlarda ise 7. kromozomun uzun kolunun 3. bölgesinde (7q31) bulunmaktadır (20, 21). Bu gen yaklaşık olarak 20 kb bir alan kaplar ve kemirici hayvanlarda olduğu gibi üç ekzon ve bunları ayıran iki introndan meydana gelir (20, 22). Bu ekzonlardan 2. ve 3. s. 167 aminosaitlik pro-hormon formu için kodlanmış bölge ihtiva etmektedir. Translasyondan sonra oluşan 167 aminoasitten, 21 aminoasitlik sinyal zincirinin, leptinin hücreden salınmadan önce ayrılmasıyla 146 aminoasitten oluşan ve 16 kDa aktif bir leptin proteini dolaşıma geçer (23, 24).

### **1.2.2. Leptin Salınımı**

Leptin esas olarak beyaz yağ dokusundan, az miktarda kahverengi yağ dokusundan sentezlenmektedir (1, 25). Son yıllarda yapılan çalışmalarda plasenta, göbek kordonu (26, 27), endometriyum (28), iskelet kası, meme bezi (29), testis, ovaryum (30), hipofiz (31) ve mide (32, 33) gibi çeşitli doku ve organlardan da salgılandığı tespit edilmiştir.

Leptin kemiricilerde nokdurnal (gece sekresyon) ve diurnal (gündüz sekresyon) ritimlerle salgılanırken (34); insanlarda sirkadien (24 saatlik sekresyon) ritimde ve pulsatil (aralıklı sekresyon) olarak salgılanmaktadır. Leptin puls sıklığı

32 dakikada bir ve puls süresi 33 dakikadır. Bu hormon gece özellikle de saat 4.00 de pik yapmakta gündüz saatlerinde ise düşük seviyelerde seyretmektedir (35, 36) (37). Bu şekilde uyku boyunca, akşam yemeği ve kahvaltı arasında geçen uzun sürede açlık hissini bastırıldığı ileri sürülmüştür

Leptin düzeyinin ana belirleyicisi vücut yağ kitlesi ve vücut kitle indeksi (VKİ) olsa da (38, 39), birçok faktör leptinin düzenlenmesinde rol almaktadır. Glikoz, insülin (40), kortizol (41), prolaktin (42), östrojen (43, 44) leptin sentezini artırırken; tip 1 diabetes mellitus, tiroid hormonları (45), büyüme hormonu (46), somatostatin (47), serbest yağ asitleri (48), katekolaminler (49) ve soğuğa maruz kalma ise sentezi azaltmaktadır (50). Bununla birlikte insanlarda ve hayvanlarda açlık, vücut yağ kitlesini değiştirmeden, serum leptin düzeyini düşürür. Yüksek miktarda kalori alımı da leptin seviyesini belirgin miktarda artırır.

### 1.2.3. Leptin Reseptörleri

Ob geninin klonlanmasından yaklaşık bir yıl sonra (1995) leptin reseptörü (obezite reseptörü) tanımlanmıştır (51). Leptin reseptör (Lep-R) ekspresyonu ilk olarak hipotalamusta, doyma merkezinde ve koroid pleksusta gösterilmiştir (51), daha sonraki yıllarda pankreasın Langerhans adacıkları (52), böbrekler (53), adren medullasının epinefrin salgılayan hücreleri (54), plasenta (55), kalp, akciğer, karaciğer, kas, dalak, timus, prostat, testisler, ovaryumlar (56), ince bağırsaklar (57) ve kolon (58) gibi pek çok periferel dokuda da tespit edilmiştir.

Leptin reseptörü sitokin reseptor ailesinin bir üyesi olup db (diyabet) geni tarafından kodlanır (59). Leptin reseptörüne ait bir tanesi uzun (Lep-Rb) ve beş tanesi kısa (Lep-Ra,c,d,f,e) olmak üzere toplam altı adet izoformu bulunmaktadır (60). Leptin reseptörlerinin genelde tek ekstrasellüler leptin bağlama bölgesi varken intrasellüler bölgeleri birbirinden farklıdır. Lep-Rb en uzun yapıları olanıdır ve leptin sinyal iletimi için gerekli motifleri (DNA sekansındaki örnek kısım) içeren sitoplazmik bölgeye sahiptir (61, 62). Kısa leptin reseptörleri ise Lep-Rb reseptörünün sahip olduğu sitoplazmik motiflerin bir kısmına ya da tamamına sahip değildirler. (61, 63). Lep-Ra izoformu beyindeki koroid pleksusta eksprese edilmekte ve leptin kan beyin bariyerini bu reseptör aracılığıyla aktif taşıma ile geçmektedir (51). Lep-Re'nin ise transellüler ve intrasellüler kısımları bulunmaz, (64) çözelti halinde olan bu Lep-Re izoformu leptinin kanda taşınması ile ilgilidir (65). Diğer reseptör izoformlarının fonksiyonları tam olarak aydınlatılamamakla

birlikte bu reseptörlerin de leptinin kan beyin bariyerini geçişinde rol aldıkları ya da diğer hücre yüzeyi proteinleri ile heterodimerler oluşturdukları düşünülmektedir (66).

Leptin reseptörünün intrasellüler parçası, janus kinaz-2 enzimi (bir tirozin kinazdır) ile sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktive edici STAT (signal transducer and activator of transcription) proteinlerini içerir (44, 67, 68). Leptinin reseptöre bağlanması, hem reseptörlerde hem de reseptörlerle ilişkili janus kinazlarda (JAK) değişimi indükler. Bu olayla reseptörün hücre içi uzantısının tirozin (Y) bölgeleri JAK-2 aracılığı ile fosforile olarak STAT proteinlerinin bağlanabileceği bölgeler oluşturur. Daha sonra STAT proteinleri hem reseptörlere hem de dimer oluşturmak üzere başka bir STAT proteine bağlanır. Fosforilasyondan sonra STAT proteinlerindeki tirozin bölgeleri reseptörden ve dimerlerden ayrılır. Bu şekilde aktive olan STAT proteinleri çekirdek içine girerek DNA'daki yanıtal bölgeye bağlanır ve hedef genlerin transkripsiyonunu uyarır (69).

#### **1.2.4. Leptin, Leptin Reptörleri ve Mide Bağırsak Kanalı**

Leptinin iştah ve kilo artışıdaki rolü dikkate alındığında, gıdaların sindirim ve emilim yeri olan mide bağırsak kanalında leptin ve reseptörünün önemi büyüktür. Midede leptinin varlığı ilk kez Bado ve arkadaşları tarafından ratlarda fundus bölgesindeki bez epitel hücrelerinde gösterilmiş ve daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda insanlarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (32).

Gastrik leptin hem ekzokrin hem de endokrin olarak salgılanmaktadır. Fundus bezinde bulunan prensipal hücreler pepsinojen ile birlikte leptin hormonunu salgılamaktadır (70). Pariyetal hücrelerinden de az miktarda leptin hormonu salgılanmakla birlikte asıl ekzokrin leptin kaynağı prensipal hücrelerdir (71). Gıda alımını takiben bu hücreler tarafından salgılanan leptin, kısa süre içerisinde mide enzimleri ile birlikte mide içeriğine verilir (70). Leptin salgılayan diğer bir hücre ise mide bezleri arasında lokalize olan endokrin karakterde küçük hücrelerdir. Kılcal damarlarla sıkı ilişki içinde olan bu hücrelerden leptin kan dolaşımına geçer. Leptinin midedeki sekresyonu; gıda alımı, bağırsak hormonları (kolesitokinin, sekretin ve pentagastrin) (32, 72) ve N. vagus tarafından salgılanan asetil kolin (73) aracılığıyla düzenlenmekte ve böylece alınan gıda miktarı kısa sürede kontrol edilebilmektedir.

Mide içeriğinde ekzokrin leptin varlığı mide bağırsak kanalı boyunca leptin reseptörünün lokalizasyonuna işaret etmektedir. Leptin reseptörünün fundus bezlerinin prensipal ve pariyetal hücrelerinde (71); ince bağırsakların villus ve kripte epitel hücrelerin de lokalize olduğu bilinmektedir. Leptin reseptörü ince bağırsak epitel hücrelerinin sitoplazmasında; apikal ve bazolateral membranında ekspresyon olduğu bildirilmiştir (70, 74). Mide içeriğindeki leptin (32) kimus içinde bir proteine ya da yapı olarak Ob-Re homoloğu olan çözünür haldeki leptin reseptörüne bağlanıp, mide içeriğinin zararlı etkisinden korunarak ince bağırsaklara ulaşır (75) ve epitel hücrelerinin apikal membranındaki leptin reseptörlerine bağlanır (74). Bağırsak epitel hücrelerinin bazolateral membranında lokalize olan leptin reseptörlerine ise endokrin leptin bağlanarak parakrin etki gösterirler (74). Yapılan çalışmalar, leptin hormonunun bir büyüme faktörü gibi ince bağırsak uzunluğunu ve mukozal kalınlığını arttırdığını; bağırsak emilim fonksiyonlarında rol oynadığını göstermektedir (76, 77). Yağ ağırlıklı beslenmelerde leptin, jejunumdaki epitel hücrelerinden hızlı bir şekilde APO-AV1 (Apolipoprotein A1V) mRNA transkripsiyonunu düşürerek, Lep-Rb ve STAT5 mekanizmaları vasıtasıyla jejunumda yağların sindirimini azaltır (57); ekzokrin lipazın sentez, aktivite ve sekresyonunu (78) düşürerek de yağların sindirim ve emilimini minimize eder. Bu şekilde leptin kısa sürede enerji dengesinin korunmasına yardımcı olur. Leptin ayrıca ince bağırsaklarda sodyum-glukoz geçiş aktivitesini engelleyerek, glukozun emilimini hızlı bir şekilde inhibe eder (79). Leptin hormonunun proteinlerin emilimi üzerine düzenleyici etkisi vardır. Bağırsak protein taşıyıcısı PepT1'in ve leptin reseptörlerinin, Caco 2 hücre hatlarında ve rat bağırsak mukozal hücrelerinde ekspresyonu bilinmektedir. Bu hücrelerde PepT1 aracılığıyla gerçekleşen bağırsak peptid geçişinin kontrolü ekzokrin leptin ile ilişkilidir. Ekzokrin leptin, PepT1 aracılığıyla oligopeptidlerin bağırsaktan emilim hızını artırır (80). Ayrıca kedilerde yapılan deneysel bir çalışmada kolesistokininin varlığında bağırsak kontraksiyonlarını da arttırdığı gösterilmiştir (81).

### **1.2.5. Leptin ve Obezite**

Vücut ağırlığının uzun süreli kontrolünde hipofajik bir hormon olan leptin, iştah azaltıcı ve enerji tüketimini arttırıcı etkisini hipotalamustaki reseptörlere bağlanarak gösterir. Hipotalamusta başlıca etkilediği yerler arkuat nükleus (AN), ventromedial



hipotalamus (VMH), paraventrikuler nükleus (PVN), lateral hipotalamus (LH), ventral preamiller nükleus (VMN) ve dorsomedial nükleus (DMN)'tur (82, 83).

Dolaşımdaki leptin kan beyin bariyerini plazma seviyelerine orantılı bir şekilde aktif olarak geçerek hipotalamusa ulaşır. Başta AN olmak üzere diğer hipotalamik nükleuslardaki spesifik leptin reseptörlerine bağlanarak neuropeptid Y (NPY) gibi iştah ile sıkı bir ilişkiye sahip nöropeptidlerin salgılanmasını azaltır. (84-87). Ancak leptin yetersizliği veya reseptörlerindeki bir direnç(duyarsızlık) sonucu hipotalamusta NPY üretimi ve salgılanması artar; buna bağlı olarak da fazla gıda alımıyla birlikte obezite şekillenir (88, 89).

Leptin hormonunun hipotalamusta, AgRP (Agouti-Related Peptide) ve oreksin gibi besin alımını uyaran ajanları baskılayarak veya  $\alpha$ MSH, ( $\alpha$ -melanosit stimulan hormone), CART (Cocaine-Amphetamine-Regulated Transcript), CRH (corticotrophe release hormone) gibi iştah baskılayan faktörlerin yapımını uyarak besin alımını da azalttığı bilinmektedir (90, 91).

Farelerde ob geninde meydana gelen ob /ob homozigot mutasyonu sonucunda leptin eksikliği meydana gelir. Bu farelerde doyma hissi oluşmaz ve hiperfaji görülür; sonuçta obezite, insülin direnci ve infertilite gelişebilir. Günlük leptin enjeksiyonlarıyla bu farelerde zamana ve doza bağlı olarak bu olumsuzlukların normale döndüğü görülmüştür (92, 93, 94, 95). Obezite ve diyabete neden olan db / db gen mutasyonuna bağlı olarak leptin duyarsızlığı gelişen ratlarda ise leptin uygulamalarının bir etkisi olmadığı bildirilmiştir (19, 96, 97). Obez insanlarda leptin geninde henüz farelerdeki gibi bir mutasyon saptanamasa da, serum leptin konsantrasyonları, vücut kitle indeksi ve vücut yağ kitlesi ile doğru orantı göstermektedir (84,98). Obez insanların büyük çoğunluğunda serum leptin konsantrasyonları yüksektir ve kilo kaybıyla serum leptin seviyesi tekrar azalır (99). Yapılan çalışmalar obez bireylerde serumdaki leptin'in büyük kısmının serbest formda olduğunu göstermiştir. Obez insanlarda plazmada serbest leptin formunun artışının tespit edilmesi, obezite gelişiminde asıl sorunun leptin eksikliğinden değil, hipotalamik reseptörlerin duyarsızlığından kaynaklandığını göstermektedir (100, 22).

### **1.2.6. Leptin, Leptin Reseptör ve Östrojen**

Beslenme ve kilo alımının kontrolünde steroid hormonlarının dolayısıyla cinsiyet farklılıklarının önemi büyüktür. Östrojen, yağ hücrelerinde bulunan reseptörleri

vasıtasıyla obezite (ob) gen transkripsiyonunu etkileyerek (101) leptin hormonunun üretiminde değişikliklere yol açmaktadır. Menopoz öncesi dönemde kadınların, erkeklerden ve menopoz sonrası kadınlardan daha fazla serum leptin düzeyine sahip oldukları bildirilmiştir (102). Benzer olarak menopoz sonrası kadınlara östrojen hormonunun verilmesinin omental yağ dokudan daha fazla leptin sentezlenmesine neden olduğu saptanmıştır (103, 104).

Östrojenin, hipotalamik paraventrikular nükleustan NPY salımını azaltarak anorektik bir etkiye de sebep olduğu görülmüştür. (87). Kadınlar, yetişkin dişi rat ve fareler östrojen salgılanmasında ki sıklık değişikliklerin kontrolü altında ovaryum sikluslarının proöstrus ve östrus safhasında diğer safhalara göre daha az yedikleri; hem östrojen hem de progesteron seviyelerinin yüksek olduğu; luteal fazda ise bayanların daha fazla şeker tükettikleri gözlenmiştir (105). Benzer olarak, menopoza giren bayanların vücut ağırlığında ve yağ kütlesinde artış (106) aynı zamanda vücut yağ dağılımında da değişiklikler meydana gelmektedir (107). Kedilerde (108) ve köpeklerde de (109) benzer şekilde ovarektomiye izleyen süreçte gıda alımının artmasına bağlı olarak vücut ağırlığında çoğunlukla da vücut yağında artış gözlenmiştir. Bu nedenle kedi ve köpeklerde ovarektomi, obezitenin şekillenmesinde önemli bir faktör olarak görülmüş ve daha çok diyetle ayarlamalar yapılarak bu sorun ortadan kaldırılmaya çalışılmıştır.

Östrojen hormon eksikliği hipotalamusta NPY üretimini artırırken aynı zamanda merkezi leptin duyarsızlığına yol açarak obeziteye neden olmaktadır (10-12). Leptin duyarsızlığının nedeni, leptin reseptörlerinde ve post-reseptör fonksiyonunda bir bozukluğun ve/veya leptin hormonunun kan-beyin bariyerini geçişini sağlayan taşıyıcı proteinlerin fonksiyonlarındaki bir aksaklığın şekillenmesidir (113, 114). Dolayısıyla ratlarda yapılan çalışmalar, östrojen eksikliğinin beyinde Ob-R mRNA (110) seviyesini düşürdüğünü, hipotalamusta (110, 115) ve dorsal gangliyonda (116) ve yağ dokularında (115,117) Ob-Rb protein ve mRNA ekspresyonunu, azalttığını göstermiştir. Farede yapılan bir çalışmada ise ovariektomi sonrası kandan beyine leptin transportunun azaldığı gözlenmiştir (111). Düvelerde yapılan çalışmada da endometriyum, meme yağ dokusu gibi östrojene yanıt veren dokularda östrojen hormonunun leptin ve reseptörünün ekspresyonunu azaltırken; hipotalamus, karaciğer, kas ve subkutan yağ dokularında bir değişikliğe neden olmamıştır (118). Kanatlılarda cinsel olgunluk sırasında birçok dokuda cOb-R mRNA ekspresyonunda değişiklik

olmazken; bağırsaklardaki ekspresyonu artmaktadır. Ayrıca östrojen uygulanması bağırsaklarda cOb-R mRNA ekspresyonunu artırırken diğer dokulardaki ekspresyonunu değiştirmemesi; östrojenin kanatlı ince bağırsaklarında leptin reseptör ekspresyonun düzenlenmesiyle de ilişkili olduğunu, gonadal ve metabolik fonksiyonlar arasında korelasyonun varlığını göstermektedir (119).

Leptin ve reseptörünün mide bağırsak kanalının fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli role sahip olduğu bilinmesine rağmen, bu fonksiyonların düzenlenmesinde östrojen hormonu ile leptin reseptörü arasındaki ilişkinin gösterildiği, memelilerde yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamaktadır.

Hayvanlarda ovariektomize sonucu gözlenen obezitenin etiyolojisinde ince bağırsakların önemli rol oynadığını, steroid hormonlarının özellikle östrojen hormonunun etkisinin ortadan kalkması sonucu ince bağırsaklarda lokalize olan leptin reseptörlerinin ekspresyon derecesinin, dolayısıyla duyarlılığının azalacağını, buna bağlı olarak da normal bağırsak fonksiyonlarının etkilenebileceğini ve gıdadan yararlanma düzeyinde oluşabileceğini düşünöyoruz.

Çalışmamızda bu hipotezimiz üzerine incelemeler yaparak obezitenin etiyolojisine katkıda bulunmayı amaçladık.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Gereç

#### 2.1.1. Hayvan

Araştırmada Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Deney Hayvanları Ünitesinden elde edilen 6 aylık, 36 adet Sprague Dawley dişi rat (sıçan) kullanıldı. Araştırma öncesi ratlara genel anestezi(21,1 mg/kg ketamin ve 4,2 mg/kg ksilazinin ip) altında ovariektomi yapıldı. Anestezi uygulandıktan sonra ratların alt abdomen bölgesi tıraş edilerek ensizyonla batına girildi. Fallop tüpleri ve ovaryumlar bulundu ve 2.0 ipek iplik ile bilateral tüpler bağlanarak ovaryumlar çıkarıldı. Ratlara operasyon sonrası beş gün 60 000 IU/gün Penisilin G (Pfizer) i.m.uygulandı.

**Tablo 2.1.** Araştırmada kontrol ve östrojen grubu ratlarına uygulanan deneysel prosedür.

Grup	Alt Grup <sup>1</sup>	Uygulama	Deneyin Sonlandırılması
Kontrol	K18	0.2 ml/rat Susam yağı	Uygulama sonrası 18. saat
	K90	0.2 ml/rat/gün (3 gün) Susam yağı	Son uygulamadan 18 saat sonra
	K162	0.2 ml/rat/gün (6 gün) Susam yağı	Son uygulamadan 18 saat sonra
Östrojen	Ö18	25 µg/rat/gün 17 β- östrodiol	Uygulama sonrası 18. saat
	Ö90	25 µg/rat/gün (3 gün) 17 β-östrodiol	Son uygulamadan 18 saat sonra
	Ö162	25 µg/rat/gün (6 gün) 17 β-östrodiol	Son uygulamadan 18 saat sonra
K18: Kontrol 18 saat, Ö18: Östrojen 18 saat, K90: Kontrol 90 saat, Ö90: Östrojen 90 saat, K162: Kontrol 162 saat, Ö162: Östrojen 162 saat			

Ovariektomiden bir hafta sonra ratlar kontrol (n=18) ve östrojen (n=18) olmak üzere iki ana gruba ayrıldı. Östrojenin süreye bağımlı etkisini değerlendirmek için östrojen grubu 18. saat östrojen grubu (Ö18), 90. saat östrojen grubu (Ö90), 162. saat östrojen grubu (Ö162); benzer şekilde kontrol grubu da 18. saat kontrol grubu

(K18), 90. saat kontrol grubu (K90), 162. saat kontrol grubu (K162) olmak üzere 3'erli alt gruplara ayrıldı; aynı gün susam yağı ve 17  $\beta$ -östrodiol uygulanmaya başlandı.

Gruplarda uygulanan deney protokolü tablo 2.1'de özetlenmiştir. Buna göre;

Birinci kontrol grubuna tek doz 0.2 ml/rat susam yağı i.m. uygulandı (18. saat kontrol grubu; K18).

İkinci kontrol grubuna üç doz 0.2 ml/rat/gün susam yağı i.m. uygulandı (90 saat kontrol grubu; K90).

Üçüncü kontrol grubuna altı doz 0.2 ml/rat/gün susam yağı i.m. uygulandı (162 saat kontrol grubu; K162).

Birinci östrojen grubuna tek doz 25  $\mu$ g/rat/gün 17  $\beta$ -östrodiol i.m. uygulandı (18. saat östrojen grubu; Ö18).

İkinci östrojen grubuna üç doz 25  $\mu$ g/rat/gün 17  $\beta$ -östrodiol i.m. uygulandı (90. saat östrojen grubu; Ö90).

Üçüncü östrojen grubuna altı doz 25  $\mu$ g/rat/gün 17  $\beta$ -östrodiol i.m. uygulandı (162. saat östrojen grubu; Ö162).

Gruplarda ratlar genel anesteziye alındıktan sonra etik kurallara uygun olarak (AKÜ.HEK. 49-07) boyun eklemlerinden disloke edilerek öldürüldü. Batın açılarak ince bağırsak dokusundan 2-3 cm'lik (duodenumun poksimal, jejunum ve ileumun orta kısmı) örnekler alındı

### 2.1.2. Cihazlar

Mikrotom	Leica RM2155
Su Banyosu	Leica HI1210
Etüv	Nüve EN 500
Parafin Tankı	Leica E61120
Mikrodalga fırın	Arçelik İnterwire
Buz Dolabı	Indesit S46
Hassas Terazı	Precisa XB220A
Mikroskop	Olympus CX41
Fotoğraf Makinası	Olympus L-5060
Ph Metre	InoLab WTW Series

### 2.1.3. Tespit ve Doku Takibinde Kullanılan Kimyasallar

#### Kimyasallar

%37 Formaldehit	Merck
Sodyum dihidrojen fosfat	Merck
Disodium hidrojen fosfat	Merck
%100 Alkol	Merck
%96 Alkol	Tekel
%80 Alkol	Tekel
%70 Alkol	Tekel
%50 Alkol	Tekel
Xylene	Merck
Parafin (56°C-58°C)	Merck
Polylysine	Sigma
Distile Su	

### 2.1.3.1. Tespit ve Doku Takibinde Kullanılan Solüsyonların Hazırlanışı

#### Nötr Formol Tespit Solüsyonu

%37 Formaldehit	100 ml
Distile su	900 ml
Sodium dihidrojen fosfat	4 gr
Disodium hidrojen fosfat	4,5 gr

#### %80 Alkol

%96 Alkol	80 ml
Distile Su	16 ml

#### %70 Alkol

%96 Alkol	70 ml
Distile Su	26 ml

#### %50 Alkol

%96 Alkol	50 ml
Distile Su	46 ml

#### **2.1.4. İmmunohistokimyasal Yöntemde Kullanılan Gereçler**

İmmunohistokimyasal yöntem olarak İndirekt Streptavidin-Biotin Peroksidaz yöntemi uygulandı.

Antijen retrieval için (Zymed Laboratories Inc. 00-5000, 20x konsantre) sitrat buffer solüsyonu,

Endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için metanol ile hazırlanmış (best kimyasalları) + %35'lik hidrojen peroksid solüsyonu

Antikor dilüent ( Zymed 00-3118) solüsyonu,

Primer antikor (Ob-R) (Santa Cruz Biotechnology M-18, sc-1834 goat poliklonal antikor),

Sekonder antikor olarak ise biyotinlenmiş anti-rabbit, anti-mouse ve anti-goat immunglobilin; (LSAB + Kit, HRP) (Universal Dakocytomation LSAB<sup>®</sup> + Kit, Peroksidase K0690),

Enzim olarak taşıyıcı protein ve antimikrobiyel ajan içeren PBS'de streptavidin ile konjuge edilmiş Horseradish Peroxidase enzimi (LSAB + Kit, HRP) (Universal Dakocytomation LSAB<sup>®</sup> + Kit, Peroksidase K0690),

Substrat-kromojen (Zymed 00-2020 DAB 3-3 diaminobenzidin) solüsyonu,

Yıkama solüsyonu olarak da PBS (Zymed 00-3002)

Zıt boyama için Haris hematoksilen kullanıldı.

##### **2.1.4.1. İmmunohistokimyasal Yöntemde Kullanılan Solüsyonların Hazırlanışı**

###### **Sitrat Buffer Solüsyonu**

Konsantre Sitrat Buffer Solüsyonu Distile su ile 20 kat sulandırıldı.

###### **Hidrojen Peroksit - Metanol Solüsyonu**

1 ml %35'lik hidrojen peroksit + 9ml metanol karıştırıldı.

###### **Primer Antikor (Ob-R)**

Primer antikor, 1:25 oranında antikor dilüent solüsyonu ile dilue edildi

###### **Substrat- Kromojen Solüsyonu**

1 ml distile suya Zymed 00-2020 DAB 3-3 diaminobenzidin'in 1, 2, 3 nolu solüsyonlarından birer damla damlatılarak hazırlandı.

### **Harris Hematoksilen**

Hematoxylin crystals.....	5.0 gm
Alcohol, 100%.....	50.0 ml
Potasyum alum.....	100.0 gm
Distilled water .....	1000.0 ml
Mercuric oxide (red).....	2.5 gm

Hematoksilen alkol içinde; potasyum alum sıcak distile su içinde eritildi. Isıtma işlemi bırakılarak iki solüsyon karıştırıldı ve bu karışımın hemen kaynama noktasına gelmesi sağlandı. Daha sonra karışım ateşten alınıp üzerine yavaşça civa oksit ilave edildi. Su içerisinde menekşe mor rengi alana kadar soğutularak boya hazır hale getirildi (120).

## **2.2. Yöntem**

### **2.2.1. Dokuların Alınması**

Hayvanlar genel anestezi altında servikal dislokasyon yöntemiyle öldürüldükten sonra, batin uygun şekilde açılarak sırasıyla duodenumun proksimal, jejunumun ve ileumun orta kısımlarından 2-3 cm'lik örnekler alınarak serum fizyolojik solüsyonu ile yıkandı.

### **2.2.2. Tespit, Doku Takibi ve Kesit Alma**

Dokular %10'luk nötr formolde 72 saat tespit edildi. Dokular, bir gece akarsuda yıkandıktan sonra, dereceli alkol serisinden geçirilerek suyu giderildi (dehidrasyon).

- %50 Alkol X 1 saat
- %70 Alkol X 1 saat
- %80 Alkol X 1 saat
- %96 Alkol X 1 saat
- %100 Alkol X 1 saat
- %100 Alkol X 1 saat
- Xylol'de Parlatıldı
- Xylol 1 X 1 Saat
- Xylol 2 X 1 Saat
- Xylol 3 X 1 Saat



56°C-58°C'de eriyen parafinin xylol ile yer değiştirerek dokuya nüfuz etmesi sağlandı.

Xylol/Parafin (1:1) X 1 saat

Parafin 1 X 1 saat

Parafin 2 X 1 saat

Dokular Parafine gömüldü

Mikrotom ile 5 µ'luk kesitler alındı.

Polylizine kaplı lamlara çekildi.

Oda ısısında kurumaya bırakıldı.

### **2.2.3. İmmunohistokimyasal Boyama**

Xylol ile parafini giderilen ve dereceli alkollerden geçirilen doku kesitleri distile suda bekletildi.

Xylol 3 X 5 dakika

%100 Alkol 2 X 3 dk

%96 Alkol 3 dk

%80 Alkol 3 dk

%70 Alkol 3 dk

%50 Alkol 3 dk

Distile Su 2X3 dk

### **Antijen retrieval (antijenlerin açığa çıkarılması)**

Antijen retrieval için preparatlar, distile su ile 20 kat konsantre edilmiş sitrat buffer solüsyonuna alındı ve 700°C'lik mikrodalga fırında 5'er dakikalık sürelerde 5 kez (5 X 5) tutuldu.

### **Preparatların Soğutulması**

Mikrodalga fırından çıkarılan preparatlar soğutulmak amacıyla oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi.

### **PBS ile Yıkama**

Preparatlar PBS ile 3 X 5 dakika yıkandı.

### **Endojen peroksit aktivitesinin giderilmesi**

Endojen peroksit aktivitesini gidermek için, % 10'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'de preparatlar 10 dakika inkübe edildi.

#### **PBS ile Yıkama**

Preparatlar PBS ile 3 X 5 dakika yıkandı.

#### **Kesitlerin Etrafının Sınırlandırılması**

Lamin üzerindeki kesitlerin etrafı pap pen ile çizildi.

#### **Antikor Dilüsyonu**

Goat poliklonal Ob-R primer antikor, antibody diliuent (Zymed) ile 1/25 oranında dilüe edildi.

#### **Preperatlara Antikor Uygulaması**

Normal preparatlara 1/25 oranında sulandırılmış primer antikor, (Santa Cruz) negatif kontrol preparatlarına ise PBS konuldu.

#### **İnkübasyon**

Prepatlar nemli ortamı sağlayan bir kap içerisine yerleştirilerek + 4 °C'de 1 gece (18 saat) inkübe edildi.

#### **PBS ile Yıkama**

Preparatlar PBS ile 3 X 5 dakika yıkandı.

#### **Sekonder Antikor Uygulaması**

Preparatlar biotinlenmiş sekonder antikor (DAKO kit) ile oda sıcaklığında 25 dakika inkübe edildi.

#### **PBS ile Yıkama**

Preparatlar PBS ile 3 X 5 dakika yıkandı.

#### **Horseradish Peroxidase Enzim Uygulaması**

Streptavidin-HRP (DAKO kit) ile preparatlar oda sıcaklığında 25 dakika inkübe edildi.

**PBS ile Yıkama**

Preparatlar PBS ile 3 X 5 dakika yıkandı.

**Substrat-Kromojen Uygulaması**

Preparatlar DAB substrat-kromojen solüsyonunda (Zymed) 3 dakika tutuldu.

**Distile Su ile Yıkama**

Distile su ile yıkandı.

**Zıt Boyama**

Boyama öncesinde preparatlar distile su içinde 5 dakika tutuldu

Harris Hemotoksilen ile 25 saniye zıt boyama yapıldı.

**Akarsu ile Yıkama**

5 dk akarsu altında yıkandı

**23- Distile suda yıkandı**

5 dk Distile su ile yıkandı

**24- Alkol Serilerinden Geçirilmesi**

% 96 Alkol 2 X 3 dk

% 100 Alkol 2 X 3 dk

**25- Ksilolde Parlatılma**

Xylol 1 X 5 dk

Xylol 2 X 10 dk

Xylol 3 X 15 dk

**26- Kapatma**

Boyanan kesitler entellan ile kapatıldı.

### **2.3. Değerlendirme**

İmmunohistokimyasal değerlendirme; hedef dokunun boyanıp boyanmamasına, boyamanın karakterine (nükleer ya da sitoplazmik), hedef doku yapılarının hangi bölümlerinin boyandığına ve oluşan boyanma yoğunluğuna bakılarak yapıldı. Değerlendirme iki bağımsız gözlemci tarafından, boyanmama (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanama (++) , şiddetli boyanma (+++) özelliklerine göre 0'dan 3'e kadar değerler verilerek yapıldı (121).

### **2.4. İstatistiksel Analiz**

İmmunohistokimyasal değerlendirme sonucu elde edilen verilerin ortalama ve standart hata değerleri bulunarak gruplar arasındaki farklılıkların istatistiki açıdan önem gösterip göstermediği belirlendi. Östrojen ve kontrol gruplarının verileri non-parametrik Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Güven düzeyini göstermede  $p \leq 0.05$  için \* simgesi kullanıldı. Çalışmanın istatistiksel analizleri SPSS 10.0 (Statistical Package For Social Sciences) programı kullanılarak yapıldı

### 3. BULGULAR

#### Duodenumda Leptin Reseptör İmmunoreaksiyonu

Duodenumun villus ve kript epitellerinin apikal sitoplazmasında, Brunner bez epitel hücrelerinde, bağ doku hücrelerinde ve az sayıda goblet hücresinde leptin reseptör immunreaksiyonu gözlemlendi.

#### Duodenumda 18. saatte leptin reseptörlerinin immunohistokimyasal skorlama sonuçları

Kontrol grubunun 18. saatinde, duodenumun villus epitelinde negatif, kriptlerin dip kısımlarındaki epitel hücrelerinde negatif ya da zayıf bir reaksiyon gözlemlendi (Şekil 3.1 A, B). Östrojen grubunda villus epitel hücrelerinde ve kriptlerin orta ve üst kısımlarındaki epitel hücrelerinde zayıf, dip kısımlarındaki epitel hücrelerinin bazılarında ise orta şiddette bir reaksiyon belirlendi (Şekil 3.2 A, B). 18. saatte kontrol ve östrojen grubunda duodenumun Brunner bezlerinde zayıf ile orta arasında değişen şiddette bir immunreaksiyon gözlemlendi (Şekil 3.1 A, B).

**Tablo 3.1** Duodenumda 18. saatte leptin reseptörünün immunohistokimyasal skorlama sonuçları.

	K18	Ö18	P
Villus	0.00 ± 0.00	0.66 ± 0.33	0.217
Kript	0.83 ± 0.60	2.16 ± 0.60	0.127
Brunner bezi	1.50 ± 0.28	1.66 ± 0.33	0.637

K18: Kontrol 18 saat, Ö18: Östrojen 18 saat

P değeri Mann–Whitney U-test kullanılarak belirlendi.

18. saatte duodenumda leptin reseptörlerinin immunohistokimyasal skorlama sonuçları tablo 3.1’de gösterilmiştir. Kontrol ve östrojen grubunda sırasıyla villuslarda  $0.00 \pm 0.00$ ,  $0.66 \pm 0.33$ ; kriptlerde  $0.83 \pm 0.60$ ,  $2.16 \pm 0.60$ ; Brunner bezlerinde  $1.50 \pm 0.28$ ,  $1.66 \pm 0.33$  verileri elde edildi. Gruplar arasında villus, kript ve Brunner bez epitel hücrelerindeki reaksiyonun şiddeti yönünden istatistiki bir önem saptanmadı.

### **Duodenumda 90. saatte leptin reseptörlerinin immunohistokimyasal skorlama sonuçları**

Kontrol grubunun 90. saatinde duodenumun villus epitel hücrelerinde negatif, kript epitel hücrelerinde ise negatif, ara sıra çok zayıf bir reaksiyon gözlenirken (Şekil 3.3 A, B), östrojen grubunda villus epitel hücrelerinde zayıf, kript epitel hücrelerinde ise orta şiddette bir immunreaksiyon belirlendi. 90. saatte kontrol ve östrojen grubunda duodenumun Brunner bezlerinde zayıf ile orta arasında değişen şiddette bir ekspresyon gözlemlendi (Şekil 3.4 A, B).

**Tablo 3.2** Duodenumda 90. saatte leptin reseptörünün immunohistokimyasal skorlama sonuçları.

	K90	Ö90	P
Villus	0.00±0.00	0.80 ± 0.20	0.040*
Kript	0.33 ± 0.33	1.90 ± 0.40	0.046*
Brunner bezleri	1.50 ± 0.28	1.50 ± 0.50	0.817

K90: Kontrol 90 saat, Ö90: Östrojen 90 saat

\*Gruplar arasında P<0.05 düzeyinde önemlilik Mann–Whitney U-test kullanılarak belirlendi.

90. saatte duodenumda leptin reseptörlerinin immunohistokimyasal skorlama sonuçları tablo 3.2’de gösterilmiştir. Kontrol ve östrojen grubunda sırasıyla villuslarda 0.00 ± 0.00, 0.80 ± 0.20; kriplerde 0.33 ± 0.33, 1.90 ± 0.40; Brunner bezlerinde 1.50 ± 0.28, 1.50 ± 0.50 verileri elde edildi. Grupların villus ve kript epitel hücrelerindeki leptin reseptör immunreaksiyon şiddetleri arasında p<0,05 düzeyinde fark tespit edildi. Brunner bez epitel hücrelerinde ise immunreaksiyonun şiddeti yönünden istatistiksel bir önem saptanmadı.

### **Duodenumda 162. saatte leptin reseptörlerinin immunohistokimyasal skorlama sonuçları**

Kontrol grubunun 162. saatinde duodenumun villus epitel hücrelerinde negatif ile çok zayıf arasında değişen bir immunreaksiyon gözlenirken; östrojen grubunda villus epitel hücrelerinde zayıf bir reaksiyon saptandı. Kontrol grubunda duodenum kriptlerinin orta ve üst kısımlarındaki epitel hücrelerinde negatif ile zayıf arasında değişen bir reaksiyon belirlenirken; dip kısımlarındaki epitel hücrelerinde zayıf, ara ara orta şiddette bir immunreaksiyon gözlemlendi. Östrojen grubunda

kriptlerin dip taraflarında ki bazı epitel hücrelerinin orta şiddette, kriptlerin orta ve üst kısımlarındaki epitel hücrelerinin ise negatif ya da zayıf şiddette boyandığı saptandı. Brunner bez epitel hücrelerinde zayıftan orta şiddete değişen leptin reseptör ekspresyonu belirlendi (Şekil 3.5 A, B; 3.6 A, B ).

**Tablo 3.3** Duodenumda 162. saatte leptin reseptörünün immunohistokimyasal skorlama sonuçları.

	K162	Ö162	P
Villus	0.25±0.25	1.00 ± 0.00	0.025*
Kript	0.50 ± 0.28	1.10 ± 0.10	0.079
Brunner bezleri	1.50 ± 0.28	1.87 ± 0.12	0.317

K162: Kontrol 162 saat, Ö162: Östrojen 162 saat  
\*Gruplar arasında P<0.05 düzeyinde önemlilik Mann–Whitney U-test kullanılarak belirlendi.

Duodenum 162. saatte leptin reseptörlerinin immunohistokimyasal skorlama sonuçları tablo 3.3’de gösterilmiştir. Kontrol ve östrojen grubunda sırasıyla villuslarda 0.25 ± 0.25, 1.00 ± 0.00; kriplerde 0.50 ± 0.28, 1.70 ± 0.30 verileri elde edildi. Gruplar arasında kriplerdeki immunreaksiyon şiddeti yönünden istatistiki bir fark gözlenmezken, villus epitel hücrelerinde ekspresyon şiddeti bakımından p<0,05 düzeyinde bir önem belirlendi. Brunner bez epitel hücrelerindeki immunreaksiyonun şiddeti yönünden istatistiki bir önem saptanmadı.

### **Jejenumda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu**

Jejenumun villus ve kript epitellerinin apikal sitoplazmasında, bağ doku hücrelerinde ve az sayıda goblet hücresinde leptin reseptör immunreaksiyonu gözlemlendi.

### **Jejenumda 18. Saatte Leptin Reseptörlerinin İmmunohistokimyasal Skorlama Sonuçları**

Kontrol grubunun 18. saatinde jejenumun villus epitel hücrelerinde negatif, kript epitel hücrelerinde negatif; ara sıra zayıf reaksiyon gözlemlendi (Şekil-3.7 A, B). Östrojen grubunda villus epitel hücrelerinde negatif, kript epitelinin orta ve üst kısımlarında negatif ya da zayıf dip kısımlarında ise orta şiddette immunreaksiyon gözlemlendi (Şekil 3.8 A, B).

**Tablo 3.4** Jejenumda 18. saatte leptin reseptörünün immunohistokimyasal skorlama sonuçları.

	K18	Ö18	P
Villus	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	1.000
Kript	0.33 ± 0.33	1.33 ± 0.33	0.099

Ö18: Kontrol 18 saat, Ö18: Östrojen 18 saat  
P değeri Mann–Whitney U-test kullanılarak belirlendi.

Jejenum 18 saatte leptin reseptörlerinin immunhistokimyasal skorlama sonuçları tablo 3.6’da gösterilmiştir. Kontrol ve östrojen grubunda sırasıyla villuslarda  $0.00 \pm 0.00$ ,  $0.00 \pm 0.000$ ; kriplerde  $0.33 \pm 0.33$ ,  $1.33 \pm 0.33$  verileri elde edildi. Gruplar arasında villus ve kript epitel hücrelerindeki immunreaksiyonun şiddeti yönünden gruplar arasında istatistiki bir fark saptanmadı.

### **Jejenumda 90. Saatte Leptin Reseptörlerinin İmmunohistokimyasal Skorlama Sonuçları**

Kontrol grubunun 90. saatinde jejenumun villus epitel hücrelerinde zayıf bir reaksiyon gözlenirken, kriptlerin epitel hücrelerinde negatif ya da zayıf, dip kısımlardaki bazı epitel hücrelerinde ise orta şiddette bir immunreaksiyon belirlendi (Şekil-3.9 A, B). Östrojen grubunun villus epitel hücrelerinde zayıftan şiddetliye değişen bir reaksiyon saptanırken; kriptlerin orta ve üst epitel hücrelerinde orta derecede, dip kısımlardaki bazı epitel hücrelerinde ise şiddetli bir reaksiyon gözlemlendi (Şekil 3.10 A, B).

**Tablo 3.5** Jejenumda 90. saate leptin reseptörlerinin immunohistokimyasal skorlama sonuçları

	K90	Ö90	P
Villus	0.50 ± 0.28	1.70 ± 0.30	0.039*
Kript	0.62 ± 0.23	2.00 ± 0.31	0.022*

K90: Kontrol 90 saat, Ö90: Östrojen 90 saat  
\*Gruplar arasında  $P < 0.05$  düzeyinde önemlilik Mann–Whitney U-test kullanılarak belirlendi.

Jejenum 90. saatte leptin reseptörlerinin immunhistokimyasal skorlama sonuçları tablo 3.7’da gösterilmiştir. Kontrol ve östrojen grubunda sırasıyla villuslarda  $0.50 \pm 0.28$ ,  $1.70 \pm 0.30$ ; kriplerde  $0.62 \pm 0.23$ ,  $2.00 \pm 0.31$  verileri elde



edildi. Grupların villus ve kript epitel hücrelerindeki leptin reseptör ekspresyon şiddetleri arasında  $p < 0,05$  düzeyinde fark belirlendi.

### **Jejenumda 162. Saatte Leptin Reseptörlerinin İmmunohistokimyasal Skorlama Sonuçları**

Kontrol grubunun 162. saatinde jejenumun villus epitel hücreleri negatif boyanırken, östrojen grubunun villus epitel hücrelerinde zayıf ile orta arasında değişen şiddette bir reaksiyon saptandı. Kontrol grubu kript epitel hücrelerinde zayıf bir reaksiyon görülürken, östrojen grubunda kript epitel hücrelerinde orta şiddette bir ekspresyon belirlendi. (Şekil 3.11 A, B; 3.12 A, B).

**Tablo 3.6** Jejenumda 162. saatte leptin reseptörünün immunohistokimyasal skorlama sonuçları.

	K162	Ö162	P
Villus	0.00±0.00	1.60 ± 0.40	0.180
Kript	0.75 ± 0.25	1.70 ± 0.30	0.059

K162: Kontrol 162 saat, Ö162: Östrojen 162 saat  
P değeri Mann–Whitney U-test kullanılarak belirlendi.

Jejenum 90. saatte leptin reseptörlerinin immunohistokimyasal skorlama sonuçları tablo 3.8’de gösterilmiştir. Kontrol ve östrojen grubunda sırasıyla villuslarda  $0.00 \pm 0.00$ ,  $0.60 \pm 0.40$ ; kriplerde  $0.75 \pm 0.25$ ,  $1.70 \pm 0.30$  verileri elde edildi. Villus ve kript epitel hücrelerindeki immunreaksiyonun şiddeti yönünden gruplar arasında istatistiki bir fark saptanmadı.

### **İleum Dokusunda Leptin Reseptör İmmunreaksiyonu**

İleumun villus ve kript epitellerinin apikal sitoplazmasında, bağ dokusu hücrelerinde ve az sayıda goblet hücresinde leptin reseptör immunreaksiyonu gözlemlendi.

### **İleumda 18. Saate Leptin Reseptörlerinin İmmunohistokimyasal Skorlama Sonuçları**

Kontrol grubunun 18. saatinde ileumun villus ve kript epitel hücrelerinde negatif bir reaksiyon gözlemlendi (Şekil 3.13 A, B). Östrojen grubunda villus epitel hücrelerinde

orta şiddette bir reaksiyon; kript epitelinin genelinde zayıf, dip kısımlarındaki bazı epitel hücrelerinde ise orta şiddette bir immunreaksiyon saptandı (Şekil 3.14 A, B).

**Tablo 3.7** İleum dokusunda 18. saat kontrol ve östrojen grubunda leptin reseptör immunohistokimyasal skorlama sonuçları.

	K18	Ö18	P
Villus	0.00±0.00	2.00±0.40	0.026*
Kript	0.00±0.00	1.50±0.28	0.025*

Ö18: Kontrol 18 saat, Ö18: Östrojen 18 saat  
\*Gruplar arasında P<0.05 düzeyinde önemlilik Mann–Whitney U-test kullanılarak belirlendi.

İleum 18. saatte leptin reseptörlerinin immunhistokimyasal skorlama sonuçları tablo 3.9’da gösterilmiştir. Kontrol ve östrojen grubunda sırasıyla villuslarda 0.00 ± 0.00, 2.00 ± 0.40; kriplerde 0.00 ± 0.00, 1.50 ± 0.28 verileri elde edildi. Villus ve kript epitel hücrelerindeki immunreaksiyonun şiddeti yönünden gruplar arasında p<0,05 düzeyinde fark belirlendi

### İleumda 90. Saate Leptin reseptörlerinin İmmunohistokimyasal Skorlama Sonuçları

İleum dokusunda 90. saatte kontrol ve östrojen gruplarının villus epitel hücrelerinde negatif ile zayıf arasında değişen bir immunreaksiyon gözlemlendi. Kontrol ve östrojen gruplarında kriptlerin sadece dip kısımlarda ki epitel hücrelerinde orta ile şiddetli arasında değişen bir reaksiyon belirlendi (Şekil 3.15 A, B; 3.16 A, B).

**Tablo 3.8** İleumda 90. saate leptin reseptörlerinin immunohistokimyasal skorlama sonuçları

	K90	Ö90	P
Villus	0.33±0.33	0.50±0.28	0.683
Kript	2.33±0.33	2.50±0.28	0.683

K90: Kontrol 90 saat, Ö90: Östrojen 90 saat  
\*Gruplar arasında P<0.05 düzeyinde önemlilik Mann–Whitney U-test kullanılarak belirlendi.

İleum 90. saatte leptin reseptörlerinin immunhistokimyasal skorlama sonuçları tablo 3.10’da gösterilmiştir. Kontrol ve östrojen grubunda sırasıyla

villuslarda  $0.33 \pm 0.33$ ,  $0.50 \pm 0.28$ ; kriplerde  $2.33 \pm 0.33$ ,  $2.50 \pm 0.28$  verileri elde edildi. Villus ve kript epitel hücrelerindeki immunreaksiyonun şiddeti yönünden gruplar arasında istatistiki bir fark saptanmadı.

### **İleumda 162. Saate Leptin Reseptörlerinin İmmunohistokimyasal Skorlama Sonuçları**

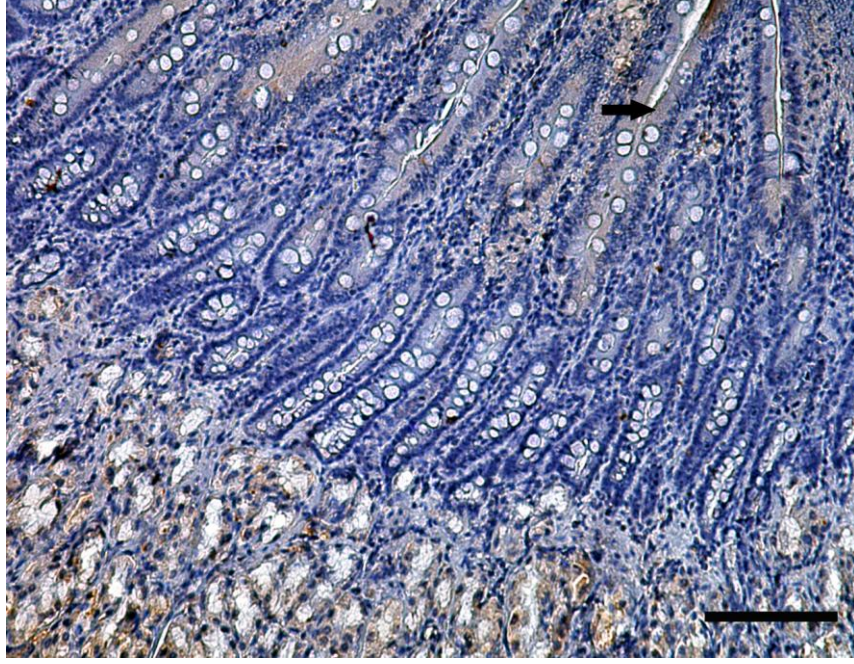
Kontrol grubunun 162. saatinde, ileum dokusunun villus epitel hücrelerinde zayıf, yer yer orta; kript epitelinde ise çok zayıf şiddette bir immunreaksiyon saptandı (Şekil: 3.17 A, B). Östrojen grubunda villus epitel hücrelerinde negatif ya da çok zayıf; kriptlerin sadece dip kısımlarını döşeyen epitel hücrelerinde ise orta şiddette bir immunreaksiyon belirlendi (Şekil: 3.18 B).

**Tablo 3.9** İleum dokusunda 162. saatte leptin reseptörünün immunohistokimyasal skorlama sonuçları.

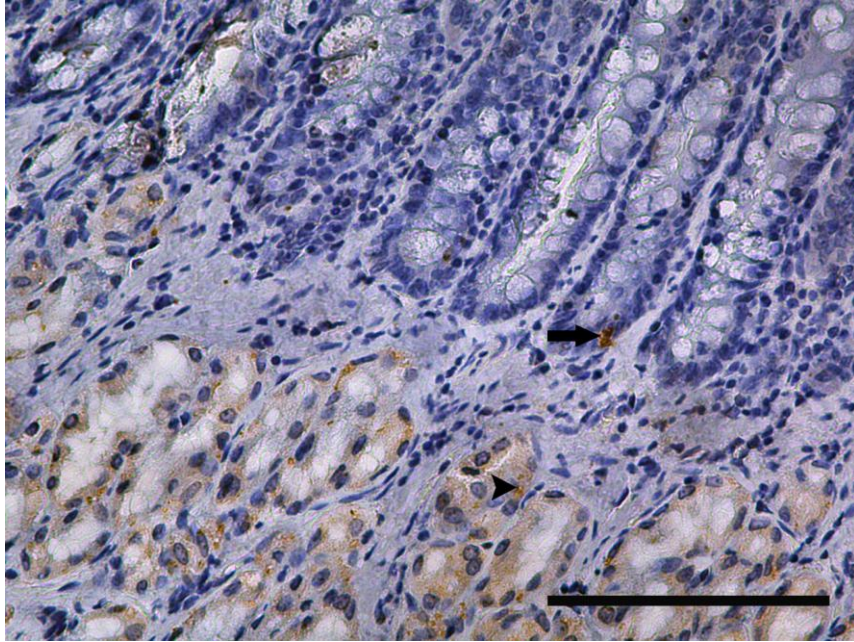
	K162	Ö162	P
Villus	1.00±0.20	0.33±0.33	0.138
Kript	0.75±0.25	2.00±0.00	0.128

K162: Kontrol 162 saat, Ö162: Östrojen 162 saat  
\*Gruplar arasında  $P < 0.05$  düzeyinde önemlilik Mann–Whitney U-test kullanılarak belirlendi.

İleum 162. saatte leptin reseptörlerinin immunhistokimyasal skorlama sonuçları tablo 3.11’de gösterilmiştir. Kontrol ve östrojen grubunda sırasıyla villuslarda  $1.00 \pm 0.20$ ,  $0.33 \pm 0.33$ ; kriplerde  $0.75 \pm 0.25$ ,  $2.00 \pm 0.00$  verileri elde edildi. Villus ve kript epitel hücrelerindeki immunreaksiyonun şiddeti yönünden gruplar arasında istatistiki bir fark saptanmadı.

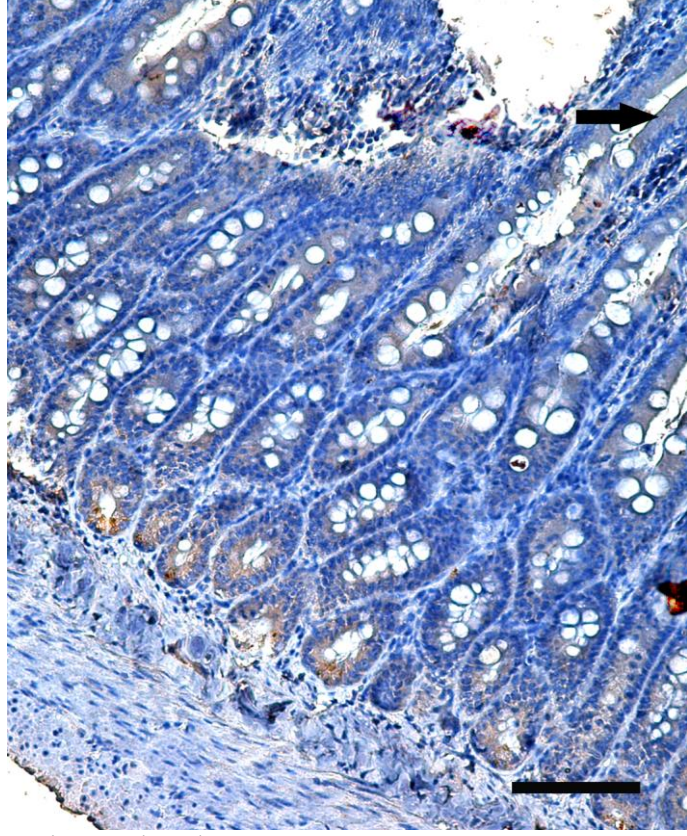


**Şekil 3.1 A:** Kontrol grubunda 18. saatte, sıçan duodenum dokusunun villus epitel hücrelerinde (ok) negatif Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.

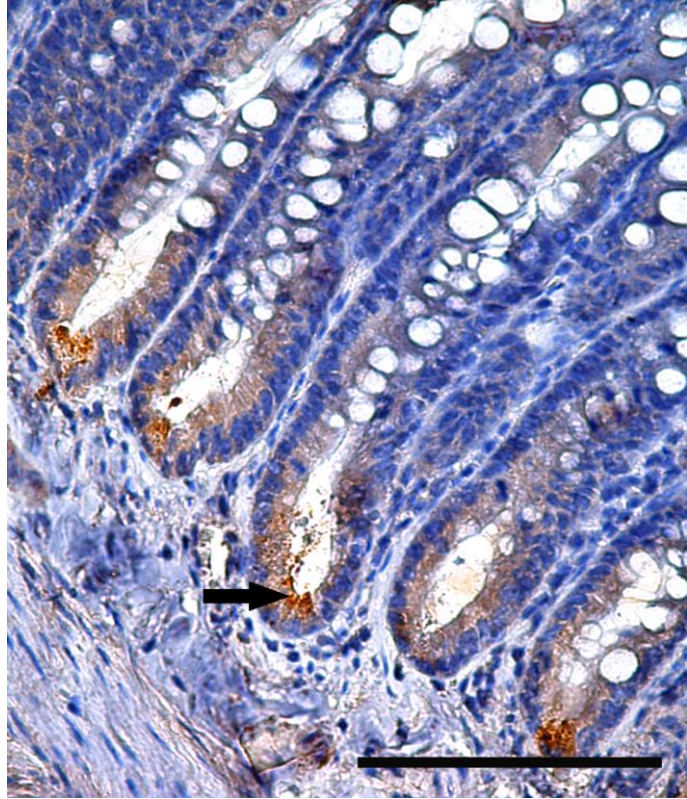


**Şekil 3.1 B:** Kontrol grubunda 18. saatte, sıçan duodenum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) ve Brunner bezlerinde (ok başı) orta şiddette Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.



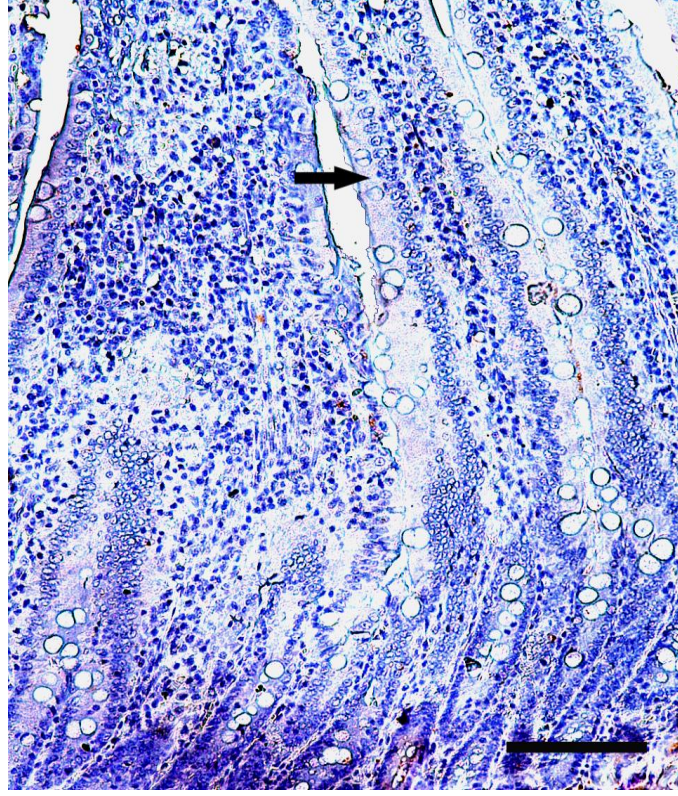


**Şekil 3.2 A:** Östrojen grubunda 18. saatte, sıçan duodenum dokusunun villus epitel hücrelerinde (ok) zayıf şiddette Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.

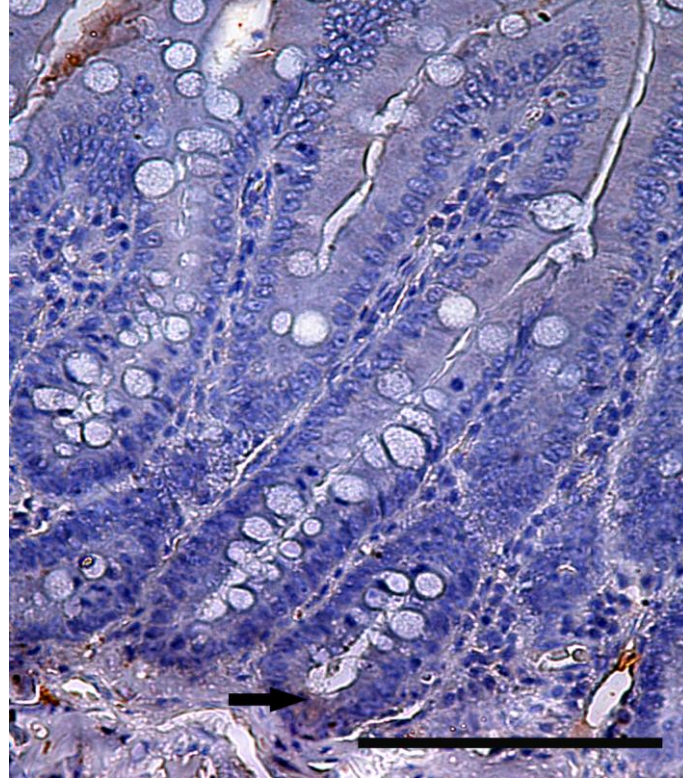


**Şekil 3.2 B:** Östrojen grubunda 18. saatte, sıçan duodenum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) orta şiddette Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.



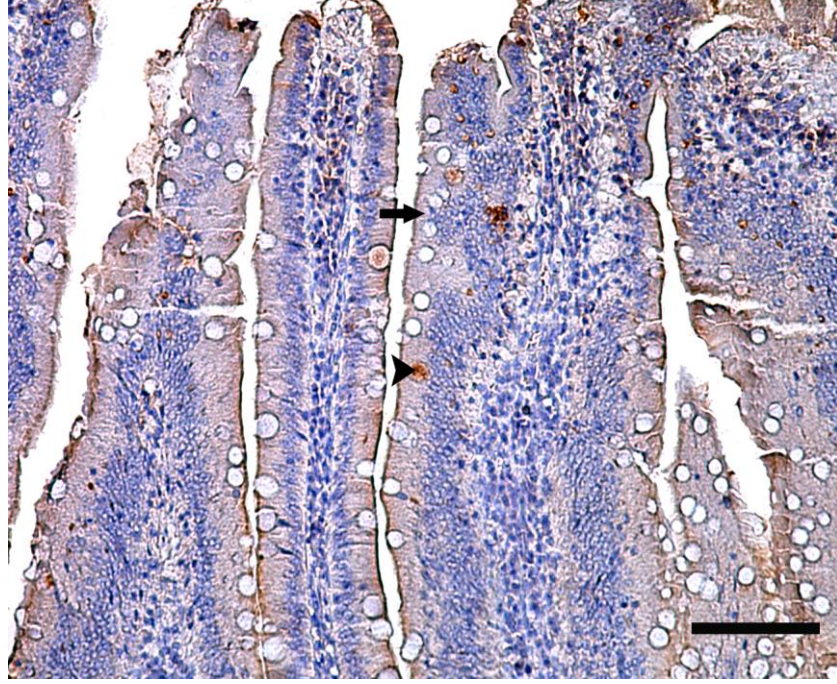


**Şekil 3.3 A:** Kontrol grubunda 90. saatte, sıçan duodenum dokusunun villus epitel hücrelerinde (ok) negatif Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.

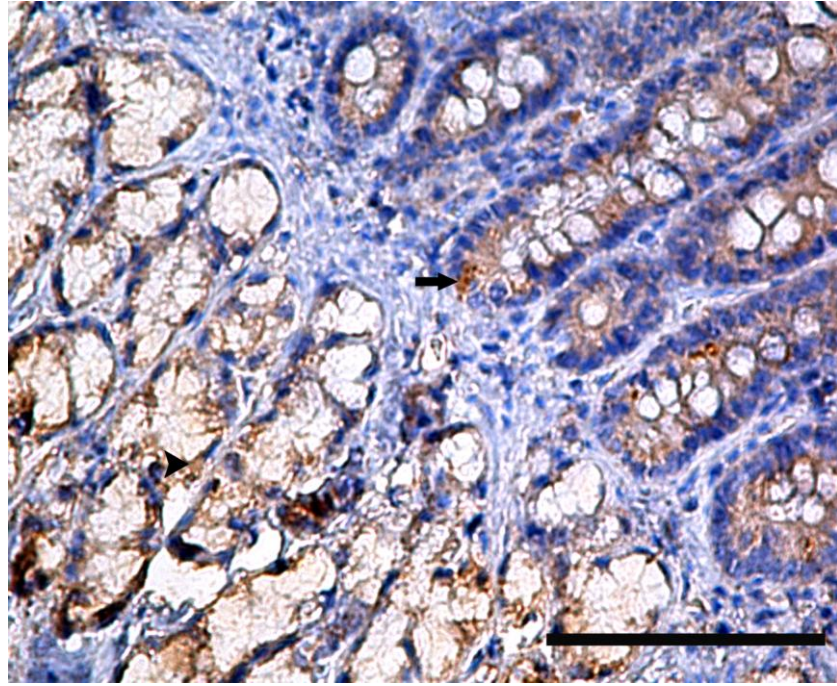


**Şekil 3.3 B:** Kontrol grubunda 90. saatte, sıçan duodenum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) çok zayıf şiddette Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.



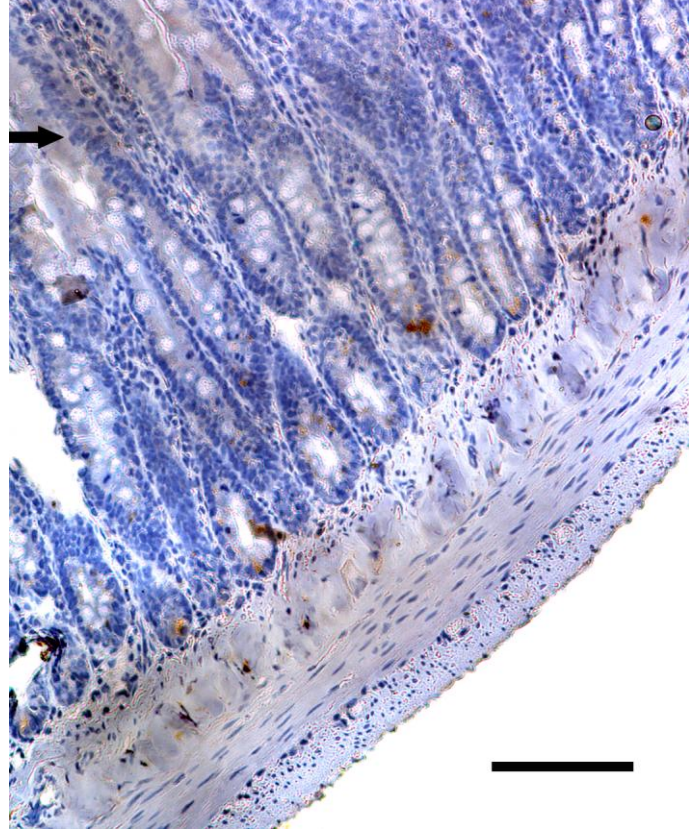


**Şekil 3.4 A:** Östrojen grubunda 90. saatte, sıçan duodenum dokusunun villus epitel hücrelerinde (ok) zayıf şiddette ve Goblet hücrelerinde (ok başı) Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 = bar 100 mikron.

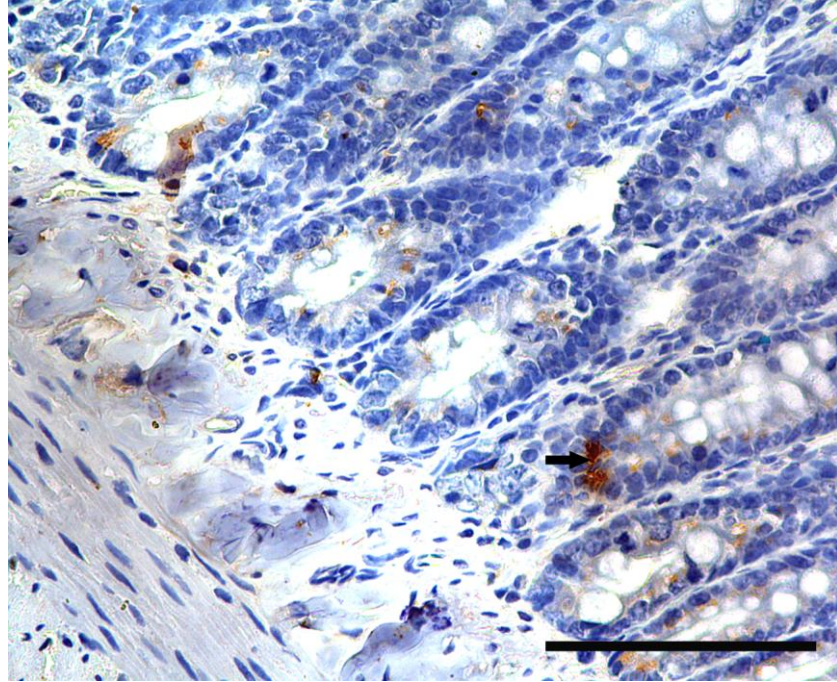


**Şekil 3.4 B:** Östrojen grubunda 90. saatte, sıçan duodenum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) ve Brunner bezlerinde (ok başı) orta şiddette Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar =100 mikron.



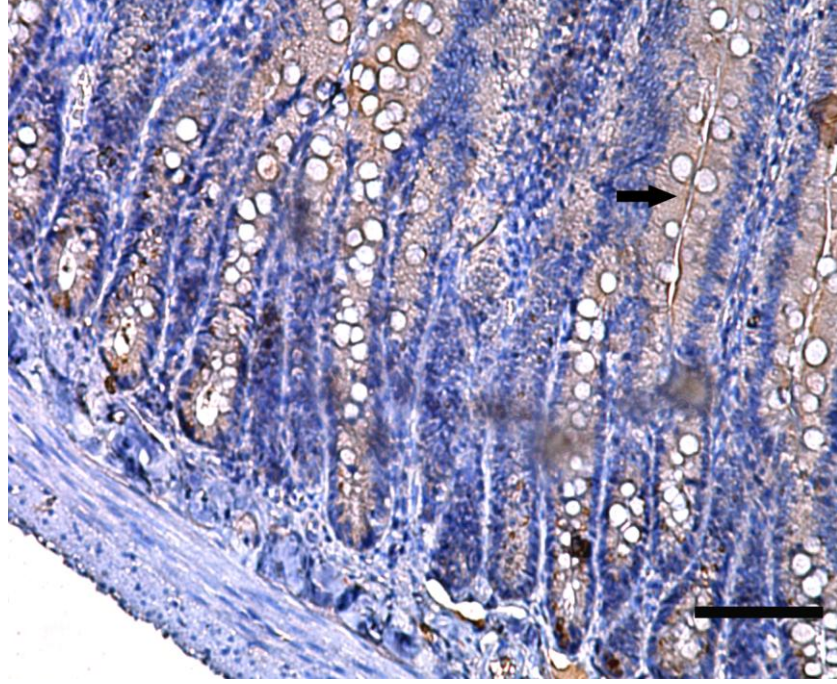


**Şekil 3.5 A:** Kontrol grubunda 162. saatte, sıçan duodenum dokusunun villus epitel hücrelerinde (ok) çok zayıf şiddette Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.

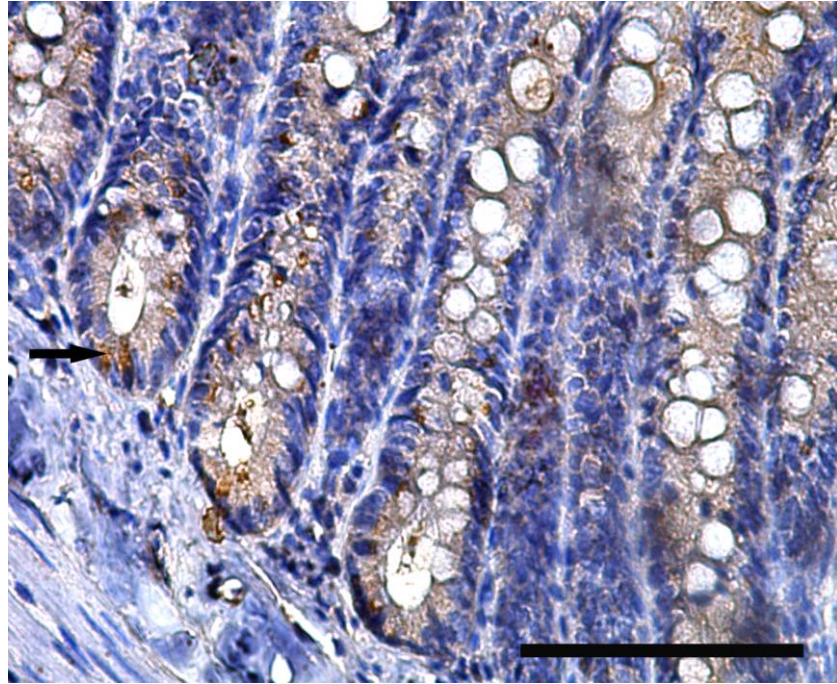


**Şekil 3.5 B:** Kontrol grubunda 162. saatte, sıçan duodenum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) orta şiddette Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.



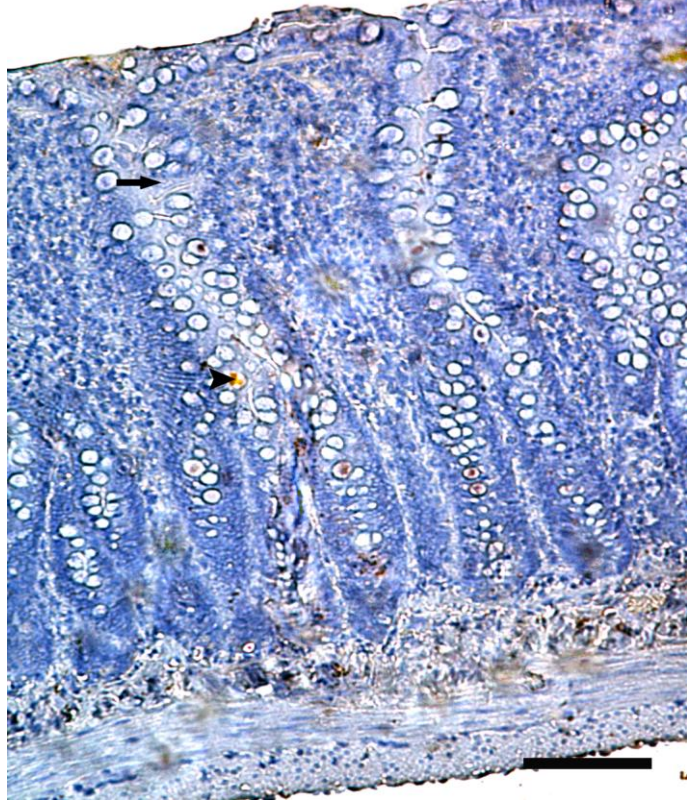


**Şekil 3.6 A:** Östrojen grubunda 162. saatte, sıçan duodenum dokusunun villus epitel hücrelerinde (ok) zayıf şiddette Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.

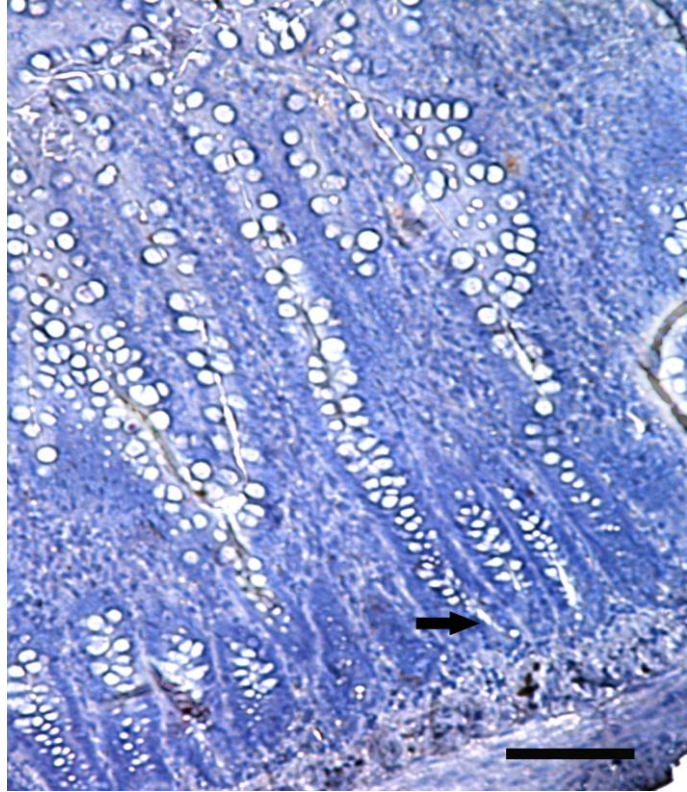


**Şekil 3.6 B:** Östrojen grubunda 162. saatte, sıçan duodenum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) orta şiddette Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.



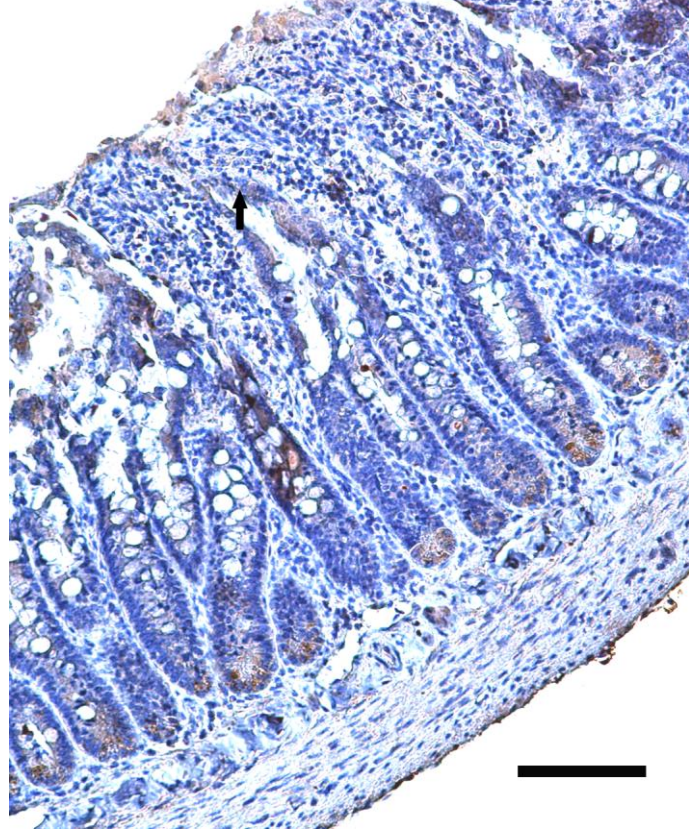


**Şekil 3.7 A:** Kontrol grubunda 18. saatte, sıçan jejunum dokusunun villus epitel hücrelerinde (ok) negatif ve Goblet hücrelerinde (ok başı) Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.

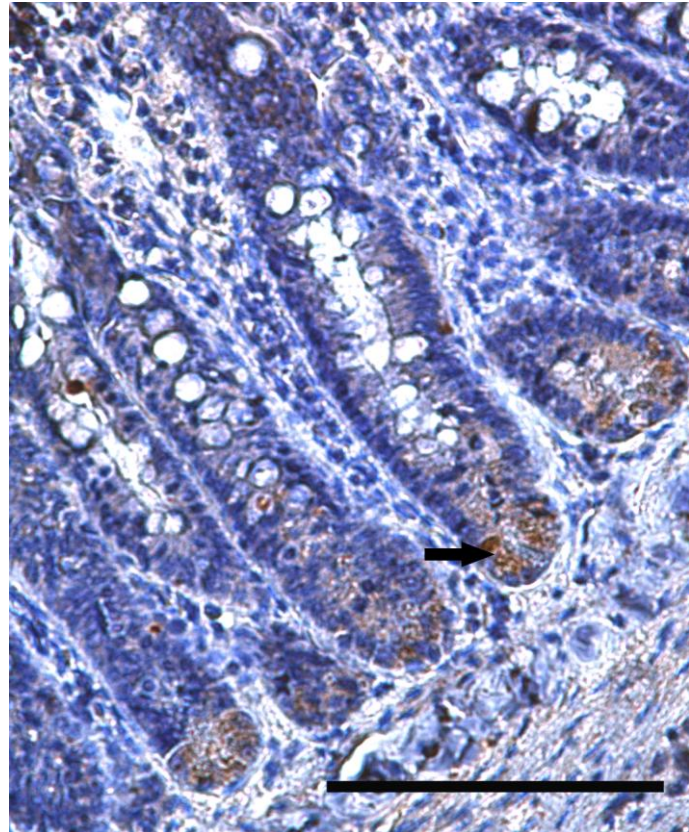


**Şekil 3.7 B:** Kontrol grubunda 18. saatte, sıçan jejunum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) negatif Lep-R immunreaksiyon, SBP, 1 bar = 100 mikron.



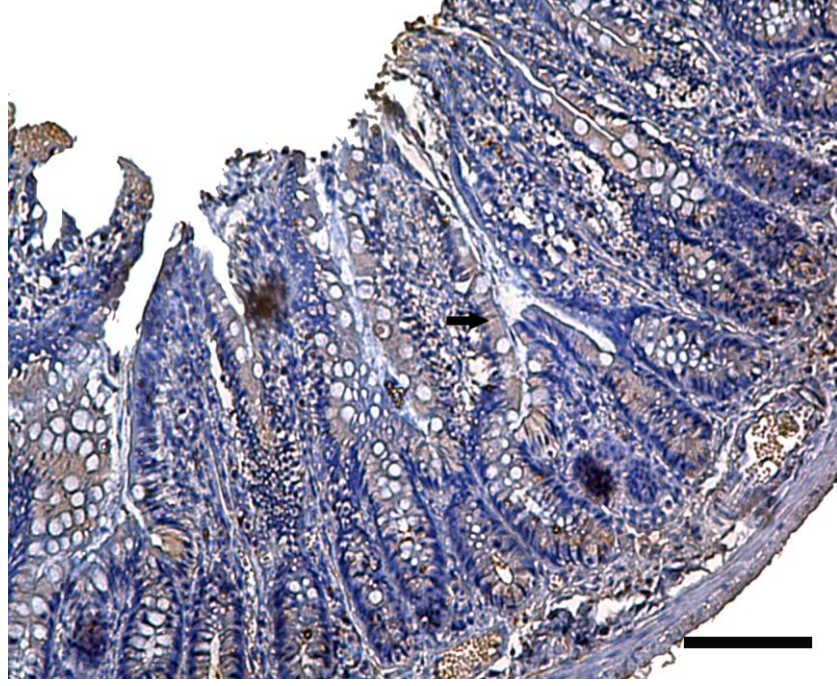


**Şekil 3.8 A:** Östrojen grubunda 18. saatte, sıçan jejunum dokusunun villus epitel hücrelerinde (ok) negatif Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.

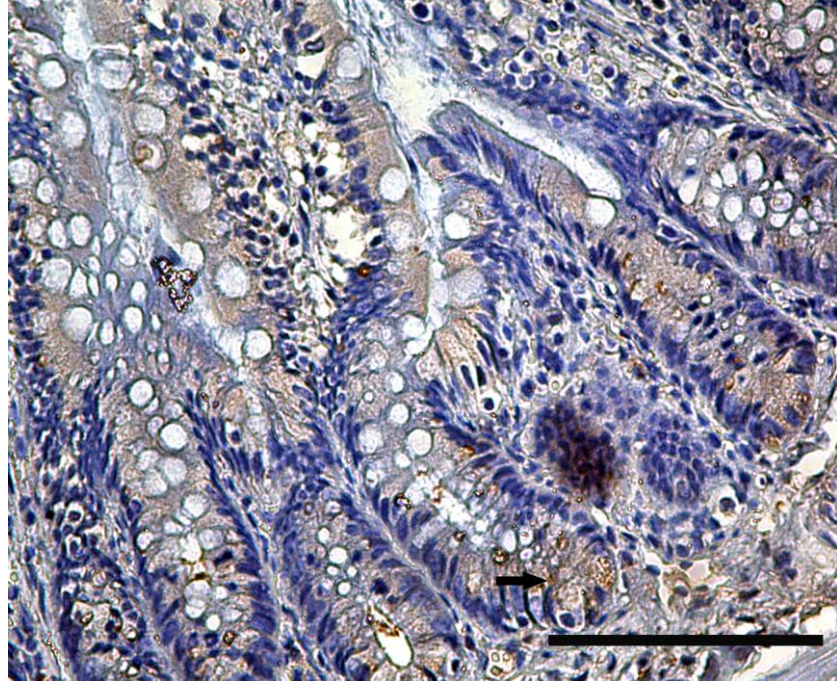


**Şekil 3.8 B:** Östrojen grubunda 18. saatte, sıçan jejunum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) orta şiddette Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.



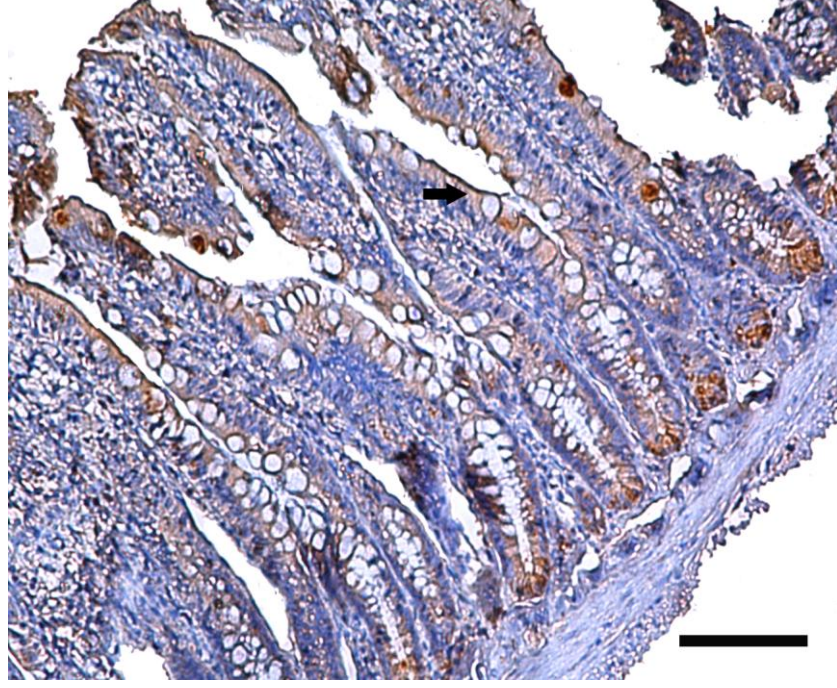


**Şekil 3.9 A:** Kontrol grubunda 90. saatte, sıçan jejenum dokusunun villus epitel hücrelerinde (ok) zayıf şiddette Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.

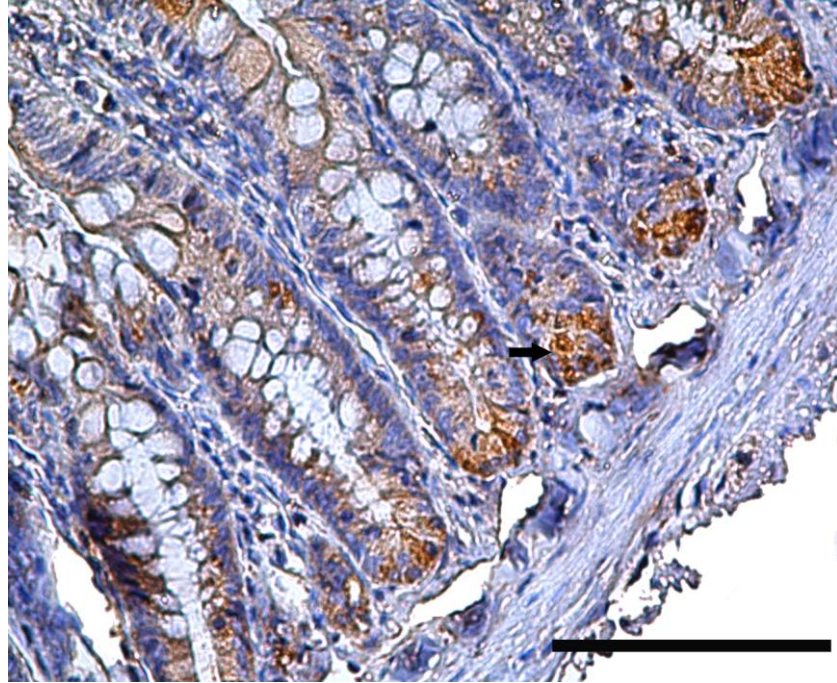


**Şekil 3.9 B:** Kontrol grubunda 90. saatte, sıçan jejenum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) orta şiddette Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.



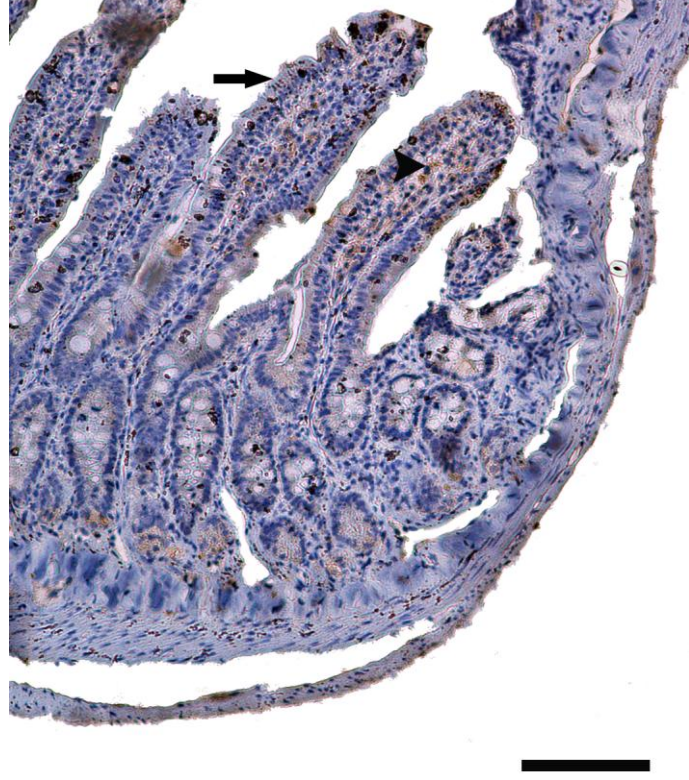


**Şekil 3.10 A:** Östrojen grubunda 90. saatte, sıçan jejenum dokusunun villus epitel hücrelerinde (ok) orta şiddette Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar =100 mikron.

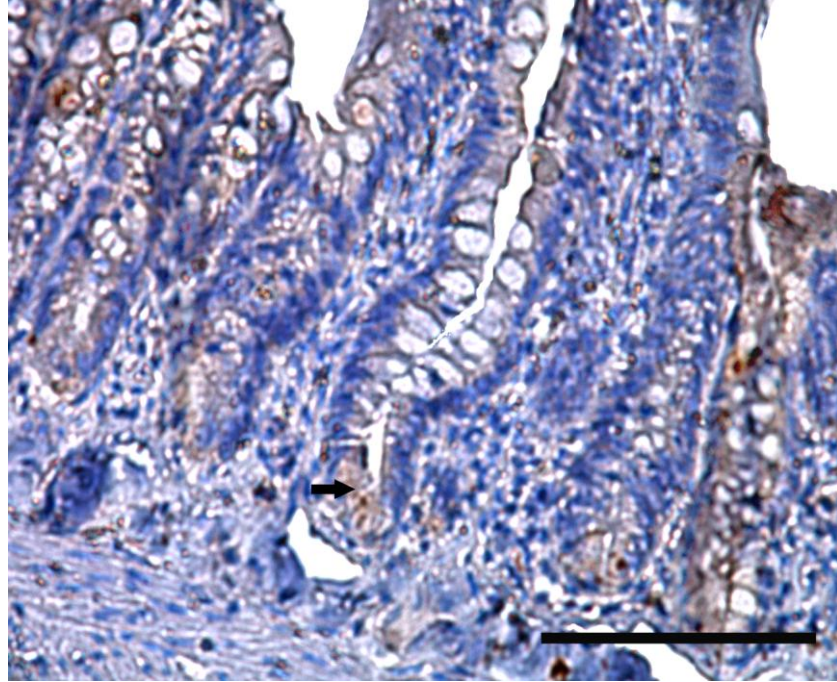


**Şekil 3.10 B:** Östrojen grubunda 90. saatte, sıçan jejenum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) şiddetli Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.



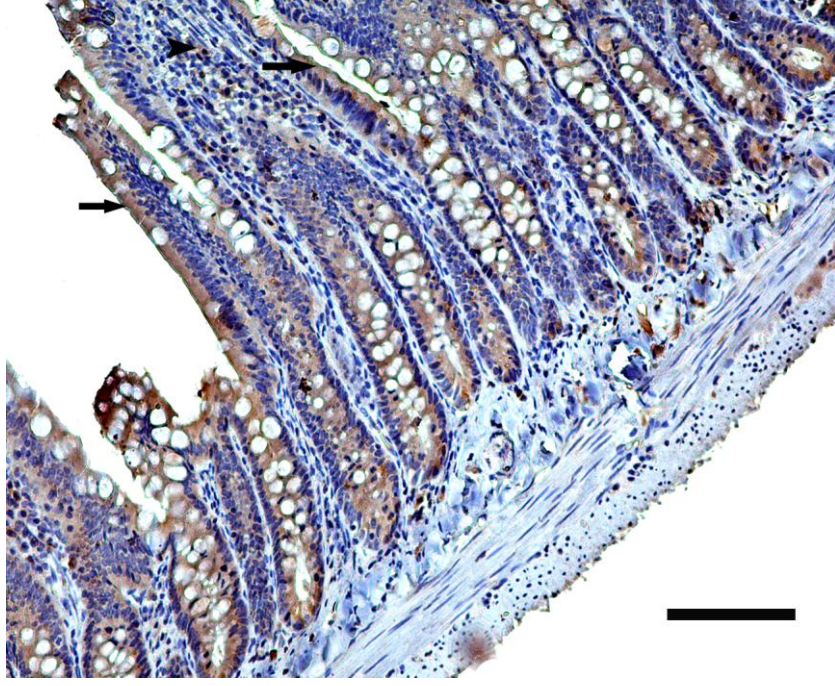


**Şekil 3.11 A:** Kontrol grubunda 162. saatte, sıçan jejenum dokusunun villus epitel hücrelerinde (ok) negatif ve bağ dokusu hücrelerinde (ok başı) Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.

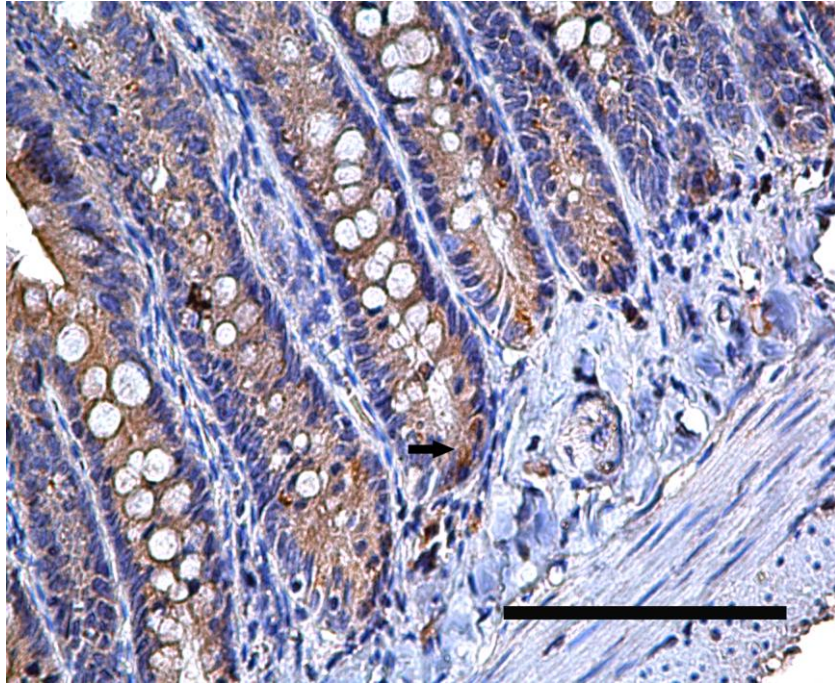


**Şekil 3.11 B:** Kontrol grubunda 162. saatte, sıçan jejenum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) zayıf şiddette Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.



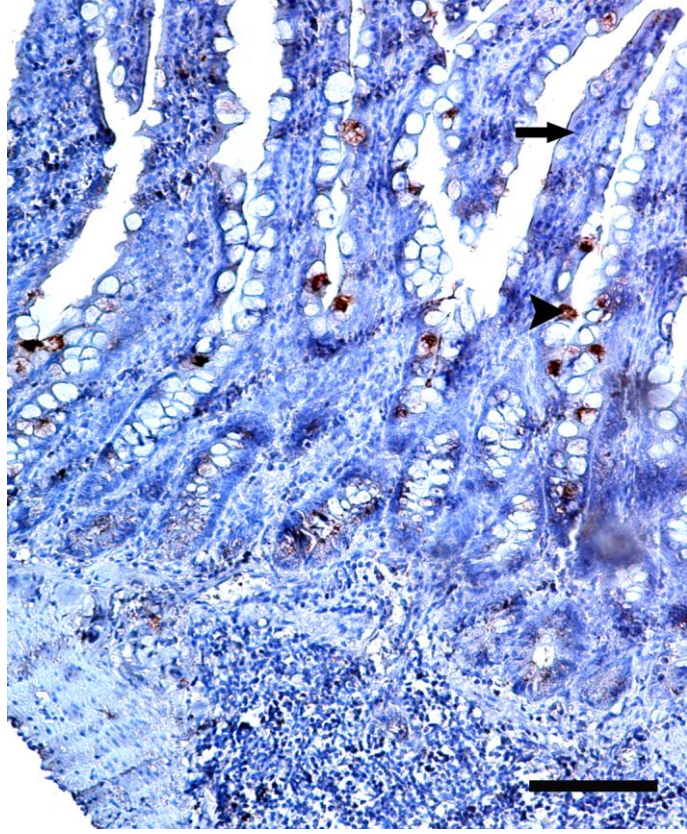


**Şekil 3.12 A:** Östrojen grubunda 162. saatte, sıçan jejenum dokusunun villus epitel hücrelerinde (ok) orta şiddette ve bağ doku hücrelerinde (ok başı) Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.

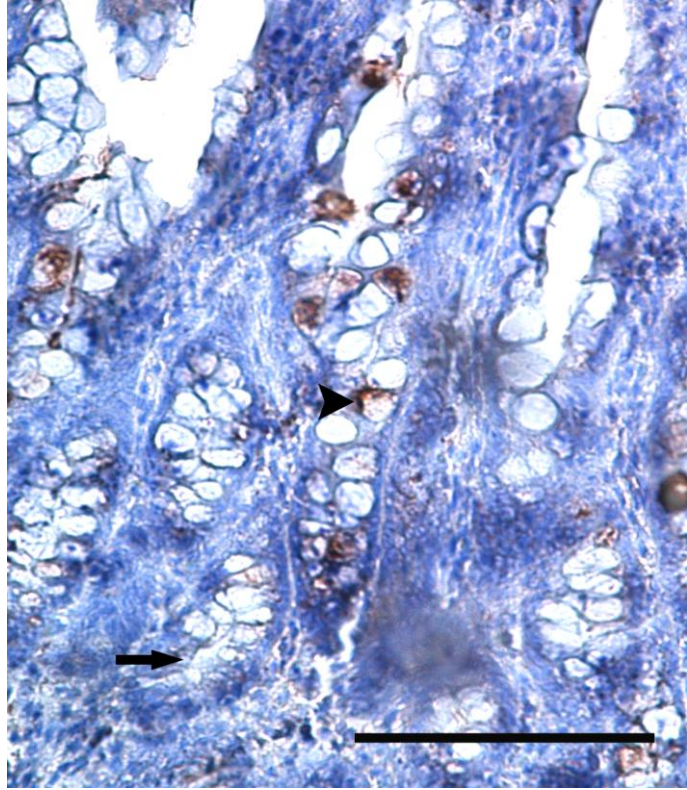


**Şekil 3.12 B:** Östrojen grubunda 162. saatte, sıçan jejenum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) orta şiddette Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.



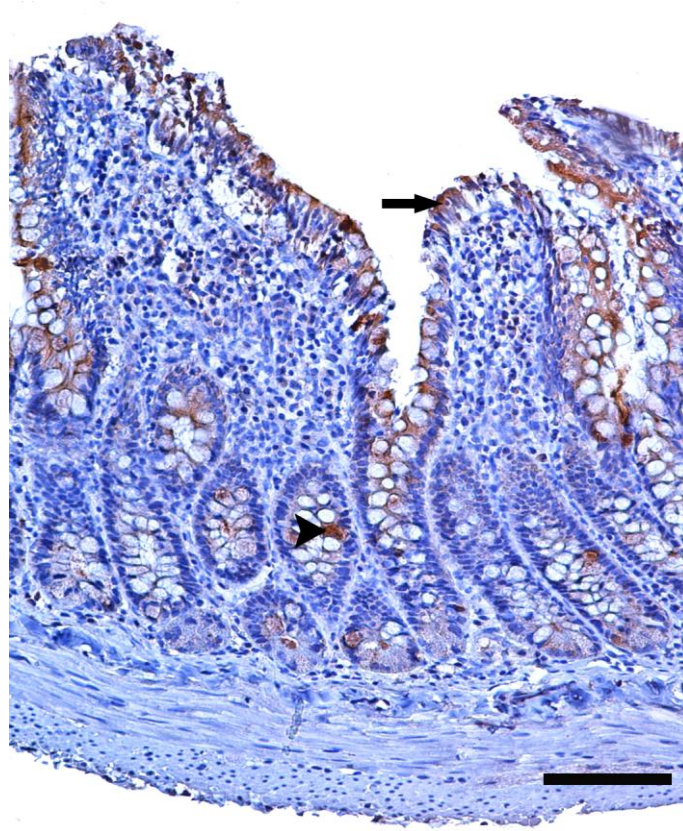


**Şekil 3.13 A:** Kontrol grubunda 18. saatte, sıçan ileum dokusunun villus epitel hücrelerinde (ok) negatif ve Goblet hücrelerinde (ok başı) Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.

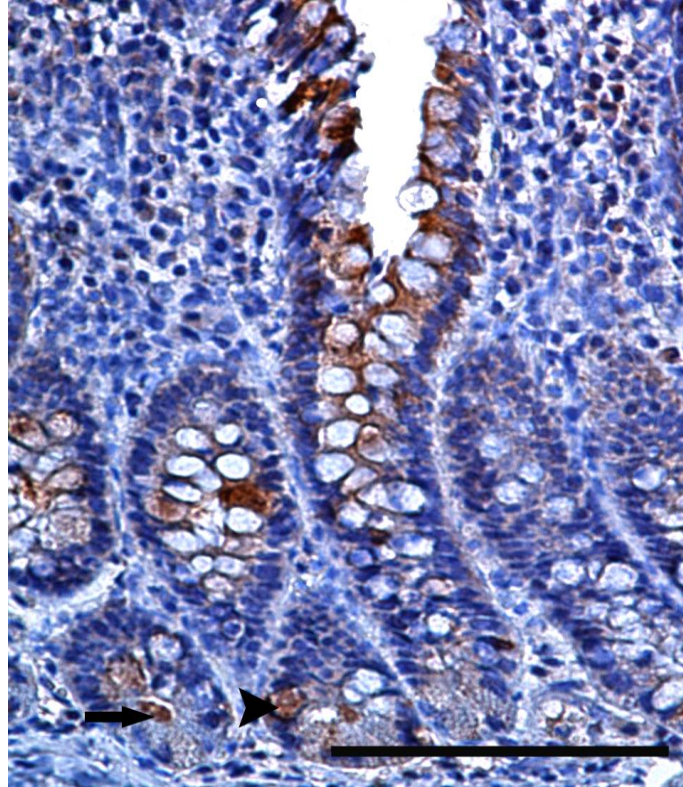


**Şekil 3.13 B:** Kontrol grubunda 18. saatte, sıçan ileum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) negatif ve Goblet hücrelerinde (ok başı) Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.



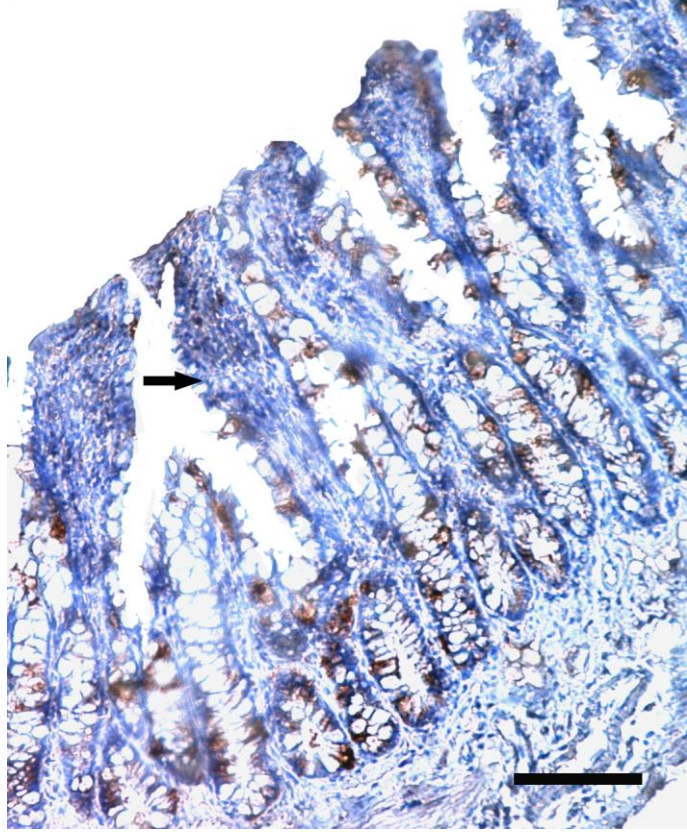


**Şekil 3.14 A:** Östrojen grubunda 18. saatte, sıçan ileum dokusunun villus epitel hücrelerinde (ok) orta şiddette ve Goblet hücrelerinde (ok başı) Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.

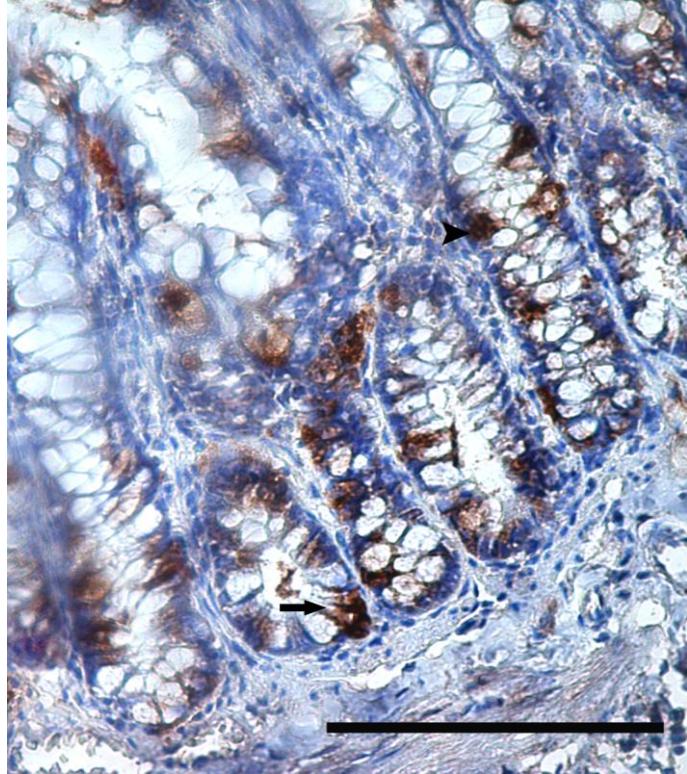


**Şekil 3.14 B:** Östrojen grubunda 18. saatte, sıçan ileum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) ve Goblet hücrelerinde (ok başı) Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.



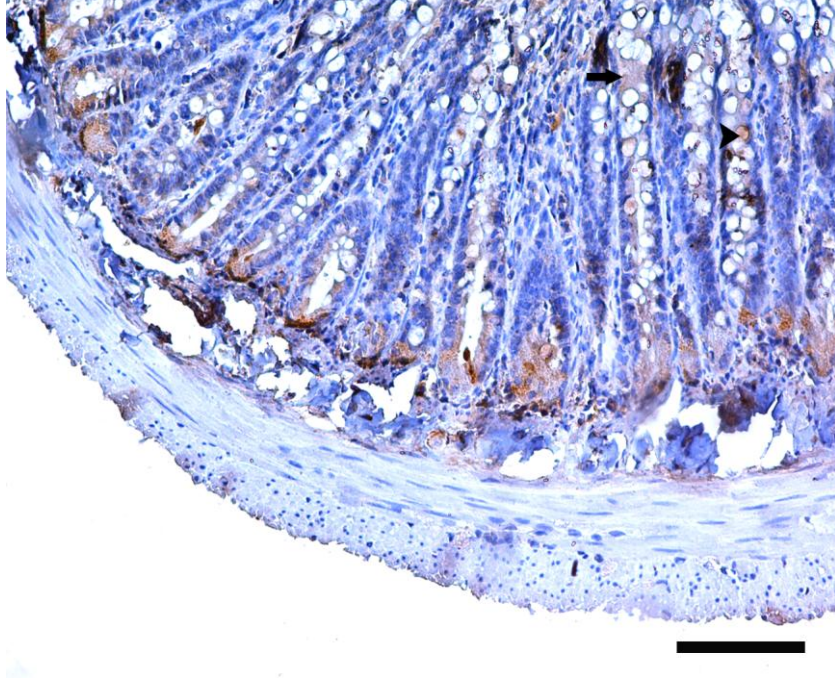


**Şekil 3.15 A:** Kontrol grubunda 90. saatte, sıçan ileum dokusunun villus epitel hücrelerinde (ok) zayıf şiddette Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.

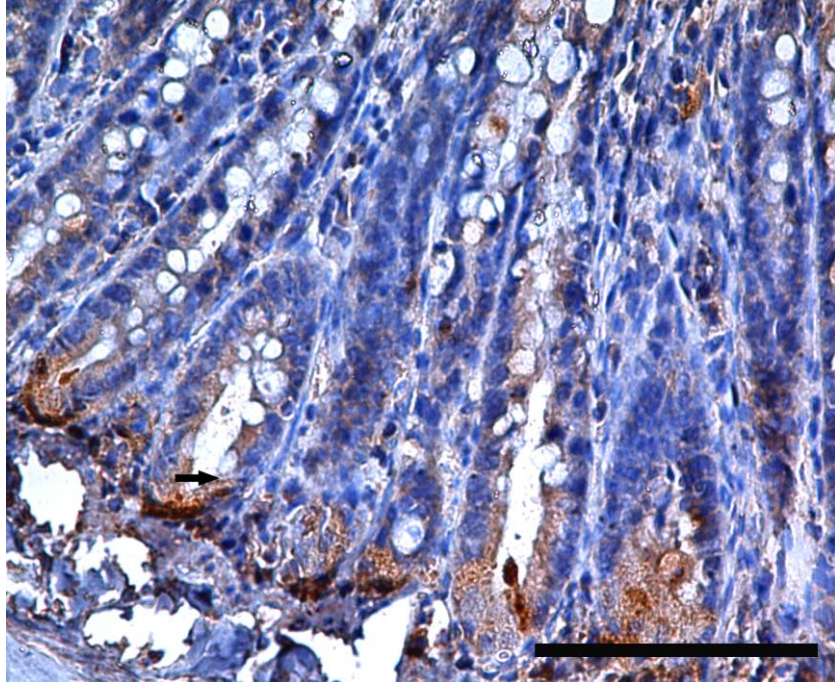


**Şekil 3.15 B:** Kontrol grubunda 90. saatte, sıçan ileum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) orta şiddette ve Goblet hücrelerinde Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.



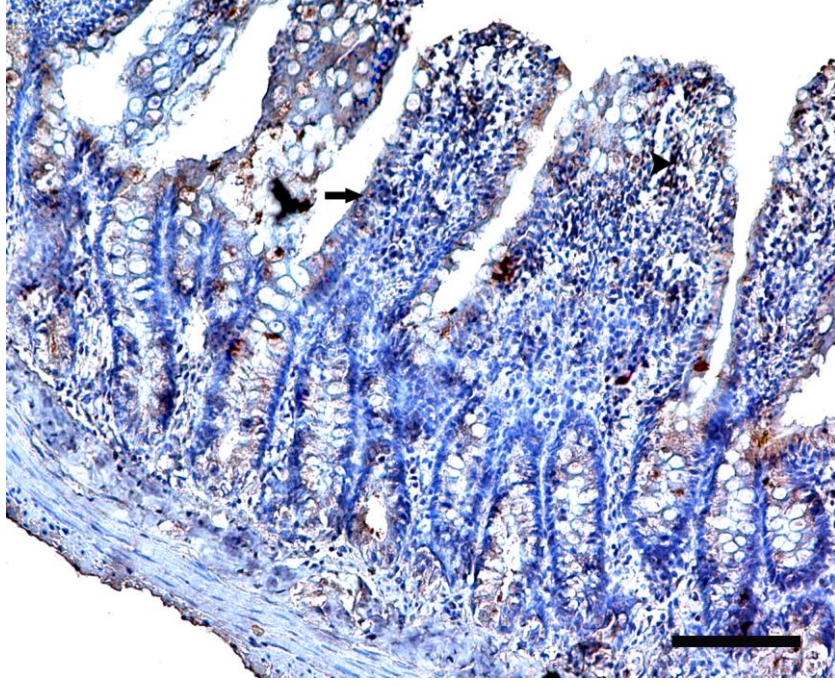


**Şekil 3.16 A:** Östrojen grubunda 90. saatte, sıçan ileum dokusunun villus epitel hücrelerinde (ok) zayıf şiddette Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.

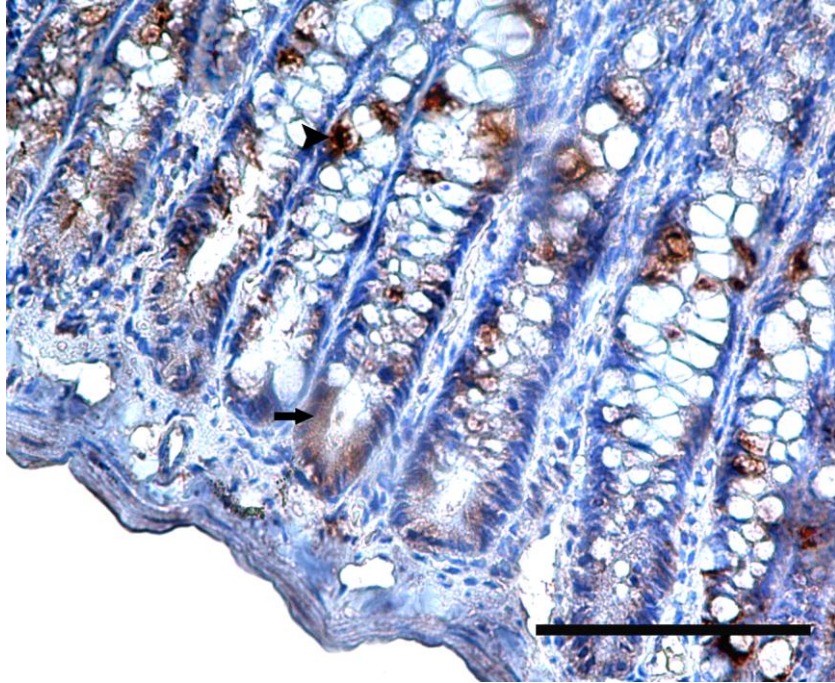


**Şekil 3.16 B:** Östrojen grubunda 90. saatte, sıçan ileum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) şiddetli Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.

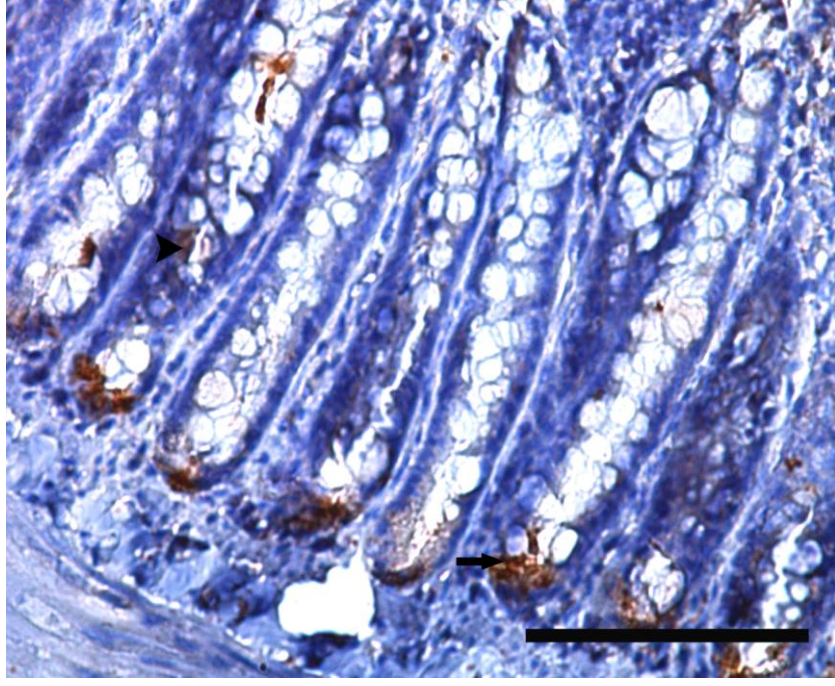




**Şekil 3.17 A:** Kontrol grubunda 162. saatte, sıçan ileum dokusunun villus epitel hücrelerinde (ok) zayıf şiddette ve bağ doku hücrelerinde (ok başı) Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.



**Şekil 3.17 B:** Kontrol grubunda 162. saatte, sıçan ileum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) zayıf şiddette Lep-R ve Goblet hücrelerinde (ok başı) Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.



**Şekil 3.18 B:** Östrojen grubunda 162. saatte, sıçan ileum dokusunun kript epitel hücrelerinde (ok) şiddetli ve Goblet hücrelerinde (ok başı) Lep-R immunreaksiyonu, SBP, 1 bar = 100 mikron.

#### 4. TARTIŞMA

Midenin prensipal (70, 71, 72), pariyetal (71, 72) ve endokrin hücreleri (70) tarafından salgılanan leptin hormonu, besin emilimi ve lipid alımına bağlı olarak, ince bağırsağın değişik bölümlerinde lokalize olan leptin reseptörlerine bağlanır (57). Çalışmamızda ratların ince bağırsak bölümlerinde (duodenum, jejunum ve ileum) leptin reseptörlerinin bulunduğunu immunohistokimyasal boyama yöntemi ile gösterdik. İnce bağırsakta leptin reseptörünün özellikle kriptlerin dip kısımlarını döşeyen epitel hücrelerinde kuvvetli, kriptlerin üst kısımlarını ve villusları döşeyen epitel hücrelerinde ise daha zayıf olarak eksprese olduğunu belirledik. Matriks hücrelerin bulunduğu kriptlerin dip kısımlarında kuvvetli ve diferensiyel olmuş hücrelerin bulunduğu orta ve üst kript bölgelerinde ve villuslarda zayıf bir ekspresyonun gözlenmesi, leptin hormonunun ince bağırsaklarda bir büyüme faktörü olarak fonksiyon görebileceğini düşündürmektedir. Alavi ve ark (77) bizim ise leptinin ince bağırsaklarda büyüme faktörü gibi etki ettiğini ve mukoza kitlesini arttırdığını iddia etmişlerdir. Aksine leptinin ince bağırsak ve kolon kriplerinde proliferasyon üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı da ileri sürülmüştür (122).

Leptin reseptör ekspresyonunun villus ve kript epitel hücrelerinin sadece sitoplazmasında gözlendiğini saptadık. İnce bağırsaklarda leptin reseptörünün lokalizasyonu ile ilgili önceki yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular çelişkilidir. Philippe ve ark (70) ince bağırsak (duodenum, jejunum ve ileum) epitel hücrelerinin özellikle mikrovillusların bulunduğu apikal yüzlerinde ve bazolateral membranında leptin reseptör varlığını saptamışlar ve gastrik leptinin bağırsak epitel hücrelerinin apikal membranındaki reseptörlerine bağlanarak kısa süreli olarak ince bağırsak fonksiyonlarını düzenlediğini, endokrin kaynaklı leptinin ise epitel hücrelerinin bazolateral membranındaki reseptörleri aracılığıyla parakrin etki gösterdiğini ve sirkülasyondaki yağ doku kaynaklı leptinle paralel olarak bağırsak epitel hücrelerine uzun süre etki ettiğini ileri sürmüşlerdir. Benzer şekilde insan fetal gelişimi sırasında leptin reseptörü ince bağırsaklarda 7.5 ile 9 haftalık arasında primitif villus epitelinde; 10-11 haftalıkken de kript epitel hücrelerinin apikal ve bazolateral membranlarında saptanmıştır (123). Barrenetxe J ve ark (74) insan duodenumunda leptin reseptörünün villus ve kript epitel hücrelerinin hem apikal hem de bazolateral membranında, fare ve rat jejunumunda ise bazolateral membranda lokalize olduğunu; ayrıca duodenumda ve jejunumda intrasitoplazmik

bir reaksiyonun da gözleendiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda villus ve kript epitellerinde membransel değil sadece intrasitoplazmik bir ekspresyon saptadık. Bu durum leptin bağlanmasından sonra reseptörün endositozu ve hücre içerisinde şekillenen vezikül trafiğinden kaynaklanmış olabilir. Bununla beraber tespit, tür ve antikor farklılığı da önemli bir etkidir. Barrenetxe J ve ark (74) değişik tespit solüsyonlarını deneyerek aynı tür ve dokuda farklı leptin reseptör ekspresyonları elde etmiştir. Kullanılan primer antikor farklılığı da önemlidir. Antikorum reseptörün uzun ya da kısa formunu işaretliyor olması; antikorum reseptörün N terminal bölgesine veya C terminal bölgesine bağlanıyor olması reaksiyonun lokalizasyonunu ya da şiddetini değiştiriyor olabilir.

Ayrıca Buyse ve ark (80) rat frozen doku kesitleri üzerinde bizimle aynı antikoru kullanarak yaptıkları immunohistokimyasal boyamada, bulgularımızın aksine, leptin reseptör ekspresyonunu jejunum epitel hücrelerinin apikal membranında göstermişlerdir. Bizim çalışmamız ile arasındaki bu lokalizasyon farklılığının doku kesitlerinin paraffin ya da frozen olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda özellikle jejunumda bulunan az sayıdaki bağ doku hücresinde pozitif bir reaksiyon gözledik. Lostao ve arkadaşları (124) rat jejunumunun lamina propriasında, çoğunluğunu granulositlerin ve makrofajların oluşturduğu immun hücrelerinde leptin reseptör ekspresyonunu göstermişlerdir. Leptinin makrofajları aktive ederek fagositozu güçlendirdiğini ve onlardan pro ve anti-inflamatuar sitokin salınımını uyardığını bildirmiştir (124, 125). Lamina propriadaki leptin reseptörlerini eksprese eden immun hücrelerinin epitel hücreleri ile işbirliği içerisinde şeker emilimini de düzenlediği bildirilmiştir (124).

İlk defa duodenumun Brunner bezlerinde ve ince bağırsağın goblet hücrelerinde leptin reseptör ekspresyonunu gösterdik. Brunner bezlerinde ve goblet hücrelerinde leptin reseptörlerinin bulunması önemlidir. İnce bağırsaklardan asit ve alkali karakterdeki mukus ve Brunner bezlerinden de epidermal büyüme faktör (Urogastron) sentez ve sekresyonu bildirilmiştir (5); leptin reseptörlerinin Brunner bezlerinde bulunması leptinin bu maddelerin yapımını uyararak, hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde görev alabileceğini düşündürmektedir. Kolonda yapılan çalışmalarda luminal leptinin kolondaki goblet hücrelerinden mukus salgılanmasında uyarıcı bir rol oynadığı ve mukus salınımını arttırdığı tespit edilmiştir (126, 127). Leptinin mukus sekresyonu üzerine olan etkisini, luminal ve



sistemik leptinin kolonik hücre membranlarının apikal ve bazolateral bölümlerinde eksprese olan Ob-R reseptörlerine bağlanarak oluşturduğu vurgulanmıştır (126). Bizim sonuçlarımız leptinin, mukus sekresyonunu sadece epitel hücrelerindeki reseptörleri ile değil aynı zamanda goblet hücrelerinde eksprese olan reseptörleri vasıtasıyla da düzenlediğine işaret etmektedir. Bununla birlikte leptin reseptörünün tüm goblet hücrelerinde ekspresyonun görülmemesi, bu hücrelerin genç goblet hücrelerine farklılaşan köken hücreler olabileceğininide düşündürmektedir.

Leptinin spesifik etkilerinin ortaya çıkmasında önemli role sahip olan hipotalamusta, leptin reseptörlerinin, östrojen reseptör ER  $\alpha$  ve  $\beta$ 'nin lokalize olduğu hücrelerde bulunduğu ve bunların işbirliği içerisinde oldukları saptanmıştır. (115). Dorsal kök gangliyonunda da ER $\alpha$ 'ın leptin reseptör ekspresyonu ile %100; ER $\beta$ 'in ise %15 rolü olduğu belirlenmiş ve östrojenin leptin reseptör mRNA ekspresyonundaki artışı ER $\alpha$ ' ya bağlı bir yolla gerçekleştirdiği ifade edilmiştir (116). İnce bağırsak kript epitel hücrelerinden elde edilen, IEC-6 hücrelerinde östrojen reseptörünün bulunduğu bildirilmiştir (128). Östrojen reseptörlerinin ince bağırsak epitel hücrelerinde varlığının bilinmesi, östrojenin, yine ince bağırsak epitel hücrelerinde saptadığımız leptin reseptör ekspresyonu üzerine etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Östrojen hormonunun leptin reseptörü üzerine etkilerini inceleyebilmek için ovariektomize rat deney modeli oluşturduk. Dişi cinsiyet hormonları ile ilgili deneysel çalışmalarda ovariektomize rat modeli yaygın olarak kullanılmaktadır. Memelilerde, aralarında östradiolunda bulunduğu 20'den fazla östrojen belirlenmesine karşın bunlardan en fazla ve en etkin olanı östradioldur (129). ovariektomize ratlarda gerek leptin hormonu gerekse diğer ajanlarla ilgili yapılmış çalışmalarda 17-B östradiol'un 10-50  $\mu\text{g}/\text{rat}/\text{gün}$  dozları kullanılmıştır. (110, 115, 116, 131). Ayrıca östrojenle ilgili yapılan araştırmalarda östrojenin dokularda etkilerinin yaklaşık olarak 18. saatte ortaya çıktığı belirlenmiştir (130). Bu bildirimler ışığında bu çalışmada ov ratlarda 17 $\beta$ -östradiol 25  $\mu\text{g}/\text{rat}/\text{gün}$  dozunda uygulanmış, aynı zamanda uygulama süresinin de etkisinin belirlenmesi amacıyla 18., 90. ve 162. saatlerde ince bağırsaklardaki leptin reseptör ekspresyonlarına bakılmıştır.

Çalışmamızda 18.saatte jejunumun ve 162. saatte ileumun villus epiteli dışında; tüm ince bağırsak bölümlerinin villus ve kript epitel hücrelerinde östrojen hormonunun leptin reseptör ekspresyonunun arttığını gözledik. Reaksiyon



şiddetindeki bu artışın gruplar arasında sadece 18. saatte ileumun, 90. saatte duodenumun ve jejunumun villus ve kript epitelinde ve 162. saatte duodenumun villus epitelinde istatistiki olarak anlamlı olduğunu belirledik.

Ovariectomize ratların yağ hücrelerinde kısa süreli östrojen uygulamasının leptin reseptör ekspresyonunu azalttığı, ilerleyen günlerde leptin reseptör ekspresyonunu arttırdığı ve uzun süre uygulamanın (kronik) ise tekrar ekspresyon seviyesini düşürdüğünü gözlemişlerdir (117). Çalışmamızda kısa süreli östrojen uygulamasında sadece ileum da ekspresyonun arttığı, duodenum ve jejunumda ise 90. saatte ekspresyon seviyesinin anlamlı olarak yükseldiği belirlendi. Östrojen hormonunun süreye bağlı olarak leptin reseptör ekspresyonunu değiştirdiği söylenebilir. Bununla birlikte değişik hayvan türlerinde ve farklı dokularda yapılan çalışmalarda bizim bulgularımıza benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ovariectomize ratlarda yapılan çalışmalar, östrojen eksikliğinin beyinde Ob-R mRNA (110) seviyesini düşürdüğünü, hipotalamusta (110, 115) ve dorsal gangliyonda (116) ve yağ dokularında (115, 117) Ob-Rb protein ve mRNA ekspresyonunu, azalttığını göstermiştir. Ancak farklı olarak düvelerin endometriyum, meme ve yağ dokusu gibi östrojene yanıt veren dokularında östrojen hormonunun leptin ve reseptörünün ekspresyonunu azalttığını; hipotalamus, karaciğer, kas ve subkutan yağ dokularında ise bir değişikliğe yol açmadığını belirtilmiştir (118). Kanatlılarda cinsel olgunluk sırasında birçok dokuda cOb-R mRNA ekspresyonunda değişiklik olmazken; bağırsaklardaki cOb-R mRNA ekspresyonun arttığı bildirilmiştir. Ayrıca östrojen uygulanması bağırsaklarda cOb-R mRNA ekspresyonunu artırırken diğer dokulardaki ekspresyonunu değiştirmemesi; östojenin kanatlı ince bağırsaklarında leptin reseptör ekspresyonun düzenlenmesiyle de ilişkili olduğunu, gonadal ve metabolik fonksiyonlar arasında bir korelasyonun varlığını iddia edilmiştir (119).

## 5. SONUÇ

Östrojen hormonu ince bağırsağın değişik bölümlerinde süreye bağlı olarak leptin reseptör ekspresyon şiddeti üzerine farklı etkilere sahiptir. Östrojen hormonunun leptin reseptörü vasıtasıyla besinlerin sindirimi ve emilimini etkileyerek, bağırsak fonksiyonlarının düzenlenmesinde görev alır ve östrojen yetersizliğinde şekillenen obezitenin patogeneğinde rol oynar.

## 6. KAYNAKLAR

1. Aytekin Y., Solakoğlu S. (2006). Temel Histoloji (10. Baskı). Nobel Tıp Kitapevleri, Ankara.
2. Dursun N. (2001). Veteriner Anatomi II (7. Baskı). Medisan Yayınevi, Ankara.
3. Bahadır A., Yıldız H. (2005) Veteriner Anatomi II İç Organlar (1. Baskı). Ezgi Yayınevi, Bursa.
4. Başaran A. (2003). Laboratuvar Teknikleri Ders Kitabı (1. Baskı). Nisan Kitabevi, Eskişehir.
5. Tanyolaç A. (1999). Özel Histoloji. Yorum Basın Yayın Sanayi Ltd. Şti, Ankara.
6. Kalaycı Ş. (1986). Histoloji. Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa.
7. Dellmann H.D., Eurell J. (1998). Textbook of Veterinary Histology (5th Ed.). Lippincott Williams & Wilkins A. Wolters Kluwer Company, Philadelphia.
8. Bacha W.J., Bacha L.M. Color Atlas of Veterinary Histology (2nd. Ed.)
9. Demir R. (2001). Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkileriyle (9. Baskı). Palme Yayıncılık, Ankara.
10. Banks W.J. (1993). Applied Veterinary Histology. (3rd ed.). Mosby Year Book, U.S.A.
11. Walker W.F., Homberger D.G. (1998). Anatomy Dissection of The Rat. W.H. Freeman and Company, New York.
12. Gökhan N (1989). Tıbbi Fizyoloji (3. Baskı). Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul.
13. Bölükbaşı M.F. (1989). Fizyoloji Ders Kitabı (Vücut Isıları ve Sindirim) (1. Baskı). Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara,
14. Yakar K. (2001). Fizyoloji (3. Baskı). Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
15. Yeğen B., Aydın Z., Alican İ. (1997). Renkli Fizyoloji Atlası (4. Baskı). Nobel/Yüce, İstanbul.
16. Toktay B. (1947). Kimyasal Fizyoloji (2. Baskı). Kenan Basımevi, İstanbul.
17. Zhang Y., Proenca R., Maffei M., et al. (1994) Positional cloning of the Mouse obese gene and its human homologue. Nature 372, 425-32.
18. He Y., Chen J., Quon M.J., Reitman M. (1995). The Mouse obese gene. Journal of Biological Chemistry 270, 28887-91.
19. Coleman D.L. (1978). Two mutant Genes Causing diabetes obesity syndromes in mice. Diabetologia 14, 141-48

20. Isse N., Ogawa Y., Tamura N., et al. (1995) Structural organization and chromosomal assignment of the human obese gene. *Journal of Biological Chemistry* 270:27728-33.
21. Green E.D., Maffei M., Braden V.V., et al. (1995) The human obese (OB) gene: RNA expression pattern and mapping on the physical, cytogenetic, and genetic maps of chromosome 7. *Genome Research* 5, 5-12.
22. Gong D.W., Bi S., Pratley R.E., Weintraub B.D. (1996) Genomic structure and promoter analysis of the human obese gene. *Journal of Biological Chemistry* 271, 3971-74
23. Considine R.V., Considine E.L., Rasota E.L., Caro J.F. (1995) Evidence against either a premature stop codon or the absence of obese gene mRNA in human obesity. *Journal of Clinical Investigation* 95, 2986-88.
24. Masuzaki H., Ogawa Y., Isse N., et al. (1995) Augmented expression of the obese gene in the adipose tissue from rats fed high-fat diet. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 216, 355-58.
25. Hamilton B.S., Paglia D., Kwan A.Y.M., Deitel M. (1995). Increased obese mRNA expression in omental fat cells from massively obese humans. *Nature medicine* 1, 953-56.
26. Akerman F., Lei Z.M., Rao C.V. (2002). Human umbilical cord and fetal membranes co-express leptin and its receptor genes. *Gynecol Endocrinol* 16, 299-306.
27. Hassink S.G., de Lancey E., Sheslow D.V., et al. (1997). Placental leptin: an important new growth factor in intrauterine and neonatal development? *Pediatrics* 100, E1.
28. Gonzalez R.R., Caballero-Campo P., Jasper M., et al. (2000). Leptin and Leptin Receptor Are Expressed in the Human endometrium and endometrial leptin secretion is regulated by the human blastocyst. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 85, 12:4883-88.
29. Wang J., Lie R., Hawkins M., Barzilai N., Rosetti L. (1998) A nutrient – sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. *Nature* 393, 684-88.
30. Casabielle X., Hawkins M., Tome M.A., Peino R., Dieguez C., Casanueva F.F. (1997) Presence of leptin in colostrum and/or breast milk from lactating mothers: a

potential role in the regulation of neonatal food intake. *J Clin Endocrinol Metab.* 82, 4270-73.

31. Long J., Shuya Z., Bartolome G., et al. (2000). Leptin and leptin receptor expression in rat and mouse pituitary cells. *Endocrinology* 141,1, 333-39

32. Bado A., Sandrine L., Samir A., et al. (1998). The stomach is a source of leptin. *Nature* 394, 790-93

33. Cinti S., Matteis R.De., PicoÂ C., et al. (2000). Secretory granules of endocrine and chief cells of human stomach mucosa contain leptin. *International journal of obesity* 24, 789-93

34. Ahima R.S., Prabakaran D., Mantzoros C., et al. (1996). Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature* 382:250

35. Licinio J., Mantzoros C., Negrao A.B., et al. (1997). Human leptin levels are pulsatile and inversely related to pituitary – adrenal function. *Nat Med* 3:575.

36. Sinha M.K., Sturis J., Ohannesian J., et al. (1996). Nocturnal Rise of leptin in lean, obese and non-insulin dependent diabetes mellitus subject. *J Clin Invest* 97, 1334.

37. Saladin R., deVos P., Guerre –Millo M., et al. (1995). Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature* 377, 527-29.

38. Frederich R.C., Hamann A., Anderson S., Löllmann B., Lowell B.B., Flier J.S. (1995). Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nat Med* 1, 1311-14.

39. Ma Z., Gingerich R.L., Santiago J.V., Klein S., Smith C.H., Land, M. (1996). Radioimmunoassay of leptin in human plasma. *Clin Chem* 42:942-46.

40. Cusin I., Sainsbury A., Doyle P., Rohner-Jeanrenaud, F., Jeanrenaud, B. (1995). The ob gene and insulin, a relationship leading to clues to the understanding of obesity. *Diabetes* 44, 1467-70.

41. Sliker L.J., Sloop K.W., Surface P.L., Kriauciunas A., LaQuier F., Manetta J., Bue-Valleskey J., Stephens T.W. (1996). Regulation of expression of ob mRNA and protein by glucocorticoids and cAMP. *J Biol Chem* 271, 5301-04.

42. Gualillo O., Lago F., García M., Menéndez C., Señarís R., Casanueva FF., Diéguez, C. (1999). Prolactin stimulates leptin secretion by rat white adipose tissue. *Endocrinology* 140, 5149- 53.

43. Bennet B.D., Solar G.P., Yuan J.O., Thomas G.R. (1996). A role for leptin and its cognate receptor in haematopoiesis. *Curr Biol* 6:1170- 80.
44. Lord G.M., Matarese G., Howard J.K., Baker R.J, Bloom S.R., Lechler R.I. (1998). Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature* 394, 897-901.
45. Escobar-Morreale H.F., Escobar del Rey F., Morreale de Escobar G. (1997). Thyroid hormones influence serum leptin concentrations in the rat. *Endocrinology* 138, 4485- 88.
46. Florkowski C.M., Collier G.R., Zimmet P.Z., Livesey J.H., Espiner E.A., Donald R.A. (1996). Low-dose growth hormone replacement lowers plasma leptin and fat stores without affecting body mass index in adults with growth hormone deficiency. *Clin Endocrinol* 45, 769- 73.
47. Donahoo W.T., Jensen D.R., Yost T.J., Eckel R.H. (1997). Isoproterenol and somatostatin decrease plasma leptin in humans: a novel mechanism regulating leptin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 82, 4139- 43.
48. Rentsch J., Chiesi M. (1996). Regulation of ob gene mRNA levels in cultured adipocytes. *FEBS Lett* 379, 55-9.
49. Scriba D., Aprath-Husmann I., Blum W.F., Hauner H. (2000). Catecholamines suppress leptin release from in vitro differentiated subcutaneous human adipocytes in primary culture via  $\beta$ 1- and  $\beta$ 2-adrenergic receptors. *Eur J Endocrinol* 143, 439- 45.
50. Trayhurn P., Duncan J., Rayner D.V. (1995). Acute cold-induced suppression of ob (obese) gene expression in white adipose tissue of mice: mediation by the sympathetic system. *Biochem J* 311, 729- 33.
51. Tartaglia L.A., Dembski M., Weng X., et al. (1995). Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 83:1263-71.
52. Emilsson V., Liu Y-L., Cawthorne M.A., et al. (1997). Expression of the functional leptin receptor mRNA in pancreatic islets and direct inhibitory action of leptin on insulin secretion. *Diabetes* 46, 313-16
53. Serradeil Le G.C., Raufaste D., Brossard G., et al. (1997). Characterization and localization of leptin receptors in the rat kidney. *FEBS Lett* 404:185-91
54. Cao G.Y., Considine R.V., Lynn R.B. (1997). Leptin receptors in the adrenal medulla of the rat. *Am. J. Physiol* 273, E448-E452

55. Smith J.T., Waddell B.J. (2002). Leptin receptor expression in the rat placenta: changes in ob-ra, ob-rb, and ob-re with gestational age and suppression by glucocorticoids. *Biology of Reproduction* 67, 1204-10
56. Hardwick J.C.H., Van Den Brink G.R., Offerhaus G.J. et al. (2001) Leptin is a growth factor for colonic epithelial cells. *Gastroenterology* 121, 79-90.
57. Morton N.M., Emilsson V., Liu Y.L., (1998). Cawthorne M.A. Leptin action in intestinal cells. *The Journal of Biological Chemistry* 273,40, 26194-201
58. Kolczynski J.W., Ohannesian J., Considine R.V., Marco C., Caro J.F. (1996). Response of leptin to short term and progloned overfeeding in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 91, 4162-65.
59. Streamson C., Chua Jr., Wendy C.K., et al. (1996). Phenotypes of mouse diabetes and rat fatty due to mutation in the OB(leptin) receptor. *Science* 271,5251, 994-96
60. Ahima R.S., Osei S.Y.(2004). Leptin signaling. *Phys Behav* 81:223-241
61. Friedman J.M., Halas .L. (1998). Leptin and their regulation of body weight in animals. *Nature* 392, 763-71.
62. Sinha M.K. (1997). Human leptin: the hormone of adipose tissue. *European Journal of Endocrinology* 136, 461-64.
63. Lewandowski K., Horn R., Dunlop D., Medley G. (1999). Free leptin, bound leptin and soluble leptin receptor in normal and diabetikc pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab* 84:300-06.
64. Tartaglia L.A. (1997) The leptin receptor. *J Biol Chem* 272, 6093-96
65. Yamashita T, Murakami T, Otani S, et al. (1998) Leptin receptor signal transduction: ObRa and ObRb of fa type. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 246:752-59
66. Friedman JM., Halas JL. (1998). Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 395, 763-69
67. Considine R.V., Caro J.F. (1996). Leptin: genes, cocepts and clinical perspective. *Horm Res* 46, 249-56.
68. Hamann A., Matthaei S. (1996). Regulation of energy balance by by leptin. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 104, 293-300.
69. Auwerx J., Staels B. (1998). Leptin. *Lancet* 351: 737-42.

70. Philippe :G., Cammisotto PG., Renaud C., Gingras D., et al. (2005). Endocrine and exocrine of leptin by the gastric mucosa. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 53(7), 851-60.
71. Mix H., Widjaja A., Jandl O. (2000). Expression leptin and leptin receptor isoforms in the human stomach. *Gut* 47:481-86
72. Sobhani I., Bado A., Visszaine C., et al. (2000). Leptin secretion leptin receptor in the human stomach. *Gut* 47, 178-83.
73. Sobhani I., Buyse M., Goiot H., et al. (2002). Vagal stimulation rapidly increases leptin secretion in human stomach. *Gastroenterology* 122, 259-63
74. Barrenetxe J., Villaro A.C., Guembe L., et al. Distribution of the long leptin receptor isoform in brush border, basolateral membrane, and cytoplasm of enterocytes. *Gut* 50, 797-802.
75. Cammisotto PG., Gingras D., Renaud C., et al. (2006). Secretion of soluble leptin receptors by exocrine and endocrine cells of the gastric mucosa. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 290, 242-49.
76. Wolinski J., Biernat M., Guilloteau P., Westrom B.R., Zabielski R. (2003). Exogenous leptin controls the development of the small intestine in neonatal piglets. *J Endocrinol* 177, 215-22.
77. Alavi K., Schwartz M.Z., Prasad R., O'connor D., Funanage V. (2002). Leptin: a new growth factor for the small intestine. *J Pediatr Surg* 37, 327-330.
78. Elinson N., Amichay D., Birk RZ. (2006). Leptin directly regulates exocrine pancreas lipase and two related proteins in the rat. *British Journal of Nutrition* 96 (4), 691-96.
79. Ducroc R., Guilmeau S., Akashi K., Devaud H., Buyse M., Bado A. (2005). Luminal leptin induces rapid inhibition of active intestinal absorption of glucose mediated by sodium-glucose cotransporter. *Diabetes* 54 (2), 348-54, abstr.
80. Buyse M., Berlioz F., Guilmeau S., et al. (2001). PepT1-mediated epithelial transport of dipeptides and cephalixin is enhanced by luminal leptin in the small intestine. *J Clin Invest* 108(10), 1483-94
81. Gaige, S., Abysique A., Bouvier M. (2003). Effects of leptin on cat intestinal motility. *J Physiol* 546, 267-77.
82. Mercer JG., Hoggard N., Williams L.M., Lawrens CB., Hannah LT., Trayhurn P. (1996). Localization of leptin receptor mRNA and the long form splice variant



- (ob/ob) in Mouse hypothalamus and adjacent brain regions by insitu hybridization. FEBS Lett 387, 113.
83. Schwartz M.V., Seeley R.J., Campfield L.A., Burn P., Baskin D.G. (1996). Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J Clin Invest* 98:1101.
84. Considine R.V., Sinha M.K., Heinman M.L., et al. (1996). Serum immunoreactive leptin concentrations in normal weight and obese humans. *New England J Med.* 334, 292.
85. Friedman J.M. (2002). The function of leptin in nutrition, weight and physiology. *Nutr Rev* 60, 1-14.
86. Bonavera J.J., Dube MG., Karla P.S., Karla S.P. (1994). Anorectic effects of estrogen may be mediated by decrease neuropeptide-Y release in the hypothalamic paraventricular nucleus *Endocrinology* 134, 2367-70.
87. Beck B. (2000). Ingestive behavior and obesity: Neuropeptides and obesity. *Nutrition* 16, 916-23.
88. Ergün A. (1998). Obezite, besin alımı ve vücut ağırlığının kontrolünde leptin. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri* 18, 220-225.
89. Tritos N.A., Mantzoros C. (1997). Leptin, its role in obesity and beyond. *Diabetologia* 40, 1371-79
90. Janeckova R. (2001). The role of leptin in human physiology and pathophysiology. *Physiol Res* 50, 443-59
91. Roemmich J.N., Rogol A.D. (1999) Role of leptin during childhood growth and development. *Endocrinol Metab Clin North Am* 28, 749
92. Chehab, F.F., Lim M.E., Lu R. (1996). Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the hormone recombinant leptin. *Nature Genet* 12, 318-20.
93. Barash I.A., Cheung C.C., Weigle D.S. Leptin is metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology* 137, 3144-47.
94. Halaas J.L., Gajawala K.S., Maffei M., et al.(1995). Weight – reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 269, 543-46.
95. Pelleymounter M.A., Cullen M.Y., Baker M.B. (1995). Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 269, 540-43.
96. Lee G.H., Proenca R., Morte JM. (1996). Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* 379:632-35.

97. Cusin A., Rohner - Jeanrenaud F., Stricker - Kongrad A., Jeanrenaud B. (1996). The weight – reducing effects of an intracerebroventricular bolus injection of leptin in genetically obese Fa/fa rats. *Diabetes* 45, 1446.
98. Maffei M., Halaas J., Ravussin E., et al. (1995). Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight reduced subjects. *Nat Med* 1, 155-61.
99. McConway M.G., Johnson D., Kelly A., Griffin D., Smith J., Wallace A.M. (2000). Differences in circulating concentrations of total, free and bound leptin relate to gender and body composition in adult humans. *Ann Clin Biochem* 37, 717-23.
100. Sinha M.K., Opentanova I., Ohannesian .P., Kolaczynski J.W., Heiman M.L., Hale J. (1996). Evidence of free and bound leptin in human circulation. *J Clin Invest* 98, 1277–82.
101. Machinal F., Dieudonne M-N., Leneveu M-C., et al. (1999). In Vivo and in Vitro ob Gene Expression and Leptin Secretion in Rat Adipocytes: Evidence for a Regional Specific Regulation by Sex Steroid Hormones. *Endocrinology* 140, 4, 1567-74.
102. Shimizu H., Shimomura Y., Nakanish Y., et al. (1997). Estrogen increases invivo leptin production in rats and human subject. *J Endocrinol* 154: 285
103. Chen F., Lee N., Soong Y. (1998). Changes in the lipoprotein profile in postmenopausal women receiving hormone replacement therapy. *J Reprod Med* 43, 568.
104. Cheugn A.P. (2000). Acuta effects of estradiol and progesterone on insulin, lipids and lipoproteins in postmenopausal women: A pilot study. *Maturitas* 35, 45.
105. Asarian L., Geary N. (2006). Modulation of appetite by gonadal steroid hormones. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* Jul 29;361(1471), 1251-63.
106. Burger H.G, Dudley E.C, Hopper J.L. (1995). The Endocrinology of the menopausal transition: A cross- sectional study of a population – based sample. *J Clin Endocrinol Metab* 80, 3537-40.
107. Hassager C and Christiansen C. Estragen / Gestagen therapy changes soft tissue body composition in postmenopausal women. *Metabolism* 1989; 38: 662-65

108. Martin L, Siliart B, Dumon H, et al. (2001). Leptin, body fat content and energy expenditure in intact and gonadectomized adult cats: a preliminary study. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 85 (7-8), 195–99.
109. Houpt K.A.; Coren B.; Hintz H.F, Hilderbrant J.E. (1979). Effect of sex and reproductive status on sucrose preference, food intake, and body weight of dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 174, 1083–85.
110. Kimura M., Irahara M., Yasui, T., et al. (2002). The obesity in bilateral ovariectomized rats is related to a decrease in the expression of leptin receptors in the brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 290, 1349-53.
111. Kastin A.J., Akerstrom V., Maness L.M. (2001). Chronic loss of ovarian function decreases transport of leptin into mouse brain. *Neurosci Lett* 7;310(1), 69-71.
112. Ainslie D.A., Morris M.J., Wittert G., et al. (2001). Estrogen deficiency causes central leptin insensitivity and increased hypothalamic neuropeptide Y. *International Journal of Obesity* 25, 1680-88.
113. Meier A.C., Bobbioni E., Gabay C. et al. (2002). IL-1 Receptor antagonist serum levels are increased in human obesity: A possible link to the resistance to leptin? *J Clin Endocrinol Metab* 87, 84.
114. Ziyhan Z. (2003) Merkezi Sinir Sistemindeki Leptin Transportu, *Genel Tıp Dergisi* S, 13.
115. Meli R., Pacilio M., Mattace G., et al. (2004) Estrogen and raloxifene modulates leptin and its receptor in hypothalamus and adipose tissue from ovariectomized rats. *Endocrinology* 145, 3115-21.
116. Chen H.P., Fan J., Cui S. (2006) Detection and estrogen regulation of leptin receptor expression in rat dorsal root ganglion. *Histochem Cell Biol* 126, 363-369.
117. Alonso A., Fernandez R., Moreno M. et al. (2007) Leptin and its receptor are controlled by 17beta- estradiol in peripheral tissue of ovariectomized rats. *Exp Biol Med* 232, 542-49.
118. Thorn S.R., Meyer M.J., Van Amburgh M.E. et al. (2007) Effect of estrogen on leptin and expression of leptin receptor transcripts in prepubertal dairy heifers. 90, 3742-50.
119. Ohkubo T, Tanaka M., Nakashima K. (2000). Structure and tissue distribution of chicken leptin receptor (cOb-R) mRNA. *Biochim Biophys Acta* 1491, 303-08.

120. Luna L.G. (1968) *Manual of Histologic Staining methods of the armed Forces institute of pathology* (3rd ed.). McGraw – Hill Company, New York.
121. Fromowitz F.B., Viola M.V., Chao S. et al. (1987) Ras 21 expression in the progression of breast cancer. *Human Pathology* 18, 1268-75.
122. FitzGread A.J., Mandir N., Goodlad R.A. (2005). Leptin, cell proliferation and crypt fission in the gastrointestinal tract of intravenously fed rats. *Cell Prolif.* 38, 25-33
123. Aparicio T., Kermorgant S., Darmoul D., et al. (2005). Leptin and Ob-Rb receptor isoform in the human digestive tract during fetal development. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 90(11), 6177-84
124. Lostao M.P., Urdaneta E., Martinez –Anso E., Barber A., Martinez J.A. (1998). Presence of leptin receptor in rat small intestine and leptin effect on sugar absorption. *FEBS Letters* 423, 302-06.
125. Lee FYJ, Li Y, Yang EK. (1999). Phenotypic abnormalities in macrophages from leptin-deficient obese mice. *Am J Physiol* 276, 386- 94.
126. Plaisancie P., Ducroc R., Homsí M.E., et al. (2006). Luminal leptin activates mucin-secreting goblet cells in the large bowel. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 290, 805-12.
127. Homsí M.E., Ducroc R., Claustre J., et al. (2007). Leptin modulates the expression of secreted and membrane associated mucins in colonic epithelial cells by targeting PKC, PI3K, and MAPK pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 230, G365-G373.
128. Thomas M. L., XU X., Norfleet A.M., Watson C.S. (1993). The presence of functional estrogen receptors in intestinal epithelial cells. *Endocrinology* 132, 426-430.
129. Yılmaz B. (1999). *Hormonlar ve üreme fizyolojisi*. (1.Baskı). Feryal Matbaa, Ankara.
130. McNeill A.M., Zhang C., Stanczyk., Duckles S.P., Krause D.N. (2002). Estrogen Increases Endothelial Nitric Oxide Synthase via Estrogen Receptors in Rat Cerebral Blood Vessels. *Stroke* 33, 1685-91.