

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MELATONİN UYGULANAN RATLARIN
İNCEBAĞIRSAKLARINDA (Duodenum, jejunum, ileum)
MOTİLİN VE GHRELİN'İN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL LOKALİZASYONU**

**Engin YALMANCI
DOKTORA TEZİ**

**Danışman
Prof. Dr. Şahin ASLAN**

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KARS 2019

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MELATONİN UYGULANAN RATLARIN
İNCEBAĞIRSAKLARINDA (Duodenum, jejunum, ileum)
MOTİLİN VE GHRELİN'İN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL LOKALİZASYONU**

Engin YALMANCI

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman

Prof. Dr. Şahin ASLAN

**Bu çalışma KAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (Proje No: 2016-TS-53)
tarafından desteklenmiştir.**

2019 KARS

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Engin YALMANCI tarafından hazırlanmış olan **Melatonin Uygulanan Ratların İnce Bağırsaklarında (Duodenum, Jejunum, İleum) Motilin ve Ghrelin'in İmmunohistokimyasal Lokalizasyonu** adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy *birliği* ile *kabul* edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 24/06/2019

Adı Soyadı:

Başkan: Prof. Dr. Muzaffer Aydın KETANİ

Üye: Prof. Dr. İsmet TAKCI

Üye: Prof. Dr. Şahin ASLAN

Üye: Prof. Dr. Ebru KARADAĞ SARI

Üye: Doç. Dr. Hakan SAĞSÖZ

İmza:

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../... gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışmada melatonin uygulanan ratların incebağırsak dokusunda ghrelin ve motilin dağılımı immunohistokimyasal yöntemlerle incelenmiştir.

Doktora eğitimim boyunca bilimsel kişiliğini örnek aldığım, tez danışmanlığımı üstlenen, her zaman ve her konuda yardımını, bilgisini ve zamanını esirgemeyen yetişmemde büyük emeği geçen değerli hocam Prof. Dr. Şahin ASLAN'a, doktora eğitimim boyunca bilgi ve deneyimini benimle paylaşan değerli hocalarım Prof. Dr. Ebru KARADAĞ SARI'ya, Doç. Dr. Turgay DEPREM'e, Doç. Dr. Serap KORAL TAŞCI'ya, Doç. Dr. Seyit Ali BİNGÖL'e, Doç. Dr. Sevdâ ELİŞ YILDIZ'a, Dr. Seher KOÇ SALTAN'a, doktora öğrencisi sayın Serap İLHAN'a, desteğinden dolayı KAÜ bilimsel araştırma projeleri koordinatörlüğüne, her zaman maddi ve manevi desteği ile yanımda olan eşim Sibel Gürbüzöğlü YALMANCI ve kızım Duru YALMANCI'ya, yetişmemde en büyük emek sahibi, varlıklarını hep yanımda hissettiğim sevgili anne ve babama ve adını yazamadığım yardımcı olan herkese çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER	Sayfa
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER	III
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	V
ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ	VI
TABLolar DİZİNİ	IX
ÖZET	X
SUMMARY	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Sindirim sistemi	2
2.2. İncebağırsak	2
2.3. Melatonin	5
2.4. Ghrelin	8
2.5. Motilin	10
2.6. Ghrelin ve motilin ilişkisi	12
2.7. Melatonin, ghrelin ve motilin ilişkisi	16
3. MATERYAL ve METOT	20
3.1.1. Deney hayvanı materyali	20
3.1.2. Melatonin	20
3.2. METOT	21
3.2.1. Melatonin uygulaması	21
3.2.2. Canlı ağırlık tartımı	21
3.2.3. İncebağırsak doku örneklerinin alınması	21
3.2.4. Histolojik incelemeler	22
3.2.5. Histometrik incelemeler	22
3.2.6. İmmunohistokimyasal incelemeler	22
3.2.7. İstatistiksel analiz	24

4. BULGULAR	25
4.1. Canlı ağırlık bulguları	25
4.2. Histometrik bulgular	27
4.3. Histolojik bulgular	29
4.4. İmmunohistokimyasal bulgular	37
4.4.1. Motilin'nin immunohistokimyasal bulguları	37
4.4.2. Ghrelin'nin immunohistokimyasal bulguları	53
5. TARTIŞMA	69
6. SONUÇ	75
7. ÖNERİLER	76
8. KAYNAKÇA	77
EK 1: ÖZGEÇMİŞ	
EK 2: ETİK KURUL	

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGE	AÇIKLAMA
°C	Santigrat derece
Dl	Desilitre
Gr	Gram
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
mg	Miligram
µm	Mikrometre
pH	Asitlik
%	Yüzde

KISALTMA	AÇIKLAMA
Mo	Motilin
Vİ	Villus intestinalis
LE	Lamina epitelyalis
LP	Lamina propria
LM	Lamina muskularis
S	Submukoza
TM	Tunika mukoza
TM	Tunika muskularis
TS	Tunika seroza
İP	İmmünopozitif
İR	İmmünoreaktif

ŞEKİLLER DİZİNİ	Sayfa
Şekil 1. Duodenum'da histometrik değerlerin istatistiksel sonucunun grafikte gösterimi.	27
Şekil 2. Jejunum'da histometrik değerlerin istatistiksel sonucunun grafikte gösterimi.	28
Şekil 3. İleum'da histometrik değerlerin istatistiksel sonucunun grafikte gösterimi.	29
 RESİMLER DİZİNİ	
Resim 1. Kontrol grubu duodenum'un histolojik görünümü. Triple boyama.	31
Resim 2. Melatonin grubu duodenum'un histolojik görünümü. Triple boyama.	31
Resim 3. Melatonin grubunda duodenum viluslarının genel görünümü.	32
Resim 4. Melatonin grubunda jejunum'un genel görünümü.	32
Resim 5. Kontrol grubu jejunum villusları genel görünümü.	33
Resim 6. Sham grubu jejunum'un genel görünümü.	33
Resim 7. Kontrol grubunda ileum'un genel görünümü.	34
Resim 8. Melatonin grubunda ileum'un genel görünümü.	34
Resim 9. Kontrol grubu duodenum'da genel görünüm.	35
Resim 10. Kontrol grubu jejunum'da genel görünüm.	35
Resim 11. Sham grubu jejunum'da genel görünüm.	36
Resim 12. Melatonin grubu ileum'da genel görünüm.	36
Resim 13. Kontrol grubu duodenum'da motilin immünoreaktivitesi.	40
Resim 14. Melatonin grubu duodenum'da motilin immünoreaktivitesi.	40
Resim 15. Kontrol grubu duodenum'da motilin immünoreaktivitesi.	41
Resim 16. Melatonin grubu duodenum'da motilin immünoreaktivitesi.	41
Resim 17. Sham grubu duodenum'da motilin immünoreaktivitesi.	42

Resim 18. Melatonin grubu duodenum'da motilin immünoreaktivitesi.	42
Resim 19. Kontrol gurubu duodenum'da motilin imünoreaktivitesi.	43
Resim 20. Melatonin grubu duodenum'da motilin immünoreaktivitesi.	43
Resim 21. Kontrol grubu jejunum'da motilin immünoreaktivitesi.	44
Resim 22. Melatonin grubu jejunum'da motilin immünoreaktivitesi.	44
Resim 23. Kontrol grubu jejunum'da motilin immünoreaktivitesi.	45
Resim 24. Melatonin grubu jejunum'da motilin immünoreaktivitesi.	45
Resim 25. Sham grubu jejunum'da motilin immünoreaktivitesi.	46
Resim 26. Melatonin Grubu Jejunum'da Motilin İmmünoreaktivitesi.	46
Resim 27. Sham grubu jejunum'da motilin immünoreaktivitesi.	47
Resim 28. Melatonin grubu jejunum'da motilin immünoreaktivitesi.	47
Resim 29. Kontrol grubu ileum'da motilin immünoreaktivitesi.	48
Resim 30. Melatonin grubu ileum'da motilin immünoreaktivitesi.	48
Resim 31. Sham grubu ileum'da motilin immünoreaktivitesi.	49
Resim 32. Melatonin grubu ileum'da motilin immünoreaktivitesi.	49
Resim 33. Kontrol grubu ileum'da motilin immünoreaktivitesi.	50
Resim 34. Melatonin grubu ileum'da motilin immünoreaktivitesi.	50
Resim 35. Kontrol grubu ileum'da motilin immünoreaktivitesi.	51
Resim 36. Melatonin grubu ileum'da motitin immünoreaktivitesi.	51
Resim 37. Negatif kontrol incebağırsakta.	52
Resim 38. Kontrol grubu duodenum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	56
Resim 39. Melatonin grubu duodenum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	56
Resim 40. Kontrol grubu duodenum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	57
Resim 41. Melatonin grubu duodenum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	57

Resim 42. Kontrol grubu duodenum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	58
Resim 43. Melatonin grubu duodenum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	58
Resim 44. Kontrol grubu duodenum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	59
Resim 45. Melatonin grubu duodenum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	59
Resim 46. Kontrol grubu jejunum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	60
Resim 47. Melatonin grubu jejunum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	60
Resim 48. Kontrol grubu jejunum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	61
Resim 49. Melatonin grubu jejunum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	61
Resim 50. Kontrol grubu jejunum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	62
Resim 51. Melatonin grubu jejunum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	62
Resim 52. Kontrol grubu jejunum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	63
Resim 53. Melatonin grubu jejunum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	63
Resim 54. Kontrol grubu ileum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	64
Resim 55. Melatonin grubu ileum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	64
Resim 56. Kontrol grubu ileum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	65
Resim 57. Melatonin grubu ileum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	65
Resim 58. Sham grubu ileum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	66
Resim 59. Melatonin grubu ileum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	66
Resim 60. Kontrol grubu ileum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	67
Resim 61. Melatonin grubu ileum'da ghrelin immünoreaktivitesi.	67
Resim 62. Negatif kontrol incebağırsakta.	68

TABLolar LİSTESİ	Sayfa
Tablo 1: Ghrelin ve Motilin.	15
Tablo 2: Deney grupları ve deneysel uygulamalar.	21
Tablo 3: Dokulardaki motilin ve ghrelin immünoreaktivitesinin derecelendirilmesi.	23
Tablo 4: Grupların günlere göre ortalama canlı ağırlıkların karşılaştırılması.	25
Tablo 5: Duodenum'da belirlenen villus uzunluğu, villus eni ve kript derinliğinin istatistiki sonuçları.	27
Tablo 6: Jejunum'da belirlenen villus uzunluğu, villus eni ve kript derinliğinin istatistiki sonuçları.	28
Tablo 7: İleum'da belirlenen villus uzunluğu, villus eni ve kript derinliğinin istatistiki sonuçları.	29

ÖZET

Çalışmamızın amacı melatoninin incebağırsak dokusu üzerine etkilerini immünohistokimyasal, histolojik ve histometrik yöntemlerle incelemektir. Bu amaçla 10- 12 haftalık 30 adet Spraque Dawley ratlar kullanıldı. Kontrol grubu, Sham grubu ve Deneme (Melatonin) grubu olmak üzere, rastgele ve sistematik yöntemle, üç grup oluşturuldu. Denemeye ait ratlara etanolde çözdürülüp serum fizyolojikle sulandırılmış olan 10 mg/kg dozdaki melatonin 21 gün süre ile intraperitoneal yolla günlük olarak enjekte edildi. Sham grubuna 21 gün süre ile her gün deneme grubuna uygulanan miktarda etanol ve serum fizyolojik intraperitoneal yol ile uygulandı. Kontrol grubuna ise hiçbir uygulama yapılmadı. Deneysel sürecin sonunda alınan incebağırsak dokuları üzerinde histometrik, immünohistokimyasal ve semikantitatif incelemeler yapıldı. Sonuç olarak; histometrik incelemelerde; duodenumda villus uzunluğu ve eni için melatonin grubu, kontrol ve sham grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark bulundu. Jejunumda ise sadece villus uzunluğu bakımından melatonin grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı fark bulundu. İleumda ise gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı. İmmünohistokimyasal olarak melatonin uygulanan grupta duodenum, jejunum ve ileumda, motilin ve ghrelin immünoaktivitesinin azaldığı tespit edildi.

Anahtar kelimeler: Ghrelin, incebağırsak, melatonin, motilin, rat.

SUMMARY

The aim of this study was to investigate the effects of melatonin on small intestine by immunohistochemical, histological and histometric methods. For this purpose, 30 Sprague Dawley rats aged 10-12 weeks were used. The control group, Sham group and Trial (Melatonin) group were randomly and systematically divided into three groups. Melatonin (10 mg / kg), which was dissolved in ethanol and diluted with saline, was injected intraperitoneally for 21 days. Sham group was administered intraperitoneally by physiological ethanol and saline in the experimental group for 21 days. No application was made to the control group. Histometric, immunohistochemical and semiquantitative examinations were performed on the small intestine tissues obtained at the end of the experimental process. As a result; histometric examinations; There was a significant difference in villus length and width in the duodenum when compared with melatonin group, control and sham groups. In jejunum, only significant difference was found between melatonin group and other groups in terms of villus length. There was no significant difference between ileum groups. Immunohistochemically, it was determined that motilin and ghrelin immunoreactivity decreased in duodenum, jejunum and ileum in melatonin group.

Key words: Ghrelin, small intestine, melatonin, motilin, rat.

1.GİRİŞ

Melatonin hormonu, asıl olarak pineal bezden salgılanır. Kardiak ritmin düzenlenmesi, immüno-regulasyon mekanizmaları, antioksidan fonksiyonlar, duyguların ve uykunun düzenlenmesi gibi birçok fonksiyonu yerine getirir (Hadley 1992). Gastrointestinal sistemdeki mukozanın nöro-endokrin hücreleri tarafından da üretilen melatonin; biyolojik saatte, besin alımı (açlık ve tokluk) ve miyoelektrik ritminin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Son yıllarda yapılan çalışmalar çalışmalar melatoninin gastrointestinal sistemin motilitesi üzerine düzenleyici etkisi olduğunu göstermiştir (Konturek ve ark. 2011).

Sindirim sistemi; sindirim kanalı ve bu kanala açılan bezlerden oluşur. Sindirim kanalının en uzun bileşeni olan incebağırsaklar duodenum, jejunum ve ileum olarak üç kısımda incelenir ve bu kısımlarda çok farklı hücre grupları bulunmaktadır. Bu hücre gruplarından biride enteroendokrin hücreler dediğimiz hücre gruplarıdır. Bu hücreler sindirim sistemi mukozasına yerleşmiş özel hücrelerdir (Gülmez 2008).

Enteroendokrin hücreler gastrointestinal sistemdeki tüm epitelyal hücrelerin % 1'i oluşturmalarına rağmen bir bütün olarak düşünüldüğünde vücuttaki en büyük endokrin organ olarak kabul edilirler (Ross ve Pawlina 2011). Enteroendokrin hücreler içinde motilin ve ghrelin önemli bir yer tutar. Bu iki hormon incebağırsağın motilitesini ayarlamakta, ritmik kasılmalara neden olmakta ve peristaltik hareketlerle besinin ilerlemesini sağlamaktadır (Kastin 2013, Masuda ve ark. 2000, Vantrappen ve ark. 1979).

Motilin ve ghrelin arasındaki ilişkiyi inceleyen (Wierup ve ark. 2007), birkaç çalışma mevcuttur. Ancak melatonin ile motilin ve ghrelin arasındaki ilişkiyi inceleyen immünohistokimyasal çalışmalara rastlanmamıştır.

Çalışmamızın amacı melatoninin incebağırsaklarda motilin ve ghrelin salınımına etkisi ile incebağırsaktaki histolojik değişimleri incelemektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. SİNDİRİM SİSTEMİ

Sindirim sistemi ağız ile başlayıp anüsle son bulan ve yer yer genişlemeler gösteren kanal şeklindeki organlar (ağız boşluğu, yutak, yemek borusu, mide, bağırsaklar, anüs) ile bu kanalın dışına yerleşmiş olan ve salgılarını bu organlara aktararak sindirim mekanizması üzerinde rol oynayan bezlerden (tükrük bezi, pankreas, karaciğer) oluşmuştur. Sindirim sisteminin temel fonksiyonları; organizmanın enerji ihtiyacını ve yapısal unsurlarını karşılamak üzere besinleri alma, mekaniksel ve kimyasal yolla parçalama, emme, emilen maddelerin yeniden kullanılması üzerinde kan ve lenf damarlarına verilmesi ve emilmeyen artık maddelerin dışarı atılması şeklinde sıralanır (Gülmez 2008).

2.2. İNCE BAĞIRSAK

İnce bağırsak, mide ve kalın bağırsak arasında kalan sindirim kanalının boru şeklindeki parçasıdır (Murathanoğlu 1996). Sindirim kanalının en uzun parçası olan incebağırsak proksimal’de duodenum, ortada jejunum ve distal’de ileum olmak üzere üç farklı bölüme ayrılır (Erdoğan 1996, Junquera 1998, Gartner 2001). Duodenum, mideden sonra gelen incebağırsağın ilk bölümü (Zhang 1999) en kısa ve en geniş parçasıdır (Gartner 2001, Arıncı 2006). Submukoza tabakasında bulunan Brunner bezlerini duodenumu incebağırsağın diğer bölümlerinden ayırt eder (Kierszenbaum 2006). Jejunum ince bağırsağın duodenum’dan sonra gelen bölümüdür. Jejunum, submukoza tabakasında bez içermez. İleum ise incebağırsağın distal bölümüdür. Peyer plaklarının (lenfatik nodüller) bulunması ileum’un en karakteristik özelliğidir (Ross ve Pawlina 2011).

İncebağırsaklar emilimin yapıldığı esas organlardır. İncebağırsakta emilim yüzeyini arttırmak için üç yapısal özellik kazanmışlardır. İnce bağırsak mukozası iç yüzeyde katlanmalar gösterir ki bu katlanmalara pilika sirkularis denir. İnce bağırsağın lümenine bakan yüzeyleri parmak şeklinde mukoza çıkıntıları içerir bunlara villus intestinalis adı verilir. İnce bağırsak lümenini sıralayan epitel hücrelerinin apikal yüzeyleri çok sayıda mikrovillus içerir. Bu yapılar ince bağırsakların yüzeyini oldukça

genişletir. Bu da yoğun bir emilim işlemin gerçekleştiği bir organda görülen önemli bir özelliktir (Gülmez 2008).

Sindirim kanalının diğer bölümlerinde olduğu gibi ince bağırsaklar da histolojik olarak tunika mukoza, tunika muskularis ve tunika seroza'dan oluşur (Eşrefoğlu 2009, Gülmez 2008).

1-) Tunika Mukoza: Tunika mukoza üç tabakadan meydana gelir. Bunlar lamina epitelyalis, lamina propriya ve lamina muskularis katmanlarını içerir (Erdoğan ve ark., 1996). Ağız boşluğundaki organlar ve anüs kutan mukoza ile kaplıyken mide, ince ve kalın bağırsaklar ise glandüler mukoza ile kaplıdır (Gülmez 2008).

a)Lamina epitelyalis: Kutan mukozalarda çok katlı yassı, glandüler mukozada ise tek katlı veya yalancı çok katlı prizmatik epitel hücrelerinden meydana gelir (Gülmez 2008). Bu bağırsak bölümünde en az beş farklı hücre bulunmaktadır; emilim yapan hücreler (Enterositler), kadeh hücreleri, enteroendokrin hücreler, M-hücreleri ve Paneth hücreleri olmak üzere beş tip hücre vardır (Ross ve Pawlina 2011).

b)Lamina propria

Lamina propria kan ve lenf damarları, sinir lifleri ve düz kas hücreleri içeren gevşek bağ dokusundan oluşur. Kollagen iplikler yanında, elastik ve retikulum ipliklerini de içeren, hücreden zengin bir dokudur. Bu dokunun içinde intestinal kriptler (Lieberkühn kriptleri) olarak adlandırılan oluşumlar bulunur (Bloom ve Fawcett 1975). Lamina propria, ince bağırsak villuslarının içine kan ve lenf damarları, sinirler, bağ dokusu ve düz kas hücreleriyle birlikte girer. Düz kas hücreleri, villusların emilim için önemli olan kasılma hareketlerini sağlar (Ross ve Pawlina 2011).

Kutan mukozalarda çok katlı olan epitel hücrelerinin beslenebilmesi için bağ dokusu mikroskobik papillalar şeklinde epitel tabakası içine girer. Kutan mukoza tabakasında bez bulunmazken, glandüler mukozaya sahip organlarda bezler bulunur. Ayrıca bağ doku unsurları ile beraber lenfoid doku unsurları, sinir hücreleri ve sinir telleri de görülür (Gülmez 2008).

İnce bağırsak bezleri (Lieberkühn kriptaları), lamina propriya'ya yerleşmişlerdir ve muskularis mukozaya kadar uzanan basit tübüler özellikteki bezlerdir. Salgılarını küçük bir delikle villuslar arasına boşaltırlar (Ross ve Pawlina 2011).

c) Lamina muskularis: Düz kas tellerinin oluşturduğu ince kas tabakasıdır (Gülmez 2008). Tunika mukozanın en dış katmanı lamina muskularis'tir. İçte enlemesine dışta uzunlamasına düzenlenmiş düz kas hücrelerinden ve elastik liflerden oluşur. Bu katmanlardan ayrılan kas telleri lamina propria'ya girerek kripler arasında ve ince bağırsaklarda villusların uç kısmına kadar uzanırlar. Kaslar sindirim sırasında kasılarak; villus boyunun kısalıp uzamasını sağlarlar. Böylece sindirim kanalındaki yiyecekler karıştırılarak, ileri doğru itilir ve besin maddelerinin emilimi sağlanır (Erdoğan 1996, Gartner 2001).

2-) Tunika Submukoza

Mukozanın altında bulunan ve gevşek bağ dokusu yapısına sahip olan tabakadır. Hem kutan mukozaya sahip hem de glanduler mukozaya sahip bazı organlarda bezler içerir. Lamina propria'da olduğu gibi submukoza içerisinde ve bağ dokusu unsurları ile beraber kan ve lenf damarları, sinir hücreleri (meissner korpüskülleri) ve sinir telleri bulunur (Gülmez 2008).

3-) Tunika Muskularis: Besin maddelerinin ileri doğru iletilmesinden sorumlu olan kas tabakasıdır. Kanal şeklindeki sindirim organlarında, genellikle iki kat halindedir ve içteki kas tabakası dairesel, dıştaki ise uzunlamasına yerleşim gösterir. İçteki ve dıştaki kas tabakaları arasında Auerbach miyenterik sinir pleksusları bulunur (Gülmez 2008).

İki kas katı arasındaki gevşek bağ dokuda miyenterik sinir pleksusu, kan ve lenf damarları bulunur. İçteki dairesel kas katmanı mideden gelen besinlerin sindirim enzimleriyle karışmasını ve mukozaya iletilmesini sağlar. Dıştaki uzunlamasına kas katmanının ise bağırsak içeriğinin lümeninde ilerlemesine yardımcı olur (Erdoğan 1996, Junquera 1998, Gartner 2001).

4-) Tunika Serosa/Tunika adventisya:

Tunika adventisya tunika muskularis'i dıştan saran bağ doku tabakasıdır. Göğüs, kalp kesesi ve karın boşluğu içerisindeki organlar tunika seroza ile sarılırken bu boşluklar dışında yerleşmiş olan organlar bağ dokudan meydana gelen adventisya ile sarılır. Seroza tabakası bağ dokudan oluşur. Vücut boşlularındaki zarlar bu boşluklarda bulunan organların üzerini sarar, bu nedenle seroza tabakasının üzeri mezotel hücreleri ile döşenmiştir. Adventisya yüzeyinde ise mezotel hücreleri bulunmaz (Gülmez 2008).

ENTEROENDOKRİN HÜCRELER

Tüm gastrointestinal kanala yayılmış hormon salgılayan hücrelerdir. Salgılarını bez hücrelerine değil kan damarlarına verirler. Sindirim sistemi fizyolojisinin düzenlenmesinde önemli rol oynarlar (Ross ve Pawlina 2011).

Enteroendokrin hücreler yemek borusundan başlayarak tüm sindirim sistemi boyunca farklı sayıda ve yoğunluklarda bulunabilen özelleşmiş hücrelerdir (Ku ve ark. 2000). Genel olarak gastrointestinal kanal boyunca 2 tip enteroendokrin hücre ayırt edilebilir. Bu hücrelerin çoğu bazal laminaya oturan, lümene her zaman ulaşamayan küçük hücrelerdir. Bu hücreler enteroendokrin kapalı hücreler olarak bilinir. Bununla birlikte bazı hücrelerde bezin lümene uzanan mikrovilluslar bulunur. Bu hücelere enteroendokrin açık hücreler denir. Açık hücreler bez lümeninin içeriğine göre hormon salgılayan primer kemoreseptörler olarak görev yaptıkları bilinmektedir (Ross ve Pawlina 2011, Ku ve ark. 2004).

Enteroendokrin hücreler sindirim kanalı mukozasında bulunan özelleşmiş hücrelerdir. Gastrointestinal kanaldaki epitelyal hücrelerin % 1'inden azını oluşturmalarına karşın bir bütün halinde düşünüldüklerinde vücutta bulunan en büyük endokrin organı oluştururlar. Enteroendokrin hücreler, merkezi sinir sisteminin sinyal moleküllerini ve düzenleyici ajanların çoğunu salgılayan nörosekretuar hücelere yakından benzemektedirler ve bu nedenle nöroendokrin hücreler olarak adlandırılmaktadır. Bu hücrelerin çoğu gastrointestinal kanalın hiçbir spesifik bölümünde kümeler halinde gruplanmamaktadırlar. Aksine enteroendokrin hücreler gastrointestinal epitelyum boyunca tek tek dağılmışlardır. Bu nedenle Diffus nöroendokrin sistemin bir bölümünü oluşturdukları belirtilmektedir (Ross ve Pawlina 2011).

2.3. MELATONİN

Melatonin, ilk kez 1958 yılında Lerner ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Pineal bezden salgılanan bir molekülün kurbağa derisinin rengini açması ve derideki melatonin granüllerini aglütine etmesiyle belirlenmiştir (Lerner 1961). Lerner bu maddeyi Yunanca'da siyah anlamına gelen "melas" ve iş anlamına gelen "tosos" kelimelerini birleştirerek "melatonin" olarak adlandırmıştır (Çam 2003, Lerner 1961).

Kan dolaşımındaki melatonin miktarının yaklaşık %80'i pineal bezden sentezlenir (Maksimovich 2002). Pineal bez, omurgalıların beyinde yer alan kırmızı-gri renkte, mevsimsel fonksiyonları etkileyen bir bezdir (Aksoy ve Erbaş 2017). Epifiz olarak da isimlendirilen pineal bezin ilk olarak M.Ö. 3. yüzyılda İskenderiyeli Herophilus tarafından ortaya konduğu bildirilmiştir (Erlich ve Apuzzo 1985). Pineal sözcüğü ise yine Latince'de çam kozalağı anlamına gelen "pinea" kelimesinden ileri gelmektedir (Lerner ve ark. 1958).

Melatonin doğal bir nörotransmitterdir. Vücutta birçok biyolojik ve fizyolojik düzenlemelerde görev alır. Ana görevi vücudun biyolojik saatini koruyup ritmini ayarlamaktır (Macchi ve Bruce 2004, Claustrat ve ark. 2005). Melatoninin diğer etkileri ise şu şekilde sıralanabilir; apopitozu uyardığı (Toubi ve shoefeld 2007, Lin ve ark. 2017), uyku bozukluklarının tedavisinde kullanıldığı (Auld ve ark. 2017), uyuma problemi olanlarda uyku süresinin ve kalitesinin arttırdığı (Tsuzuki ve ark. 2004), radyasyon sonucu oluşan yapısal dejenerasyonu engellediği (Yücel ve ark. 2017), yaşlanmayı önleyici maddelerin segresyonunu arttırdığı (Hardeland 2017), ribozomun faaliyetini uyardığı ve otofajiyi azalttığı (Tamura ve ark. 2017), DNA'yı oksidatif hasardan koruyarak kanser gelişimini engellediği, antioksidan enzimleri uyardığı, lipid peroksidasyonunu engellediği, beyini serbest radikallerden koruduğu (Kerman ve ark. 2005), hücre döngüsünün modülasyonununa ve telomeraz aktivitesinin inhibisyonununa neden olduğu, metastazı antogonize etme kabiliyetinin olduğu, anti-anjiyogenez, epigenik etkiler ve büyüme faktörü alınımının inhibisyonuna ve tümör büyümesine karşı koyduğu (Reiter 2004), vücut ısısını düzenlediği (Cagnacci ve ark. 1997, Gillette ve McArthur 1996) kan damarlarını genişletip kalp krizini ve inflamasyonu azalttığı (Schilling 2017), hücrelerin yenilenmesine ve bağışıklık sistemine katkısının (Claustrat ve ark. 2005, Maccini ve Bruce 2004) olduğu belirlenmiştir. Melatoninin güçlü bir antioksidan etkisinden de söz edilebilir (Reiter ve ark. 2000). Bu antioksidan etki in vivo ve in vitro olarak kendisini gösterebilir, antioksidanlar içerisinde en güçlü radikal tutucu olarak melatonin gösterilmektedir (Assayed ve Abd E-Aty 2009).

Melatonin sentezinde rol alan en temel madde triptofandır. Bu temel aminoasitin dışarıdan besinlerle alınması gereklidir (Rahman ve ark. 1982). Bu hormonun depolanma özelliği yoktur, kana ve vücut sıvılarına hemen dağılır, kanda %60-70

oranında albümin proteini ile taşınır (Macchi ve Bruce 2004). Hücrenin hemen her organelinde bulunabilir (Klin 2002, Arendt 1988).

Asetil 5-metoksi triptamin olarak da bilinen melatonin hormonu özellikle gece saatlerinde salgılanır (Claustrat ve ark. 2005). Melatonin hormonunun salgılanması pinealosit hücrelerinin ışığa duyarlı olmasına bağlıdır. Bu duyarlılık sayesinde ışıkla ortaya çıkan engellenme, karanlıkta ortadan kalkar ve melanositlerin melatonin salgılaması tekrar artar (Çam ve Erdoğan 2003). Melatonin salınımı özel bir ritme sahiptir. Akşam 21.00-22.00 saatlerinde artmaya başlar, 02.00-04.00 saatlerinde en üst seviyeye ulaşır. Sabah 05.00-07.00'de azalmaya başlar ve 07.00'den sonra bazal seviyelere düşer. Melatoninin kan konsantrasyonu gündüz saatlerinde yaklaşık 0-20 pg/dl düzeylerinde iken, gece saatlerinde 50-200 pg/dl düzeylerine yükselir ve gece boyunca ortalama 30 mg melatonin sentezlenir (Claustrat ve ark. 2005, Çam ve Erdoğan 2003, Mollaoğlu ve Özgüner 2005).

Melatonin sentezi sadece pineal bez ile sınırlı değildir (Maksimovich 2002). Pineal bez dışında Harder bezi, lakrimal bez, retina, hipotalamus, eritrositler, trombositler ve gastrointestinal sistemdeki bazı hücrelerin de melatonin sentezlediği gösterilmiştir. Ayrıca solunum yollarında, karaciğer, böbrek, adrenal bezler, timus, tiroid ve plasenta dokularında, mast hücreleri gibi nöroendokrin karakterde olmayan hücrelerde ve eozinofilik lökositlerde de olduğu belirlenmiştir. Ancak bu sentezlenen miktarın kan dolaşımındaki melatonin düzeyine katkısı çok küçüktür (Maksimovich 2002, Kvetnoy ve ark. 1997, Bourne ve Mills 2006, Cardinali ve Pevet 1998)

Diffüz nöroendokrin sistemin bir parçası olarak kabul edilen APUD (Amine Precursor Uptake Deamin) hücrelerinden ve gastrointestinal kanaldaki enterokromaffin hücrelerinde de önemli miktarlarda melatonin sentezi olduğu tespit edilmiştir (Bubenik ve Pang 1994, Üstündağ ve Canatan 1999). Gastrointestinal kanaldaki nöroendokrin hücrelerden salgılanan melatonin açlık ve tokluk durumunda bağırsaktaki biyolojik ritimin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Uyku rahatsızlıkları ve vardiyalı çalışma dan dolayı sirkadiyen fizyolojinin bozulması çeşitli gastrointestinal hastalıklara sebep olabilmektedir (Konturek ve ark. 2011).

Gastrointestinal mukozadaki nöro-endokrin hücreleri tarafından üretilen melatonin, gıda alımına ve miyoelektrik ritmine bağlı olarak iç biyolojik saatte önemli bir rol oynamaktadır. Gastrointestinal sistemde ışık-karanlık döngüsünün bir endokrin

kodlaması olduğu görülmektedir. Gastrointestinal sistemdeki hücre çoğalmasının ritmi, motor ve salgılama aktivitesi, otonomik hücrelerin ve bazı enterohormonların aracılık ettiği birçok sirkadiyen ritme bağlıdır. Gastrointestinal sistemdeki sirkadiyen fizyolojinin bozulması, irritabl bağırsak sendromu (IBS), gastroözofageal reflü hastalığı (GERD) veya peptik ülser hastalığı gibi çeşitli gastrointestinal hastalıklara neden olabilir. Klinik çalışmalar, melatonin verilmesinin IBS ve GERD hastalarında semptomları iyileştirdiğini göstermiştir. Melatoninin gastrointestinal mukozayı önemli derecede koruduğunda belirlenmiştir (Konturek ve ark. 2011). Deneysel çalışmalarda melatoninin gastrointestinal motilitede düzenleyici etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Lu ve ark. 2005).

2.4. GHRELİN

Ghrelın 1999 yılında Kojima ve arkadaşları tarafından keşfedilen 28-amino asitli bir peptittir (Kojima ve ark. 1999). "Ghrelın" ismi, Proto-Hint-Avrupa dillerinde "büyüme" manasına gelen 'ghre'den kaynaklanmakta ve hipofizden büyüme hormonu (GH) salınımını uyarabilme yeteneğini ortaya koymaktadır (Kukol 2008).

Ghrelinin primer yapısı üçüncü aminoasit olan serine n-oktanoat bağı bir moleküler yapıya sahiptir (Kukol 2008, Kojima ve ark.2008, Kojima ve ark. 1999). Ghrelın iki farklı moleküler form olarak bulunur; 28 amino asitlik acyl ghrelın (modifiye form) ve 27 amino asitlik des-acyl ghrelın (modifike edilmemiş form) (Ariyasu ve ark. 2001, Fujimiya ve ark 2010). Rat midesindeki ghrelın immünreaktivitesinin beşte birini açıl ghrelın oluşturmaktadır (Hosoda ve ark. 2000).

Ghrelinin gastrik hareketlilik üzerindeki etkisi incelenmiştir. Ratlarda, ghrelın tokluk ve açlık sırasında antrum ve duodenumun motilitesi üzerinde uyarıcı etkiler yapmaktadır (Fujimiya ve ark. 2008). Ghrelın, antrum ve jejunumdaki faz III benzeri kasılmalarını ve motilite indeksini önemli ölçüde arttırmıştır (Taniguchi ve ark. 2008). Ghrelın'ın de gastrointestinal hareketliliğini uyardığı bildirilmiştir (Taniguchi ve ark. 2008, Fujino ve ark. 2003, Tack ve ark. 2006, Kitazawa ve ark. 2005). Açıl ghrelın'ın, ratların duodenumunda motor aktiviteyi indüklediği ve ince bağırsağın göç eden motor komplekslerini (MMC) aktive ettiğini göstermiştir (Fujino ve ark. 2003). Acyl ghrelinin ratlarda duodenumda ve jejunumda MMC döngüsünün uzunluğunu doz bağımlı olarak kısalttığı gösterilmiştir (Edholm ve ark. 2004). Açıl ghrelın'ın merkezi ve periferal

enjeksiyonlarının fare (Kitazawa ve ark. 2005, De Winter ve ark. 2004, Dornonville de la Cour ve ark. 2004, Asakawa ve ark. 2001) ve ratlarda (Trudel ve ark. 2002, Fukuda ve ark. 2004, Chen ve ark. 2005, Depoortere ve ark. 2005, Levin ve ark. 2005, Chen ve ark. 2008) gastrik boşalmayı hızlandırdığı gösterilmiştir. Ghrelin uygulaması, rat midesinde (Fujino ve ark. 2003) ve insan midesinde (Tack ve ark. 2006) MMC'nin faz III benzeri kasılmalarını indüklemiştir.

Ghrelin en yoğun midede X/A benzeri hücrelerde üretilirken (Sakata ve ark. 2002, Kojima ve ark. 1999), hipotalamik bölgelerde, beyinde, pankreasta, yağ dokusunda, kalpte, akciğerlerde ve hipofizde de üretildiği bildirilmiştir (Kojima ve ark. 1999, Cowley ve ark. 2003, Korbonits ve ark. 2001). Ghrelin ratlarda mide dışında duodenum, ileum, sekum ve kolon dahil gastrointestinal sistemin tüm bölgelerinde tespit edilmiştir (Sakata ve ark. 2002). Ghrelin, memeliler, kuşlar (Kaiya ve ark. 2002, Wada ve ark. 2003), amfibiyenler (Kaiya ve ark. 2001,2006), sürüngenler (Kaiya ve ark. 2004) ve balıklarda (Kaiya ve ark. 2009, Miura ve ark. 2009) tespit edilmiştir ve ilk yedi amino asit dizisi türler arasında korunmuştur (Kojima 2008).

Duodenum, ileum, sekum ve kolonda ghrelin salgılayan hücreler kriptlerin ve villusların epitellerinde tespit edilmiştir. Midede ghrelin salgılayan hücreler küçük ve yuvarlak şekilli kapalı tip hücre yapısındadır. Duodenum, jejunum, ileum, sekum ve kolonda ise ghrelin üreten hücreler üçgen ya da uzun şekilli kapalı tip hücreler ile apikal stoplazmik uzantıları olan lümenle temas eden açık tip hücre yapısındadır. Kemirgenlerde ghrelin salgılayan hücrelerinin büyük çoğunluğu kapalı tip hücreler olup mide mukozasında glandüler gövdeye ve tabana dağılmıştır (Ishida ve ark. 2009). Ghrelin asıl immünoreaktivitesini midede göstermektedir. Duodenum'dan ileuma doğru reaksiyon oranı azalmıştır. Kalın bağırsakta ise hiç reaksiyon gözlenmemiştir (Yukari ve ark. 2000). Melatonin uygulanan ratların böbrek ve karaciğerinde ghrelin immünoreaktivitesi incelenmiş, karaciğerdeki ghrelin immünoreaktivitesinin vena sentralis etrafındaki hepatositlerde çok daha yoğun olduğu, böbrekte ise tubulus proksimalis, inen henle ve çıkan henle kulpu ile toplayıcı borucuklarda da ghrelin immünoreaktivitesinin olduğunu tespit etmişlerdir (Saltan ve Aslan 2017).

Yukari (2000) ve arkadaşlarının rat ve insanın incebağırsağında yaptığı immünohistokimyasal çalışmalarda incebağırsağın üst kısmında (Duodenum) az miktarda, alt incebağırsak (Jejunum ve İleum) ve kolonda ise daha az miktarda ghrelin

immünoreaktivitesi tespit etmişlerdir. Hem insan hemde ratlarda ghrelin immünoreaktivitesinin hücrelerin bazal kısmında daha yoğun olduğu gösterilmiştir. Grönberg ve ark. (2008)'nın insan incebağırsağında yaptığı immünohistokimyasal çalışmada ghrelin salgılayan hücreleri gastrointestinal kanal mukozasında tespit etmişlerdir.

Rat gastrointestinal sistemindeki ghrelin üreten hücrelerin tespiti için yapılan immünohistokimyasal çalışmada mide, duodenum, ileum, sekum ve kolon mukozasında ghrelin immünoreaktivitesinin olduğu, ancak miyenterik pleksuslarda ghrelin immünoreaktivitesinin olmadığı tespit etmişlerdir (Sakata ve ark. 2002).

2.5. MOTİLİN

Motilin ilk olarak Brown ve arkadaşları tarafından 1973 yılında sekretin hormonunu saflaştırma sırasında yan ürün olarak elde edilmiştir (Brown ve ark. 1973). Domuz bağırsak mukozasından izole edilen (Brown ve ark. 1973,1976) motilin daha sonraları insanlardan (Strausberg ve ark. 2002), köpeklerden (Ohshiro ve ark. 2008), kedilerden (Xu ve ark. 2003), tavşanlardan da (Banfield ve ark. 1992) izole edilmiştir.

Brown gastrointestinal boşlukta motor aktiviteyi arttırdığı için bu hormona motilin adını vermiştir (Brown ve ark. 1973). 22 amino asitlik bir polipeptit olan motilinin molekül ağırlığı 2698 daltondur (Strausberg ve ark. 2002).

İsminden de anlaşılacağı gibi motilinin temel fonksiyonu gastrik motiliteyi uyarmaktır. Bunuda MMC nin Faz III kasılmalarını başlatarak yapar. MMC, insanlar da dahil olmak üzere birçok türün mide-bağırsak yolunda bulunur. MMC 4 fazdan oluşur ve kasılmaların en yoğun olduğu faz üçüncü fazdır (Deloose ve ark. 2012).

Motilin, sindirim sistemindeki besinlerin mideden başlayarak duodenuma ve ince bağırsağa göçünü düzenleyen gastrointestinal sistemdeki en hızlı motor aktivite artırıcıdır. Gastrointestinal sistemin boş olduğu dönemde motilinin plazma seviyesi 90 ile 120 dakikada döngüsel bir şekilde artar (Itoh 1997, Vantrappen ve ark. 1979). ve plazmadaki motilin düzeyin en yüksek değerine faz III de ulaşır (Zietlow ve ark. 2010). Motilinin bu döngüsel salınımı yemekten sonra kaybolur. Plazma motilinin bu döngüsel zirveleri güçlü peristaltik kasılmalara neden olur. Bu kasılma dalgalar şeklinde ilerler ve MMC'nin faz III kasılmaları olarak bilinir (İtoh ve ark. 1997, Vantrappen ve ark. 1979). Çoğu gastrointestinal hormon besinlerin sindirimi ve emilimini kolaylaştırmak için

yemekten sonra serbest bırakılır, motilin ise eşsiz bir hormondur interdigestif açlık döneminde periyodik olarak serbest bırakılır (Szurszewski ve ark. 1969, Poitras ve ark. 2008).

Açlık durumunda kemirgenlerin midesi ve duodenumunda insanlarda ve köpeklerde görüldüğü gibi net bir şekilde migrasyon faz III kasılmaları gözlenmiştir. Motilin doza bağlı olarak gastrik motiliteyi arttırmıştır (Sakahara ve ark. 2010). Köpeklerde midenin döngüsel kasılmaları ile tam uyumlu olarak plazma motilin konsantrasyonunun arttığı görülmüştür. Ayrıca, gıda alımıyla beraber plazma motilin konsantrasyonu düşmüş ve gastrik motor aktiviteside azalmıştır (Itoh ve ark. 1978).

Motilin hem in vitro hemde in vivo olarak büyüme hormonu salınımını uyardığı görülmüştür (Samson ve ark. 1982,1984). Tavşanlarda (Kohjitani ve ark. 1996) ve köpeklerde (Itoh ve ark. 1978) özefagusta kasılmaları ve MMC'i indüklediği gösterilmiştir. Ayrıca motilin jejunumda su ve tuz emilimini etkilemiştir (Svenningsson ve ark. 2008).

Motilin intestinal mukozada Mo hücreleri adı verilen özel hücreler tarafından üretilir. Mo hücreleri genellikle düzensiz şekil ve yoğunluğa sahip, yoğun granüller içeren küçük hücrelerdir (Poitras 2006). Mo hücrelerinin açık ve kapalı tipteki hücreleri vardır (İtoh 1990). Motilin en yaygın olarak bağırsak mukozasının proksimalinde başlıca da duodenum ve jejunumda izole edilmiştir (Poitras 2006, Mitznegg ve ark. 1976, Itoh 1990). İncebağırsağın son kısmına doğru sentez aktivitesi azalır. Safra kanalındaki endokrin hücrelerden de sentezlenirler (Svenningsson ve ark. 2008). İmmunoelektron mikroskopik gözlemlerde, motilin üreten hücrelerin nispeten küçük (180 nm- 200 nm) yoğun granüller içeren homojen bir çekirdeği, yuvarlak veya düzensiz bir şekli olduğu görülmüştür. Kemirgenlerde motilin immünoreaktivitesi gösteren hücreler mukoza tabakasında görülürken myenterik pleksusta tespit edilmemiştir (Tsutsui ve ark. 2009).

Rat gastrointestinal sisteminde belirlenen Mo hücreleri jejunumda yüksek duodenumda orta ileumda ise az sayıda olduğu tespit edilmiştir. Mide , çekum, kolon ve pankreasta motilin pozitif hücre bulunmadığı saptanmıştır. Rat bağırsağındaki Mo hücreleri iğ veya çokgen şeklinde görülmüştür. Mo hücreleri villus ve kriptlerin epitelinde yer yer belirlenmiştir (Sakai ve ark. 1994).

Tavşanlarda motilin-immünopozitif hücreler gastrointestinal sistem boyunca kriptlerin ve villusların epitellerinde gözlenmiştir. Motilin üreten hücreler üst ince bağırsakta bol miktarda bulunmuştur. Gastrointestinal (hücre / mm², ortalama) antrumda 0.41, duodenumda 8.2, jejunumda 1.9, ileumda 0.62, çekumda 0.19, proksimal kolonda 0.03 ve distal kolonda ise 0.39 yoğunluğunda bulunmuştur (Satoh ve ark. 1995) .

Kuşlarda yapılan bir çalışmada motilin immünoreaktif hücreleri mide ve duodenumda gözlemlenmiştir. Motilin-immünoreaktif hücreler mukozal epitelde açık tip hücreler olarak belirlenmiştir (Yamada ve ark. 1993).

İnsanda yapılan bir çalışmada motilin immünoreaktif hücreleri mukoza ve duodenal submukozada gözlenirken, duodenum kaslarında daha az miktarda motilin tespit edilmiştir (Ferri ve ark. 1987). İnsan jejunumunda ise jejunumun epitel dokusu dışında az miktarda motilin tespit etmişlerdir (Ferri ve ark. 1987).

İncebağırsakta yapılan bir çalışmada motilin hücrelerinin köpekte düzensiz şekilli, küçük, yoğun granüllü ve homojen çekirdekli, insanda ise yuvarlak, perinükleer mikrofilamanlar belirgin şekilde tespit etmişlerdir (Uellini ve ark. 1984). Afrika fillerinin incebağırsağında yapılan çalışmada motilin immünoreaktivitesini sadece duodenum ve ileumun mukozasında ve kriptlerinde az miktarda gözlenirken incebağırsağın diğer kısımlarında reaksiyon tespit etmemişlerdir (Van Aswegen ve ark. 1996). Yılanların incebağırsağında yaptığı çalışmada ise motilin immünoreaktivitesi gözlememiştir (Masini 1986).

2.6. GHRELİN VE MOTİLİN İLİŞKİSİ

Gastrointestinal sistem hacim olarak vücudun en büyük endokrin organıdır ve gastrointestinal sistemde üretilen hormonlar, enerji dengesinin korunmasında gastrik motilitede, büyümede, kardiovaskular sistemde önemli roller oynarlar. Gastrointestinal sistemin her bir bölgesinde birçok hormon tespit edilmiştir. Bunların başında da ghrelin ve motilin gelmektedir. Her iki hormonda üst ve alt bağırsakta üretilmektedir (Sakata ve Sakai 2011).

Her iki hormonda ghrelin-motilin ilişkili peptit ailesine dahil hormonlardır (Asakawa ve ark. 2001, Chen ve Tasai 2012) ve yapı olarak birbirlerine benzerler (Ohno ve ark. 2010). Ortak bir ata peptid'den evrimleşmiş olabilecek ghrelin ve motilin,

yapısal ve işlevsel olarak yeni bir peptid süper aileyi tanımlar. Bu iki peptid motilin ile ilgili peptitler olarak isimlendirmiştir (motilin-related peptide (MTRLRP) (Kojima ve ark. 2008).

Motilin ve ghrelin öncüllerinin amino asit dizileri neredeyse %50 benzerlik gösterirler (Poitras 2008). İki hormon %36 lık aminoasit dizilişini paylaşmaktadırlar. (Asakawa ve ark. 2001, Chen ve Tsai 2012) 28-amino asitlik ghrelin peptidinin 22-amino asitlik motilin ile hizalanması, sekiz özdeş amino asidi ortaya çıkarmaktadır (Kojima ve ark. 2008).

Ghrelin ve motilin hücrelerinin dağılımı ayrıdır; motilin büyük ölçüde üst bağırsakta üretilirken ghrelin hücreleri ağırlıklı olarak midede bulunmaktadır. Wierup ve arkadaşları; domuz duodenumundaki ghrelin immünoreaktif hücrelerin %90'dan fazlasının motilinde salgıladığını göstermişlerdir. Elektron mikroskobu ile yapılan immüno işaretleme yöntemiyle, aynı salgı granüllerinde lokalize olduklarını ve aynı uyarı ile beraber salgı yaptıklarını da belirlemişlerdir. Ghrelin ve motilinin duodenum ve jejunum'daki aynı hücrelerde birlikte üretildiğini, aynı salgı granüllerinde depolandığını ve aynı uyarı tarafından tetiklendiğini göstermişlerdir (Wierup ve ark. 2007).

Yapısal benzerliklerine ek olarak bu iki peptidin fizyolojik etkilerinin bir bölümünün de çakıştığı gösterilmiştir. Ghrelin ve motilin, yemek sonrası dönemde azaldığı bilinen hormonlardır. Ghrelin ve motilin midede MMC'yi başlatır, gastrointestinal hareketliliği uyarır, gastrointestinal motilite oluşturur (Wierup ve ark. 2007), gastrik asit salgısı ve mide hareketini uyarırlar (Kojima ve ark. 2008), gastrik boşalmayı hızlandırır ve "gastrik açlık" yaratırlar. Her iki hormon sindirim sistemindeki kontraksiyonların endokrin düzenleyicisi olduğu düşünülmektedir (Ohno ve ark. 2010). Motilin aynı zamanda in vitro ve in vivo olarakta büyüme hormonu sekresyonunu uyardığı görülmüştür (Samson ve ark. 1982). Ghrelinin büyüme hormonu ve bağırsak motilitesinin düzenlenmesinin yanı sıra mide ve kolonun salgı yapmasında ve korunmasında da önemli rolleri vardır (Asakawa ve ark. 2001, Chen ve Tsai 2012).

Motilin ve ghrelinin benzerliği sadece yapı ve görevleriyle sınırlı değildir reseptörlerindedir benzerik gösterirler. Ghrelinin reseptörü ve motilin reseptörü (MTRLR, ayrıca GPR38 olarak da bilinir) yapısal olarak benzemektedir (Folwaczny ve ark.

2001). Bu reseptörler, birbirlerine %50-%52 oranında benzerlik gösterirler (Takeshita ve ark. 2006).

Motilin reseptörleri ilk kez insan gastrointestinal sisteminde 1999 da Feingner ve arkadaşları tarafından tespit edilirken (Feighner ve ark. 1999), ghrelin reseptörü ilk kez hipofiz bezi ve beyinden 1996 yılında Howard tarafından tespit edilmiştir (Howard ve ark. 1996). Hem motilin hem de ghrelin reseptörleri G proteinine bağlı reseptör ailesine aittir (McKee ve ark. 1997).

Motilin mide, duodenum ve kolonun düz kas tabakalarında düşük konsantrasyonda bulunurken sirküler kas tabakalarında yüksek konsantrasyonda bulunmuştur. Sekum düz kas tabakasında pozitif bağlanma reaksiyonu saptanmamıştır. Pankreas ve gastrointestinal sistem mukozasında hiçbir motilin bağlanma yeri gözlenmemiştir (Sakai ve ark. 1994). Motilin reseptör immünoreaktivitesi insanda düz kas ve miyenterik pleksuslarda gözlenirken mukoza ve submukozada gözlenmemiştir (Takeshita ve ark. 2006). Depoortere ve arkadaşları, gastrointestinal sisteme ek olarak motilin reseptörlerini merkezi sinir sisteminde hipokampus, talamus, hipotalamus ve amigdala da gözlemişlerdir (Depoortere ve ark. 1997). Yüksek motilin (Samson ve ark. 1984) ve düşük ghrelin (Kojima ve ark. 1999) büyüme hormonu salgılanmasını uyarmaktadır. Tablo 1’de motilin ve ghrelin arasındaki farklar gösterilmiştir.

Tablo 1: Ghrelin ve Motilin (Aşağıdaki litaretürlerden düzenlemiştir)

	Açıl Ghrelin	Des Açıl Ghrelin	Motilin
İnsan gen lokusu	Kromozom 3	Kromozom 3	Kromozom 6
Peptit Yapısı	28 aa	28 aa	22 aa
Moleküler Ağırlığı	3315	3245	2698
Ana Kaynağı	Midenin fundusunun X / A benzeri hücreleri	Midenin fundusunun X / A benzeri hücreleri	İncebağırsaktaki endokrin Mo hücreleri
Reseptörü	GHS-R	Bilinmiyor	Motilin reseptör GRP38
Antrum'da kasların kasılma sıklığına etkisi	↑	↓	↑
Duodenum'da kasların kasılma sıklığına etkisi	↑	↔	↑
Büyüme hormonu salınımına etkisi	↑		↑
Özefagus, mide incebağırsak ve kolon motilitesi	↑		↑
Motilin salınımını	↓		
Gastrointestinal hareketliliği uyarma	↑		↑
Gastrointestinal motilite oluşturma	↑		↑
Gastrik asit salgısı	↑		↑
Gastrik boşalmayı hızlandırma	↑		↑
Gastrik açlık yaratma	↑		↑

↑ = Arttırır

↓ = Düşürür

↔ = Etkilemez

(Chen veTsai 2012, Wierup ve ark. 2007, Kojima ve ark. 2008, Ohno ve ark. 2010, Sakata ve Sakai 2011)

2.7. MELATONİN, GHRELİN VE MOTİLİN İLİŞKİSİ

Dünyanın döngüsel hareketlerini 24 saatlik aydınlık ve karanlık periyotları oluşturur. Organizmalarda zamanla bu periyotları tahmin etme yeteneğini geliştirdi ve bu şekilde evrimleştiler. Sirkadyen ritimler olarak bilinen bu olay yaklaşık 24 saatlik bir periyot ile ortaya çıkan yaşamın sürekliliğinde ve evriminde temel bir rol oynayan endojen olarak üretilen ritimlerdir. Bu döngüler canlı fizyolojisinin ve davranışının günlük hareketlerini düzenler, organizmaların çevredeki periyodik değişimleri önceden görmesini sağlar, optimum enerji kullanımı ve üremeyi mümkün kılar (Panda ve ark. 2002). Organizmalar faaliyetlerini gece ve gündüze göre düzenlemişlerdir. İnsan fizyolojisinin tüm yönleri (uyku-uyanıklık döngüsü, vücut ısısı, hormon sekresyonu vs.) 24 saatlik ritimlerle eşleştirilir (Bechtold ve ark. 2010).

Biyolojik ritimler, hipotalamustaki suprakiazmatik çekirdek (SCN) tarafından nöral ve humoral yollarla kontrol edilir (Konturek ve ark. 2011). Bir çok deney SCN'nin günlük ritimlerin çoğunu koordine ettiğini göstermiştir. SCN, sirkadyen ritimlerin devamını sağlamak için çevresel dokulara sinyal gönderir bunların başında da gastrointestinal sistemler gelir (Ohdo 2010). Işık SCN'yi düzenleyen en güçlü sinyaldir. Işığa ek olarak gastrointestinal sisteme besin girişi de SCN'yi düzenler (Froy 2010).

Birçok biyolojik fonksiyonun mevsimlerle senkronize edilmesi için çevredeki şiddetli değişimleri ölçmek ve tahmin etmek gerekmektedir. Bu biyolojik düzenlemeler için endokrin sistem bulunmaktadır. Bunların arasında en önemlisi pineal bezden salgılanan melatonin hormonudur (Simonneaux ve ark. 2006). Melatonin, retinohipotalamik boşluktan gelen ışık ve karanlık hakkında bilgi sağlayarak SCN'yi tekrar senkronize eder. Melatonin dokularda ritmik işlevlerin düzenlenmesi için gereklidir ayrıca hipotalamus ile çevresel dokular arasında senkronizasyonu sağlar (Bubenik ve Konturek 2011).

Gastrointestinal sistemdeki sirkadyen ritm hormonların ritmik olarak salınması ile sağlanır. Bu hormonların en önemlileri melatonin, motilin ve ghrelindir. Bu üç hormon gastrointestinal boşluktaki aktiviteden sorumludur. Midede (dakikada yaklaşık 3 devir), duodenumda (dakikada 12 devir), jejunum ve ileumda (dakikada 7 ile 10 devir arasında), kolonda (dakikada 12 döngü) ki bu ritmik dalgalar gastrointestinal boşluğun çeşitli bölümlerinden MMC ile kontrol edilmektedir. Göç eden motor kompleks (MMC) midede başlar ve bağırsaklar boyunca hareket ederek peristaltik kontraksiyonlara neden

olur. Motilin ve ghrelin gibi gastrointestinal boşluktan salgılanan hormonlar MMC'nin üretimini sağlar bu da ince ve kalın bağırsakta peristaltik kasılmalarla sonuçlanır (Konturek ve ark. 2011).

İnsan vücudunda doğal bir içgüdüsel göç ritmi vardır. Bu iç göç örneği sindirim sisteminde de bulunur ve göç eden motor kompleksi (MMC) olarak adlandırılır. Göç eden motor kompleks, mide ve ince bağırsakta meydana gelen bir hareket şeklidir. MMC 1,5-2 saat arasında tekrar eden bir olaydır. MMC'nin amacı gıdayı sindirmek değildir. Peristaltik hareket yiyeceklerin mideden kalınbağırsağa iletilmesini sağlayan gastrointestinal kanalın kas hareketidir. İnce bağırsaktaki dalga benzeri bu hareket, besinlerin maksimum temasını sağlar. Bu temas optimal besin emilimini sağlar. MMC artık besinleri, sekresyon ve hücre parçacıklarını temizlemek ve ince bağırsakta bakteri popülasyonlarının birikmesini önlemeye yardımcı olur. MMC'nin fizyolojik önemi canlıyı bir sonraki yemek için hazırlarken boş midenin mekanik ve kimyasal olarak temizlenmesini sağlar ([www. lightbearers. org/the-migrating-motor-complex](http://www.lightbearers.org/the-migrating-motor-complex) Erişim Tarihi: Mayıs 2018), Sanger ve ark. 2010).

Motilin interdigestive migrating contractions (IMC) denilen emilimin olmadığı interdigestif periyotta gastrointestinal boşluktaki kasılmaları düzenler (Itoh 1997). Itoh ve ark. motilinin ekzojen uygulamasının kendiliğinden oluşan faz III kasılmalarını başlattığını göstermiştir (Itoh ve ark. 1976). Ghrelin uygulaması, mide ve bağırsaklarda faz III benzeri kasılmaları ve motilite indeksini önemli ölçüde arttırmıştır (Taniguchi ve ark. 2008). İnsanlarda (Tack ve ark. 2006), ratlarda (Ariga ve ark. 2007, Fujino ve ark. 2003) ve farelerde (Zheng ve ark. 2009) ghrelinin verilmesi MMC'nin gastrik faz III e benzer kasılmalara yol açmıştır. Ghrelin ve motilin tarafından üretilen MMC'ler, bir sonraki yemekten önce gastrointestinal kanalın temizlenmesinde rol oynar (Sanger ve ark. 2010).

Bağırsak motilitesi, gastrik asit salgısı, mukoza tabakasının bakımı ve yenilenmesi, sindirim enzimlerinin üretimi, ince bağırsakta madde taşınması, bağırsakların immünolojik sistemi sirkadien sistemin kontrolündeki önemli gastrointestinal fonksiyonlardır (Konturek ve ark. 2011).

Modern yaşam tarzları sirkadiyen ritmi sık sık bozabilir. Bu ritmin bozulması; uyku bozuklukları, gastrointestinal hastalıklar, metabolik sendromlar, inflamasyon ve hatta kanser dahil olmak üzere çok çeşitli klinik durumlara neden olduğu

düşünülmektedir (Bechtold ve ark. 2010). Gastrointestinal sistem mukozasının nöro-endokrin hücreleri tarafından üretilen melatonin, gıda alımına ve miyoelektrik ritmine bağlı olarak iç biyolojik saatte önemli bir rol oynamaktadır. Gastrointestinal sistemde ışık-karanlık döngüsünün bir endokrin kodlaması olduğu görülmektedir. Gastrointestinal sistemdeki hücre çoğalmasının ritmi, motor ve salgılama aktivitesi, otonomik hücrelerin ve bazı enterohormonların aracılık ettiği birçok sirkadiyen ritme bağlıdır. Gastrointestinal sistemdeki sirkadyen fizyolojinin bozulması, irritabl bağırsak sendromu, gastroözofageal reflü hastalığı veya peptik ülser hastalığı gibi çeşitli gastrointestinal hastalıklara neden olabilir. Klinik çalışmalar, melatoninin verilmesinin gastrointestinal hastalıkların semptomları iyileştirdiğini göstermiştir. Melatoninin gastrointestinal mukozayı önemli derecede koruduğunu gösterilmiştir (Konturek ve ark. 2011).

Gastrointestinal sistemdeki biyolojik saatin, özellikle de myenterik pleksusun tanımlanması, o alanda birtakım önemli çalışmalar başlatmıştır. Biyolojik saatin birçok bileşeni gastrointestinal boşlukta tanımlanmıştır. Myenterik pleksustaki nöronların ritmik salgısı kolon motilitesini düzenlemektedir (Hoogerwerf 2009). Bağırsak motilitesi sirkadiyen ritmin kontrolünün altındadır (gün boyunca maksimum hareketlilik, gece boyunca minimum düzeydedir (Bron ve Furness 2009).

Çalışmalar melatoninin gastrointestinal motilitede düzenleyici etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Zhen Lu ve ark. 2006). Melatonin ve diğer humoral faktörler yoluyla bağırsak ritminin bozulması gastrointestinal mukozayı koruyucu faktörleri ve hücre proliferasyonuna etkisinin olabileceğine dair kanıtlar sunulmuştur (Moore ve ark. 1994). Ghrelin gastro-duodenal ülserlerin iyileşmesine katkıda bulunmuştur (Ceranowicz ve ark. 2009). Rat'larda midede bulunan melatoninin ghrelin salınımını ve gastrik asit salgılanmasını azalttığını göstermiştir (Mustonen ve ark. 2001).

Melatoninin ghrelin üzerindeki etkilerine yönelik çalışmalar da yapılmıştır (Canpolat ve ark. 2006, Mustonen ve ark. 2001). Canpolat ve ark. (2006)'nın yaptıkları bir çalışmada eksojen olarak melatonin uygulanan ve pinealektomi yapılan ratların arkuat nukleuslarındaki ghrelinin immünohistokimyasal olarak dağılımlarını ve ghrelin serum düzeylerini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda melatoninin hem ghrelin sentezinde artışa hem de leptin üretiminde azalmaya sebep olarak puberte başlangıcında baskılayıcı etkiye sahip olabileceği bildirilmiştir. Ratlarda melatonin tedavisinin ghrelin

düzeyleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada melatoninin ghrelin üretimini baskılayarak dolaşımdaki ghrelin seviyelerini azalttığı ve buna bağlı olarak da beyinde ghrelin sentezinin düzenlenmesinde bir etken olduğu bildirilmiştir (Mustonen ve ark. 2001). Saltan ve Aslan (2017) melatonin uygulanan ratların böbrek ve karaciğerinde ghrelin immünoreaktivitesi incelemişler ve bu organlarda ghrelin immünoreaktivitesinin arttığını tespit etmişlerdir.



3. MATERYAL ve METOT

Bu çalışmaya başlamadan önce Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Tarih: 30.09.2015, Karar No:89 ve Araştırma Kodu: KAÜ-HADYEK/2015-071). Bu çalışmanın tüm deneysel uygulamaları Kafkas Üniversitesi (KAÜ) Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekteleşmiştir.

3.1. MATERYAL

3.1.1. Deney Hayvanı Materyali

Çalışmada kullanılan deney hayvanları Erzurum Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğünden temin edilen ratlardan oluşmaktadır. Yapılan çalışmada ortalama 10- 12 haftalık olan 30 adet Spraque Dawley ratlar kullanılmış olup çalışma boyunca bu hayvanların standart rat yemi (Bayramoğlu Yem Fabrikası A.Ş.'den temin edilen) ile beslenmesi sağlanırken su alımı da serbest bırakılmıştır. Ratlar 1 haftalık bir adaptasyon sürecinden sonra 3 gruba ayrılarak 12 saat karanlık, 12 saat ışık ortamının sağlandığı, oda sıcaklığının 22 ± 2 °C olduğu standart ortamda ve standart kafeslerde barındırılmıştır. Deney grupları ve bu gruplara göre yapılan deneysel uygulamalar Tablo 2 de gösterilmiştir.

3.1.2.Melatonin

Deneme grubuna uygulanan melatonin (Sigma-M5250) soğuk zincir altında getirildikten sonra çalışmada kullanıldığı gün süresince -20 C ° de saklanmıştır. Melatonin akşam saatlerinde intraperitoneal yolla ratlara enjekte edilmiştir.

3.2. METOT

3.2.1. Melatonin uygulanması

Tablo 2: Deney grupları ve deneysel uygulamalar

Deney Grupları	Denek Sayısı	Deneysel Uygulamalar
Deneme Grubu	10	Etanolde çözdürülüp serum fizyolojikle sulandırılmış olan 10 mg/kg dozdaki melatonin 21 gün boyunca intraperitoneal yolla akşam saatlerinde günlük olarak enjekte edildi.
Sham Grubu	10	21 gün boyunca deneme grubuna uygulanan miktarda etanol ve serum fizyolojik intraperitoneal yol ile uygulandı.
Kontrol Grubu	10	Hiçbir uygulama yapılmadı.

3.2.2. Canlı Ağırlık Tartımı

Yapılan bu deneysel çalışmada deneye ilk başlangıç zamanı “0” kabul edildi. Yirmi bir günlük süreç boyunca deneme, sham ve kontrol gruplarında kullanılan bütün ratların canlı ağırlıkları 8 saatlik açlık sonrası sabah saatlerinde hassas dijital terazide tartıldı.

3.2.3. İncebağırsak Örneklerinin Alınması

Yirmi bir günlük deneysel uygulama süresinin sonunda canlı ağırlıkları ölçüldükten sonra eter anestezisi altında, servikal dislokasyon ile ötenazi yapılarak ratların incebağırsak dokuları alındı. Histolojik ve immünohistokimyasal incelemelerde kullanılmak üzere incebağırsak doku örnekleri % 10'luk formolde tespit edildi. Dokular tespit edildikten sonra dereceli alkol serilerinden, metil benzoat ve benzollerden geçirilerek parafinde bloklandı.

3.2.4. Histolojik İncelemeler

Histolojik değerlendirmeler için alınan doku örnekleri %10'luk formolde tespit edildi. Rutin işlemlerden geçirildikten sonra parafinde bloklandı. Krom alum jelatinle kaplanmış lamlara parafin bloklarından 5 mikrometre (μm) kalınlığında kesitler alındı (LEICA RM 2125 RTS). İncebağırsağın histolojik olarak yapısını incelemek için alınan kesitlere Crossmanın üçlü boyaması (Triple boyama), Hematoksilen-Eosin (H&E) ve periyodik asit Shiff (PAS) boyamaları uygulandı.

3.2.5. Histometrik İncelemeler

Histometrik incelemeler için gruplar arasında (melatonin, sham ve kontrol); duodenum, jejunum ve ileum dokusundaki villusların boyları, enleri ve kript uzunluklarını tespit etmek amacıyla mikroskopta (Olympus BX51) 10'luk büyütmede her bir rat'a ait doku örneklerinden 10'ar adet, toplam 2700 adet ölçüm yapıldı. Ölçümler için herhangi bir bilgisayar programı kullanılmadı. Gruplara ait doku kesitlerinde yapılan ölçümlerin sonunda veriler istatistiksel olarak analiz edilerek değerlendirildi.

3.2.6. İmmunohistokimyasal İncelemeler

Duodenum, jejunum ve ileum dokularında motilin ve ghrelin'nin immünohistokimyasal lokalizasyonunu incelemek için Avidin-Biotin-Peroksidaz Kompleks (ABC) tekniği (Hsu ve ark. 1981) uygulandı. Krom alum jelatin ile kaplanmış lamlara, parafin bloklarından 5 mikrometre (μm) kalınlığında seri kesitler alındı. Alınan kesitler deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden geçirildikten sonra fosfat buffered salin (PBS)'de çalkalanarak endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için %3 lük H_2O_2 (0,1 M'lık PBS'te hazırlanmış)'de 15 dk. inkube edildi. PBS ile yıkandıktan sonra (3x5 dk.) antijenleri açığa çıkarmak için 600 W 14 dk. mikrodalga fırın ile ısı uygulaması yapıldı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra (3x5 dk.) spesifik olmayan bağlanmaları engellemek amacıyla sekonder antikorun üretildiği türe uygun (Ultra V Blok) serumda (%10) 10 dk. inkube edildi. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kesitler Motilin (Phoenix H-045-04) antikoruna için 1:500 dilüsyon oranında 1 saat süreyle oda sıcaklığında ve Ghrelin (Phonex H-031-31) antikoruna için 1:50 dilüsyon

oranında +4 de 24 saat inkube edildi. İnkubasyonun ardından yine PBS’de yıkandıktan (3x5 dk.) sonra kesitlere primer antikorun üretildiği türe karşı olan biotinlenmiş sekonder antikor (Ultravision Detection system Anti-Rabbit, Biotinylated Goat Anti-Rabbit) uygulanarak 30 dk. oda ısısında tutuldu. Fosfat buffer salinde yıkandıktan (3x5 dk.) PBS ile tekrar yıkandı (3x5 dk). Kromojen olarak DAB (Diaminobenzidin) kullanıldı. Motilin için DAB ta 7-8 dakika ghrelin için 4-5 dakika bekletildi ve kontrollü olarak kesitlerin üzerine kromojen solüsyonu eklendikten sonra ışık mikroskopunda kontrol edilerek immünoreaktivitenin durumuna göre reaksiyon distile su ile durduruldu. Distile su ile yıkandıktan sonra zıt boyama için hematoksilin yapıldı. Ardından rutin histolojik işlemlerden (dehidrasyon, saydamlaştırma) geçirildikten sonra dokular üzerine entallen damlatılıp lamelle kapatıldı. Hazırlanan preparatlar BX-051 Olympus (JAPAN) marka araştırma mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekildi. Hücrelerdeki motilin ve ghrelin immünoreaktivitesi, renklerin koyuluk derecesine göre, birbiriyle mukayese edilerek belirlendi. Derecelendirmede kullanılan semboller Tablo 3’de gösterilmiştir.

Tablo 3: Dokulardaki motilin ve ghrelin immünoreaktivitesinin derecelendirilmesi

Dokudaki Reaksiyon Yoğunluğu	Semboller
Çok yoğun	++++
Yoğun	+++
Orta	++
Hafif	+
Reaksiyon yok	-

Dokulardaki motilin ve ghrelin immünoreaktivitelerinin spesifik olup olmadığını tespit etmek amacıyla alınan kesitlere primer antikor ilave edilmeksizin (negatif kontrol) diğer işlemler aynen uygulandı.

3.2.7. İstatistiksel Analiz

İstatistiki analiz için istatistik paket programı olan SPSS kullanıldı (IBM SPSS 20). Veriler ANOVA testi ile analiz edildi. Gruplar arası farklılıkları belirlemek için Tukey testi uygulandı. İstatistiksel analizde güven aralığı 0,05 olarak belirlendi.

İmmünohistokimyasal incelemelerde, immünoreaktivite gösteren hücrelerin boyama derecesi kriter alınarak kesitler incelendi ve tüm gruplarda elde edilen verilerin yarıkantitatif analizleri yapıldı. Her gruba ait kesitler üzerinde, 20 µm² alanda, 40x büyütmede ve 10 rastgele seçilmiş mikroskobik alanda tarafsız inceleme yapıldı. Gruplara ait elde edilen verilerin aritmetik ortalaması alındıktan sonra yarıkantitatif skorlaması yapıldı. Skorlama -'den 4+'ya kadar yapıldı. Veriler; - : yok, +: hafif, ++: orta, +++: yoğun ++++: çok yoğun şeklinde skorlandı (Okihiro ve Hinton 2000).

4- BULGULAR

4.1. Canlı Ağırlık Bulguları

Yapılan çalışmada ratların canlı ağırlık bulguları değerlendirilmiştir. Deney süreci toplamda 21 gün olup, izlenen periyotta her bir gruptaki ratların tartımı 0-21. günlerde toplam 22 kez yapılmıştır. Grupların günlere göre kendi içerisinde ve gruplar arasında ortalama canlı ağırlıkları değerlendirilmiştir.

Tablo 4: Grupların günlere göre ortalama canlı ağırlıkların karşılaştırılması. * olanların istatistiki açıdan $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

Gün	Grup	Ortalama anlı vücut Ağırlıklar(gr)	SD Değeri	F Değeri	Fark
5.gün	Deneme	267,63	23,08	4,05*	Kontrol
	Sham	268,74	47,81		Kontrol
	Kontrol	306,68	28,98		Deneme,sham
6.gün	Deneme	263,12	23,01	5,07*	Kontrol
	Sham	267,06	47,81		Kontrol
	Kontrol	307,71	28,34		Deneme,sham
7.gün	Deneme	259,64	21,85	6,65*	Kontrol
	Sham	263,30	47,71		Kontrol
	Kontrol	309,92	28,05		Deneme,sham
8.gün	Deneme	256,26	20,77	8,51*	Kontrol
	Sham	259,44	46,35		Kontrol
	Kontrol	311,38	28,18		Deneme,sham
9.gün	Deneme	253,95	20,54	10,16*	Kontrol
	Sham	258,33	45,01		Kontrol
	Kontrol	313,30	27,97		Deneme,sham
10.gün	Deneme	253,34	22,03	9,90*	Kontrol
	Sham	258,58	46,21		Kontrol
	Kontrol	313,94	28,17		Deneme,sham
11.gün	Deneme	252,48	20,40	11,42*	Kontrol
	Sham	256,91	44,18		Kontrol
	Kontrol	314,13	27,15		Deneme,sham
12.gün	Deneme	255,30	21,43	10,65*	Kontrol
	Sham	257,23	43,77		Kontrol
	Kontrol	314,86	29,14		Deneme,sham
13.gün	Deneme	259,51	24,11	11,51*	Kontrol
	Sham	255,29	41,83		Kontrol
	Kontrol	316,82	27,33		Deneme,sham
14.gün	Deneme	258,71	25,06	11,37*	Kontrol
	Sham	253,87	42,89		Kontrol
	Kontrol	317,21	28,45		Deneme,sham
15.gün	Deneme	259,10	26,34	11,68*	Kontrol
	Sham	254,31	41,75		Kontrol
	Kontrol	317,84	27,85		Deneme,sham
16.gün	Deneme	258,30	25,00	14,07*	Kontrol
	Sham	252,52	41,24		Kontrol
	Kontrol	320,98	27,29		Deneme,sham
17.gün	Deneme	259,20	25,91	13,82*	Kontrol
	Sham	252,88	39,90		Kontrol
	Kontrol	320,54	27,70		Deneme,sham
18.gün	Deneme	258,21	29,21	14,00*	Kontrol
	Sham	250,56	38,91		Kontrol
	Kontrol	320,88	28,65		Deneme,sham
19.gün	Deneme	259,03	29,19	16,89*	Kontrol
	Sham	246,48	36,96		Kontrol
	Kontrol	322,75	27,40		Deneme,sham
20.gün	Deneme	260,45	29,82	15,97*	Kontrol
	Sham	246,08	40,38		Kontrol
	Kontrol	324,26	27,03		Deneme,sham
21.gün	Deneme	257,58	30,87	14,20*	Kontrol
	Sham	248,03	40,40		Kontrol
	Kontrol	321,41	27,86		Deneme,sham

Gruplar arası ortalama canlı ağırlık bakımından 0. ve 4. günler arası istatistiksel düzeyde anlamlı fark gözlemlenmezken, 5-21 günler arası kontrol grubu ile deneme ve sham grubu arasında istatistiksel düzeyde anlamlı ($P<0,05$) fark olduğu fakat deneme ile sham grubu arasında istatistiksel düzeyde anlamlı fark olmadığı belirlenmiştir. Kontrol grubunda istatistiki anlamda bir fark olmasada canlı ağırlıkta artma gözlenmiştir. Melatonin grubunda canlı ağırlıkta azalma olduğu görüldü.

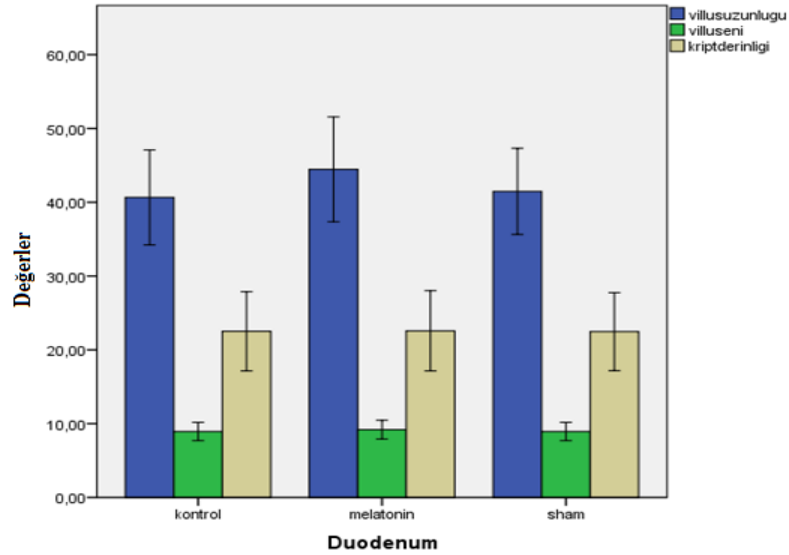


4.2. Histometrik Bulgular

Tablo 5: Duodenum'da belirlenen villus uzunluğu, vilus eni ve kript derinliğinin istatistiki sonuçları. (μm)

Gruplar	Villus Uzunluğu ort.(μm)	Villus eni Ort. (μm)	Kript Derinliği Ort. (μm)
Kontrol	40,66 \pm 0,37 ^a	8,90 \pm 0,07 ^a	22,51 \pm 0,30 ^a
Sham	41,47 \pm 0,33 ^a	8,93 \pm 0,071 ^a	22,46 \pm 0,30 ^a
Melatonin	44,46 \pm 0,40 ^b	9,1 \pm 0,072 ^b	22,57 \pm 0,31 ^a

Ortak harf taşımayanlar arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir. Duodenumda kontrol melatonin ve sham grupları arasında villus uzunluğu ve villus eni bakımından anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p < 0,05$). Bu farkın hangi gruplar arasında olduğu yapılan Tukey testi ile belirlenmiştir. Buna göre villus uzunluğu ve eni için kontrol ve melatonin grupları ile melatonin ve sham grupları arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Kript derinliği açısından gruplar arasında önemli bir farklılık olmasada melatonin grubunda kript derinliğinin arttığı tespit edilmiştir (Tablo 5).

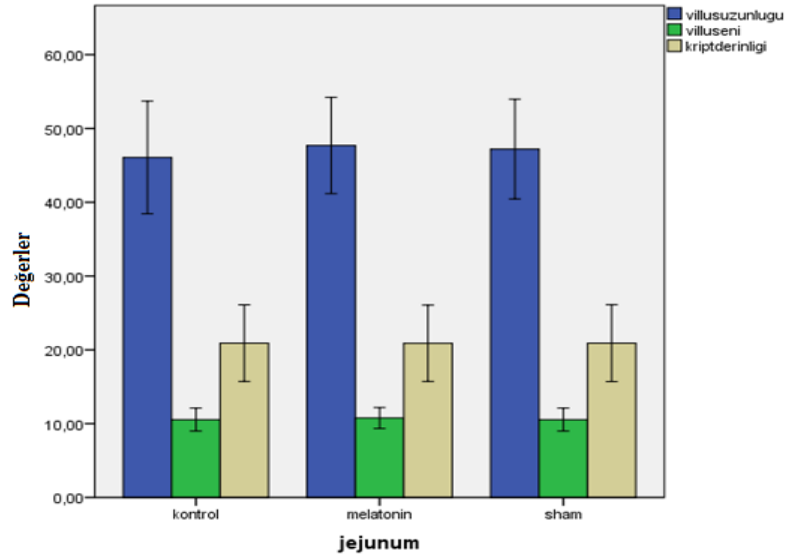


Şekil 1: Duodenum'da histometrik değerlerin istatistiki sonucunun grafikte gösterimi.

Tablo 6: Jejunum'da belirlenen villus uzunluğu, vilus eni ve kript derinliğinin istatistiki sonuçları. (μm)

Gruplar	Villus Uzunluğu ort. (μm)	Villus eni Ort. (μm)	Kript Derinliği Ort. (μm)
Kontrol	46,07 \pm 0,44 ^a	10,55 \pm 0,08 ^a	20,90 \pm 0,29 ^a
Sham	47,20 \pm 0,39 ^{ab}	10,54 \pm 0,08 ^a	20,90 \pm 0,30 ^a
Melatonin	47,68 \pm 0,37 ^b	10,76 \pm 0,08 ^a	20,91 \pm 0,29 ^a

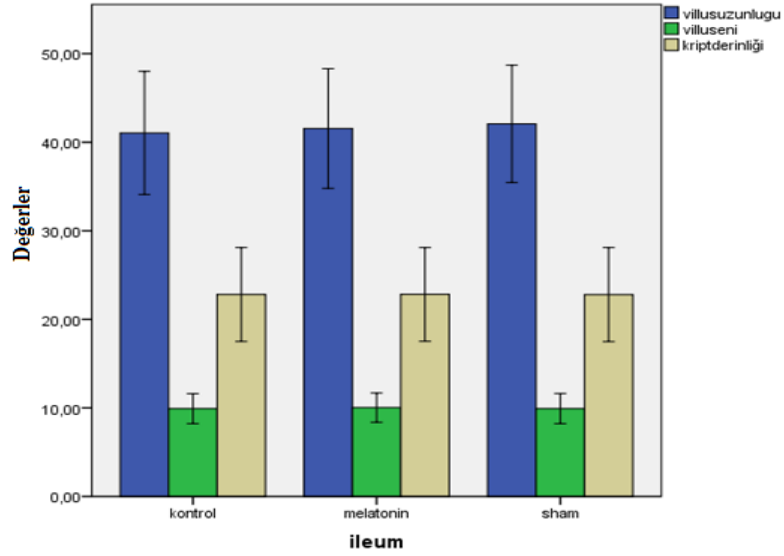
Ortak harf taşımayanlar arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulundu. Farklı harf içeren gruplar arasında istatistiki açıdan $p < 0,05$ düzeyinde farklılık belirlendi. Jejunumda villus uzunluğu açısından kontrol ile melatonin grubu arasında istatistiki fark bulunmuş ($p < 0,05$) melatonin grubunda villus uzunluğunun arttığı belirlenmiştir. Villus uzunluğu açısından melatonin grubu ile sham grubu arasında ve kontrol grubu ile sham grubu arasında fark bulunamadı. Tukey testi sonucunda bu farkın kontrol ve melatonin grupları arasında olduğu görüldü. İstatistiki açıdan fark bulunmasada melatonin grubunda sham grubuna göre villus uzunluğu daha yüksek belirlendi. Villus eni bakımından gruplar arasında istatistiki anlamda anlamlı bir fark bulunmasada en yüksek villus enine melatonin grubunda belirlendi. Kript derinliği açısından gruplar arasında istatistiki anlamda bir fark bulunmasada melatonin grubunda kript derinliğinin sham ve kontrol gruplarına göre yüksek olduğu saptandı (Tablo 6).

**Şekil 2:** Jejunum'da histometrik değerlerin istatistiksel sonucunun grafikte gösterimi.

Tablo 7: İleum'da belirlenen villus uzunluğu, vilus eni ve kript derinliğinin istatistiki sonuçları. (μm)

Gruplar	Villus Uzunluğu ort.(μm)	Villus eni Ort. (μm)	Kript Derinliği Ort. (μm)
Kontrol	41,05 \pm 0,40 ^a	9,92 \pm 0,09 ^a	22,80 \pm 0,30 ^a
Sham	41,07 \pm 0,38 ^a	9,92 \pm 0,09 ^a	22,37 \pm 0,30 ^a
Melatonin	41,54 \pm 0,38 ^a	10,02 \pm 0,09 ^a	22,81 \pm 0,30 ^a

Ortak harf taşımayanlar arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir. İleumda kontrol, melatonin ve sham grupları arasında villus uzunluğu, villus eni ve kript derinliği bakımından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). İstatistiki açıdan fark bulunmasada melatonin grubunda sham ve kontrol grubuna göre villus uzunluğu, villus eni ve kript derinliği daha yüksek belirlendi (Tablo 7).

**Şekil 3 :** İleum'da histometrik değerlerin istatistiksel sonucunun grafikte gösterimi.

4.3. Histolojik Bulgular

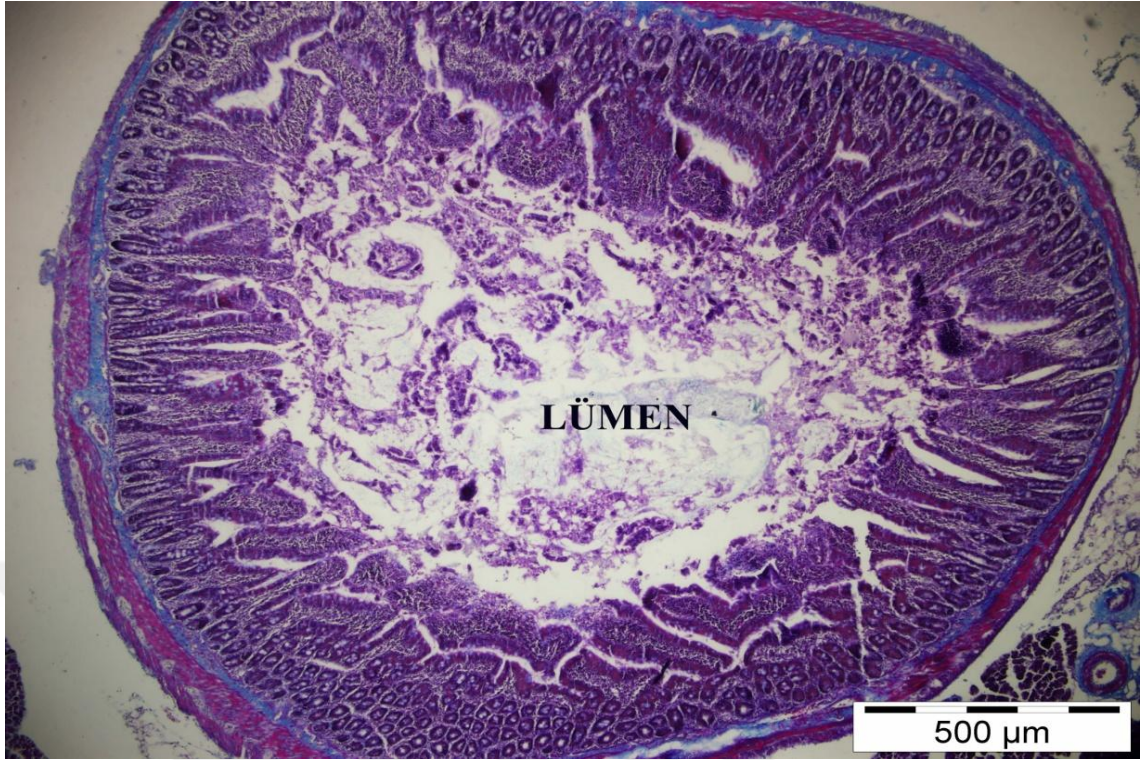
İncebağırsaktaki tunika mukoza tabakasındaki; lamina epitelyalis, lamina propria, lamina muskularis, submukoza bölümleri ile tunika muskularis ve tunika seroza katmanları görüldü. Lamina epitelyalisin kadeh hücreleri içeren tek katlı prizmatik yapıda olduğu belirlendi. Epitelden submukozaya doğru uzanan kriptlerin varlığı tespit edildi (Resim 3). Kriptler, epitelden lamina muskularise doğru parmak benzeri uzantılar

şeklinde inmekteydi ve derinlikleri de farklılıklar göstermekteydi (Resim 5,6). Lamina propriada, bağ doku hücreleri ve glandula intestinalisler görüldü. Lamina muskularis ince düz kas katmanı olarak belirlendi. İnce bağırsağın villusları ve bu yapıların üzerinde bulunan epitel hücreleri normal yapıda görüldü. Bütün grupların bağırsak villus epitelinde belirgin bir değişiklik görülmemiştir. (Resim 4,5,6).

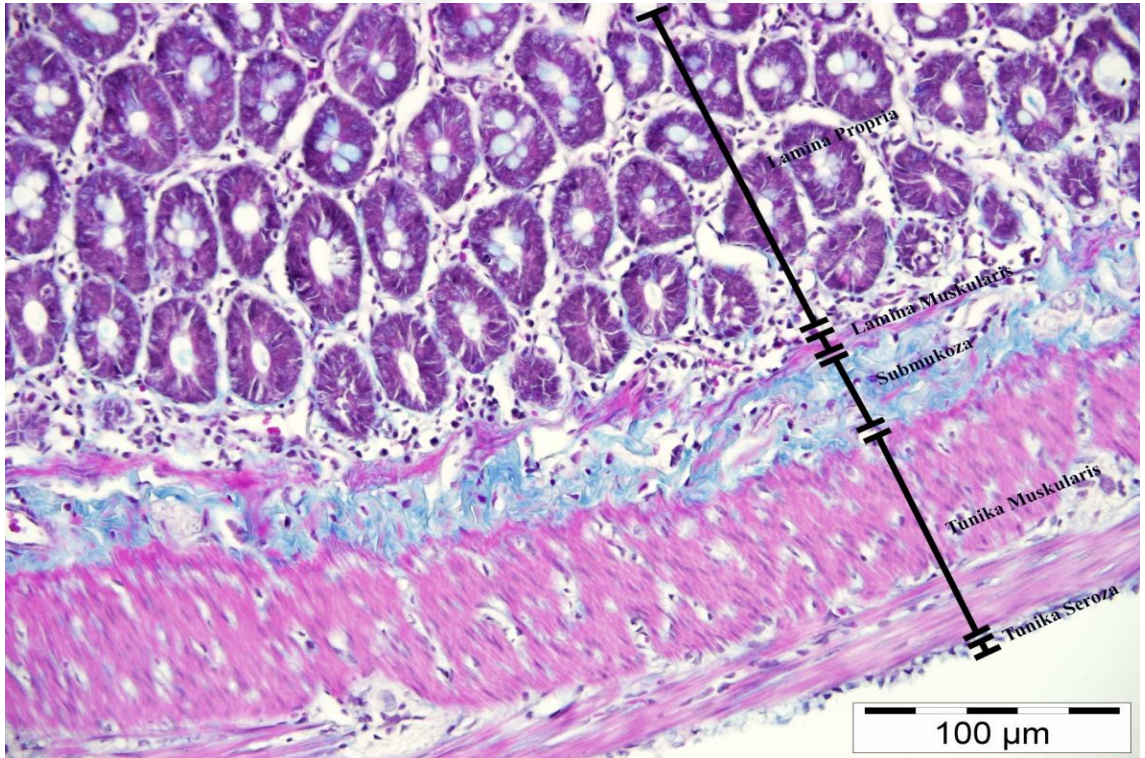
Submukoza gevşek bağ doku özelliğindedir. Ayrıca duodenumda Brunner bezleride gözlemlendi. İleumda submukoza ve lamina propriaya yayılmış lenf folikülleri görüldü. Tunika muskularis tabakasının normal yapıda olduğu gözlemlendi, içte sirküler dışta longitudinal seyirli düz kas hücrelerinden oluştuğu belirlendi. Tunika seroza katmanı ince bir bağ dokusu şeklinde görüldü (Resim 2,4).

Melatonin, kontrol ve sham grupları arasında histolojik bulgular açısından bir farklılık belirlenmedi. (Resim 4,6,8).

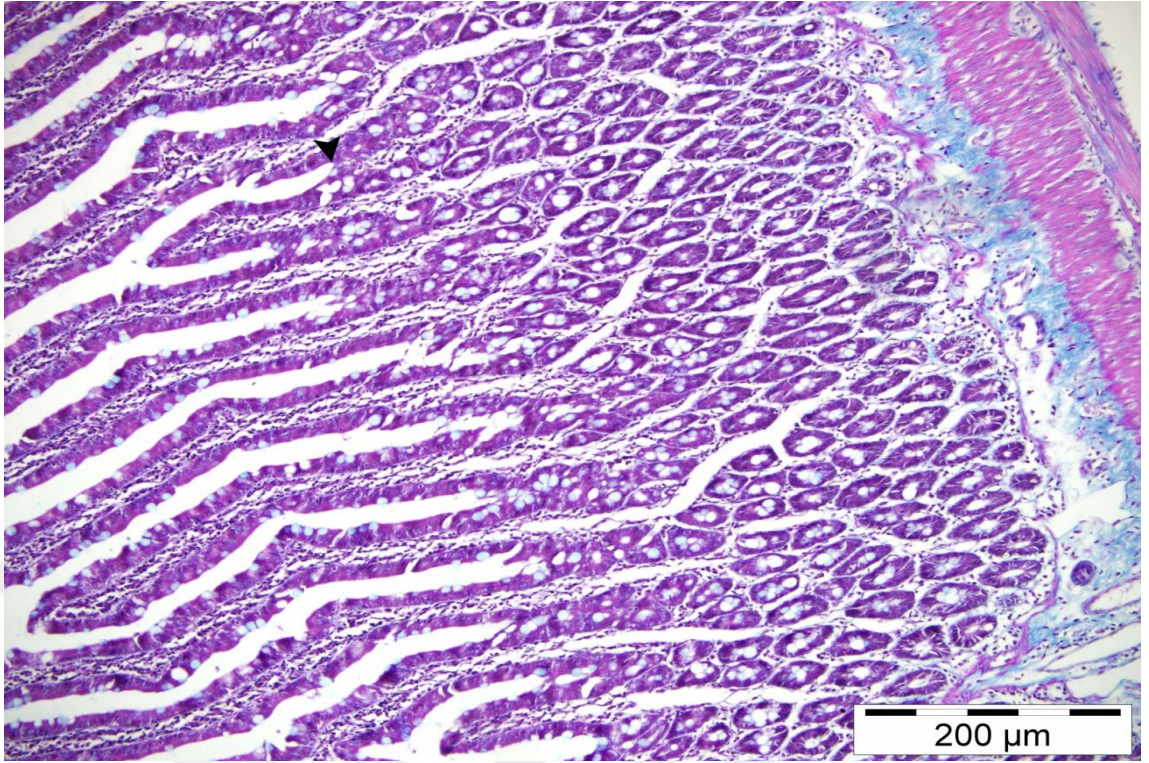
Yapılan PAS boyamada, lamina epitelyalite yerleşim gösteren ve mukus salgılayan Goblet hücrelerinin genellikle kadeh şeklinde normal yapıda olduğu tespit edildi (Resim 10,11,12). PAS boyama ile mikrovillus hattının devamlılığı ve Goblet hücrelerinin yapısı ile dağılımının da normal olduğu gözlemlendi (Resim 11,12). Duodenum, jejunum ve ileumların villuslarında bulunan kadeh hücrelerinde PAS boyamalarında pozitif reaksiyon verdiği saptandı. PAS boyamada boyama yoğunluğu bağırsak bölümlerinde ve gruplar arasında farklılık görülmedi.



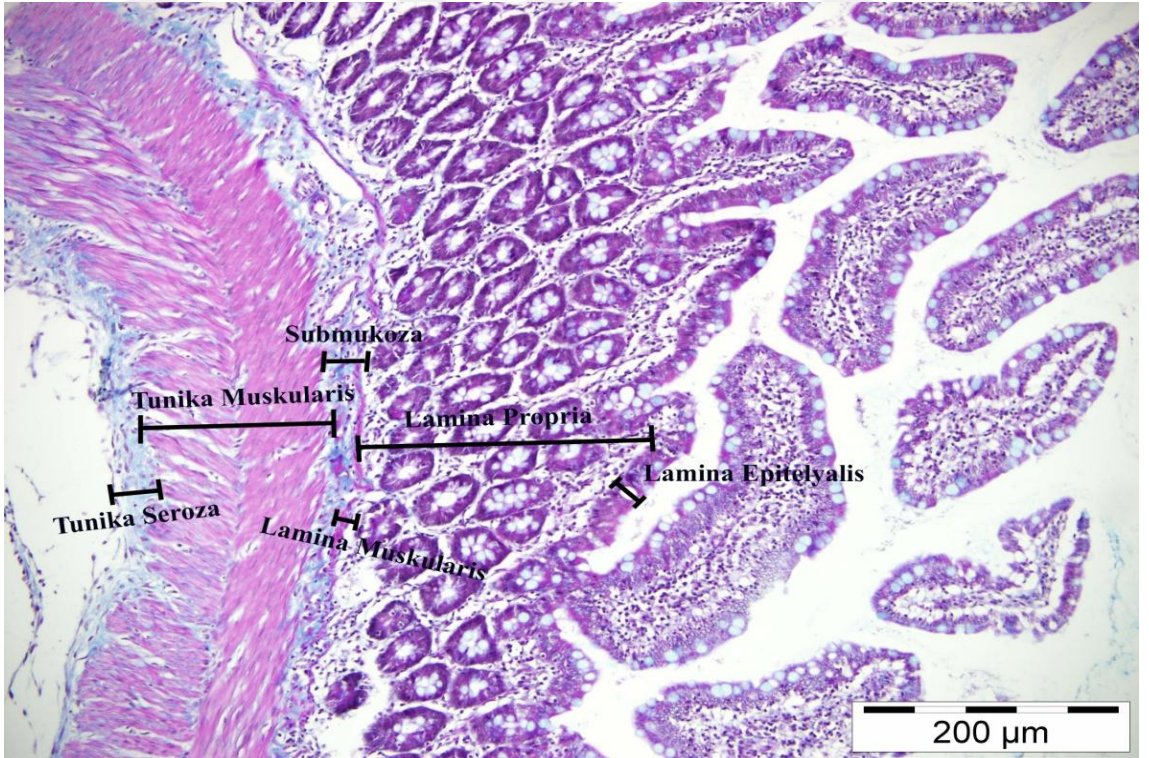
Resim 1: Kontrol grubu duodenum'un histolojik görünümü. Triple boyama.



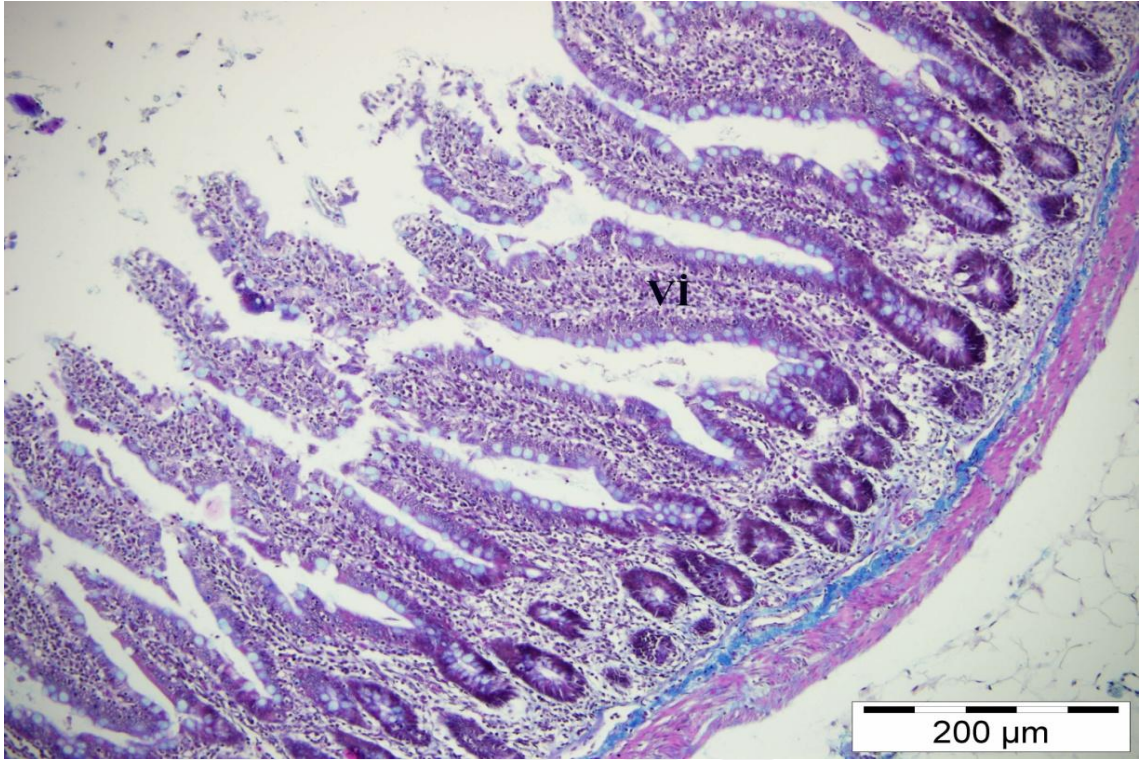
Resim 2: Melatonin grubu duodenum'un histolojik görünümü. Triple boyama.



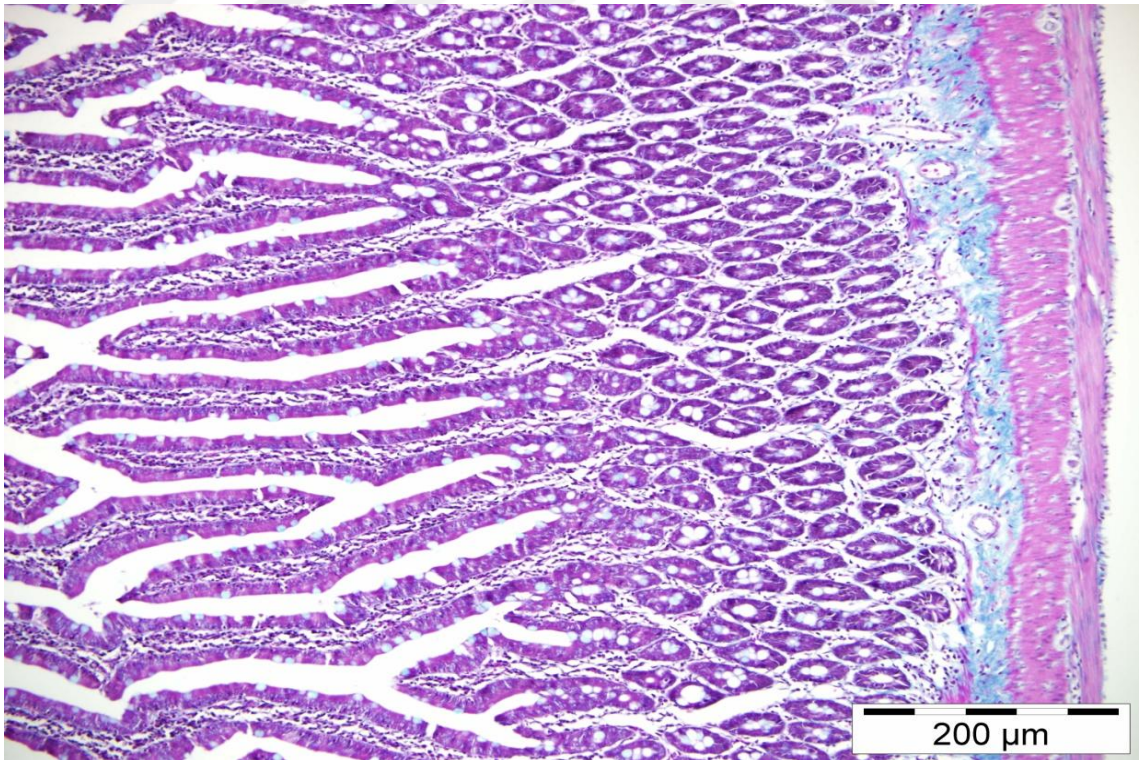
Resim 3: Melatonin grubunda duodenum viluslarının genel görünümü.



Resim 4: Melatonin grubunda jejunum'un genel görünümü. Triple Boyama.



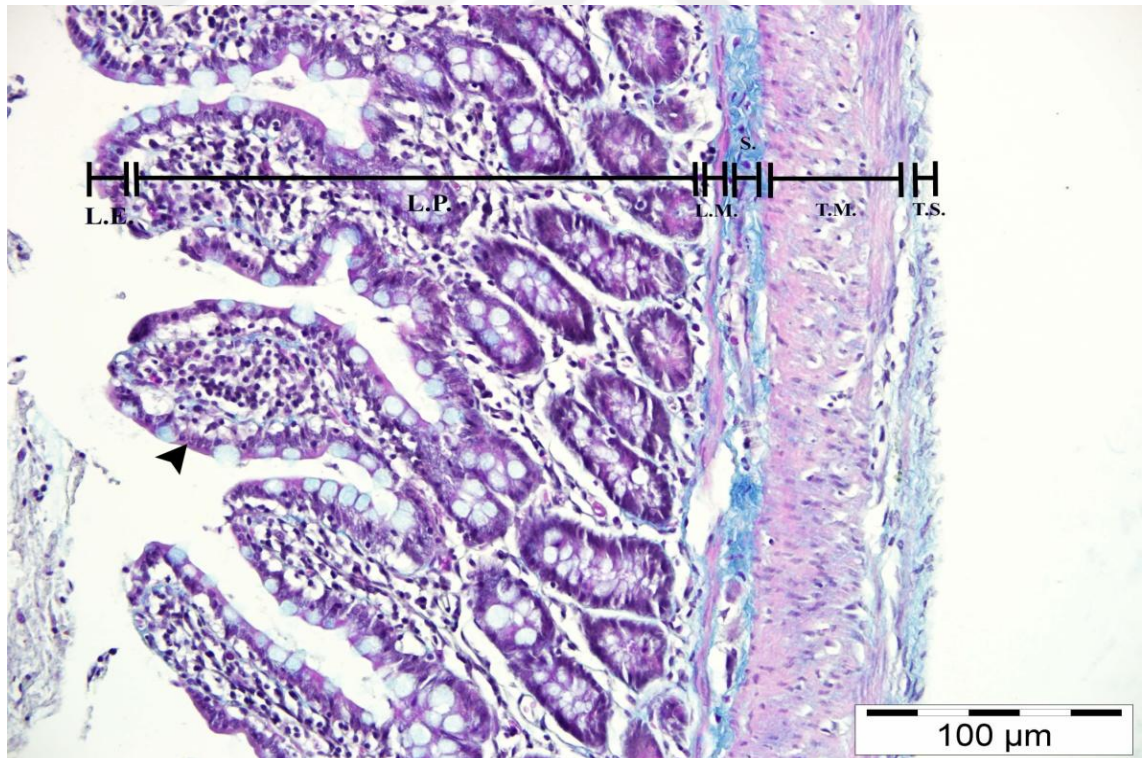
Resim 5: Kontrol grubu jejunum villusları genel görünümü. Triple Boyama. VI: Villus İntestinalis



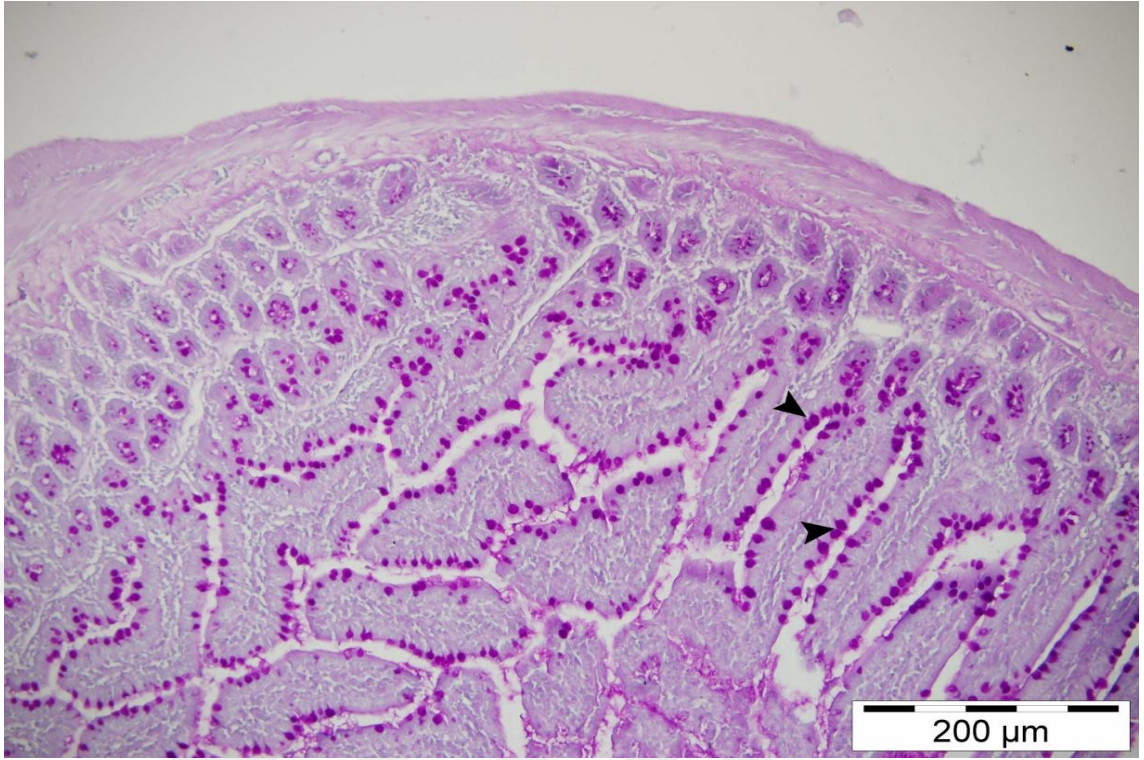
Resim 6: Sham grubu jejunum'un genel görünümü. Triple Boyama.



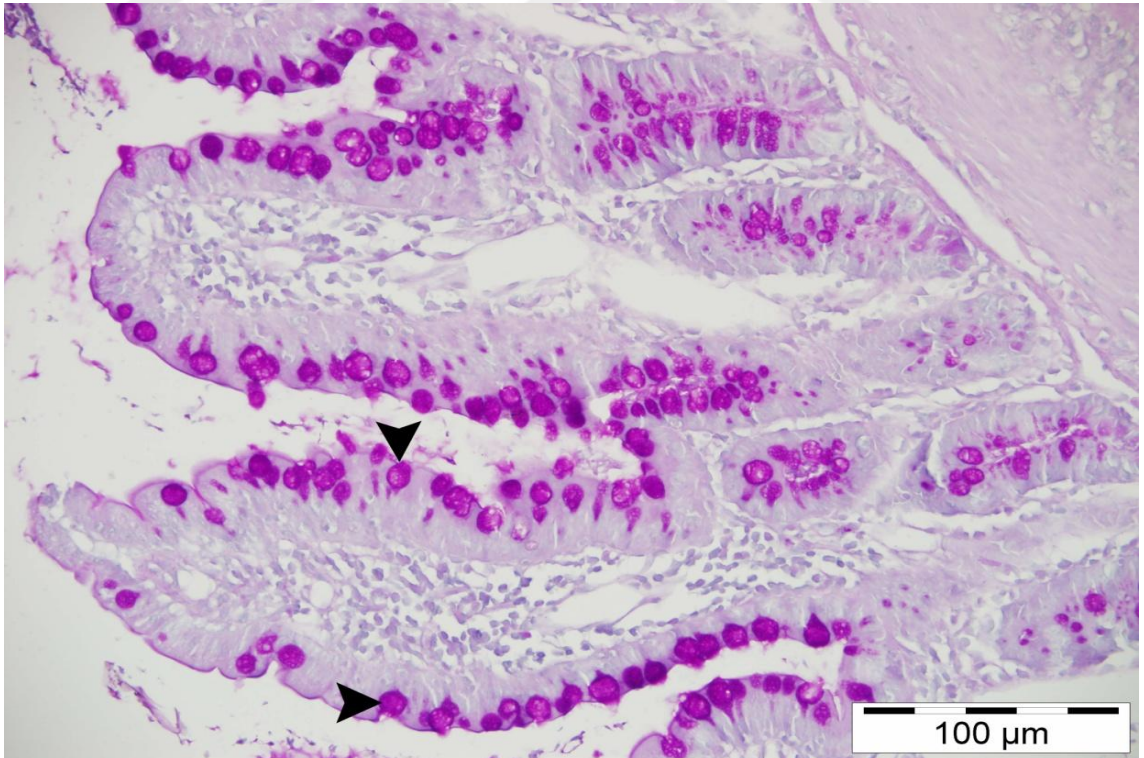
Resim 7: Kontrol grubunda ileum'un genel görünümü. Triple Boyama.



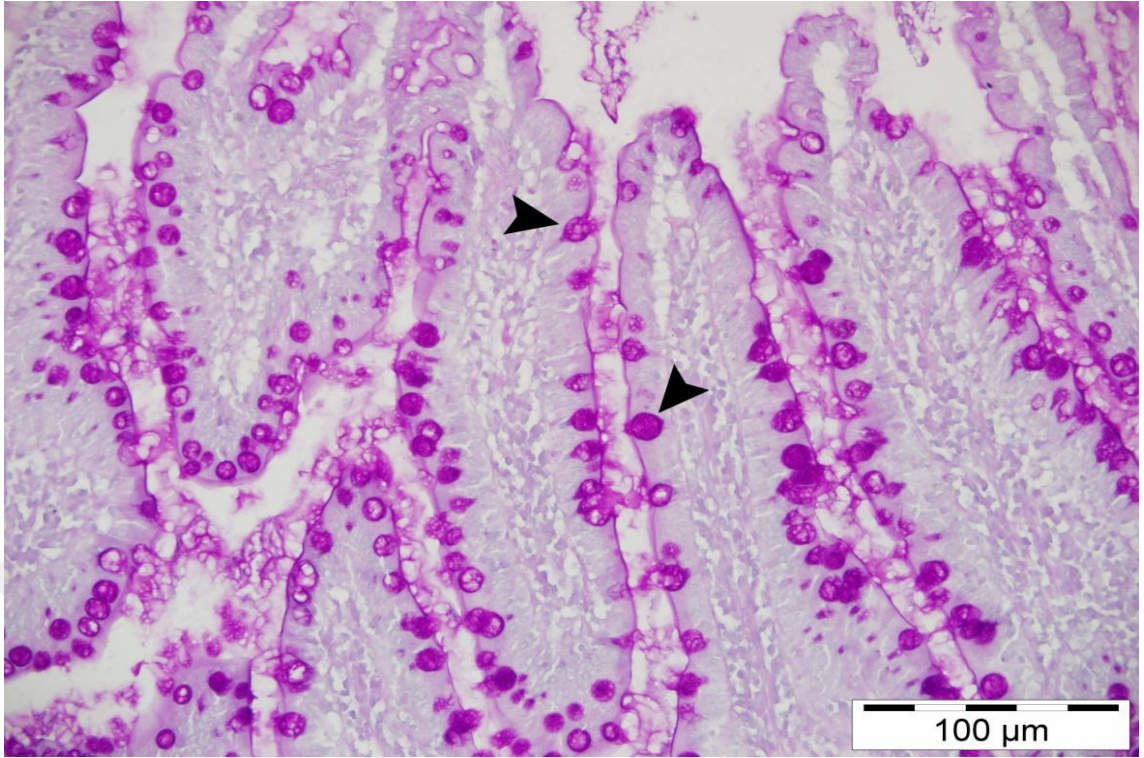
Resim 8: Melatonin grubunda ileum'un genel görünümü. Triple Boyama. **TS:** Tunika Seroza **TM:** Tunika Muskularis **S:** Submukoza **LM:** Lamina Mukularis **LP:** Lamina Propria **LE:** Lamina Epiteyalis **Ok** **Baş:** Villus İntestinalis



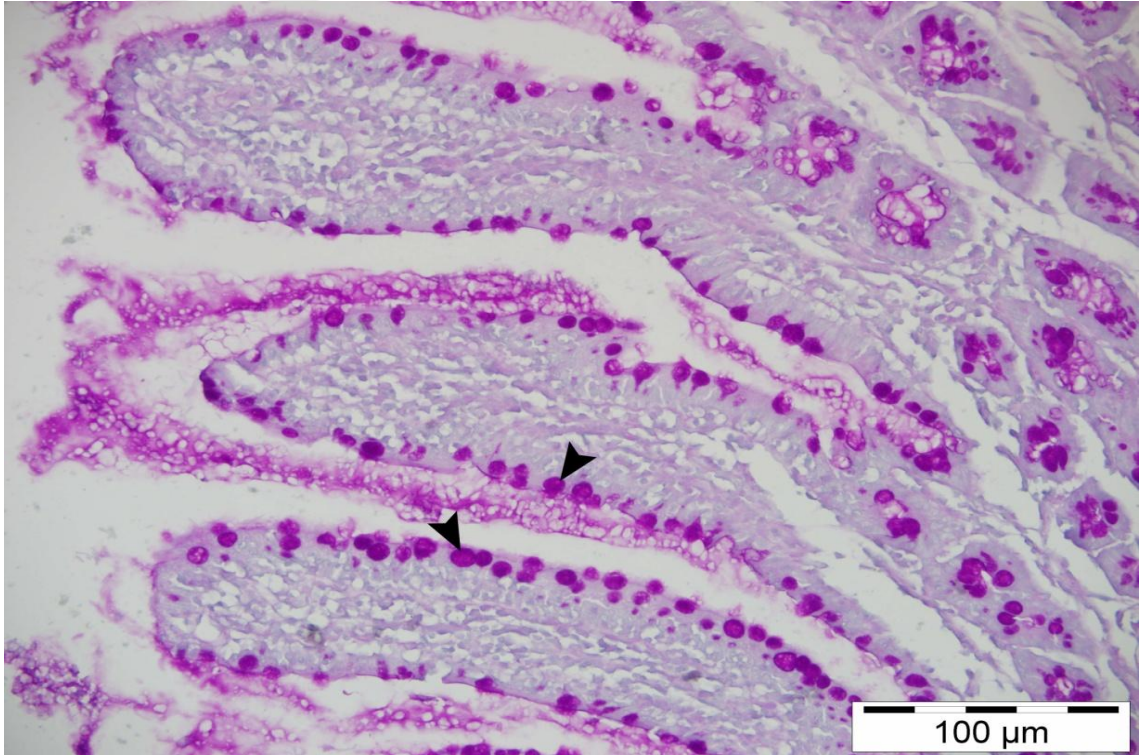
Resim 9: Kontrol grubu dudenum'da genel görünüm. **Ok Başı:** Goblet Hücreleri. PAS Boyama.



Resim 10: Kontrol grubu jejunum'da genel görünüm. PAS Boyama. **Ok Başı:** Goblet Hücreleri



Resim 11: Sham grubu jejunum'da genel görünüm. PAS Boyama. **Ok Başı:** Goblet Hücreleri



Resim 12: Melatonin grubu ileum'da genel görünüm. PAS Boyama. **Ok Başı:** Goblet Hücreleri

4.4. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.4.1. Motilin'in İmmünohistokimyasal Bulguları

İncebağırsaktaki motilin immünoreaktivitesi kontrol, sham ve melatonin gruplarının doku örnekleri -'den ++++'e kadar değişen değerlerde reaksiyon yoğunluğu belirlendi. Bu reaksiyon yoğunlukları tablo 8'de gösterilmiştir.

Duodenumda motilin immünoreaktivitesi lamina epitelyaliste belirgin olarak tespit edildi (Resim 19,20). Lamina epitelyalisteki motilin immünoreaktivitesi prizmatik epitel hücrelerinde saptandı (Resim 17,19,20). Lamina epitelyalisteki motilin immünoreaktivitesi kript epitelindeki motilin immünoreaktivitesine göre daha güçlüydü (Resim 17). Her üç grupta da Goblet hücrelerinde motilin immünoreaktivitesi belirlenmedi (Resim 20). Goblet hücrelerine bitişik epitel hücrelerinde motilin immünoreaktivitesi gösteren hücrelerin sayısının arttığı belirlendi (Resim 20). Lamina propria katmanında bazı bağ doku hücrelerinde de motilin immünoreaktivitesi tespit edildi (Resim 19). Duodenumda sitoplazmik ve nükleer tarzda motilin immünoreaktivitesi tesbit edilirken (Resim 20), stoplazmik boyamanın nükleer boyamaya göre daha fazla olduğu saptandı (Resim 19). Lamina muskularis katmanında motilin immünoreaktivitesi belirlenmedi. Submukoza tabakasının bağ dokusunda motilin immünoreaktivitesi yoğunluğunun arttığı tespit edildi (Resim 13,14). Brunner bezlerinde motilin immünoreaktivitesi görülmedi. Brunner bezleri arasındaki bağ dokuda motilin immünoreaktivitesi belirlendi (Resim 15,16). Tunika muskularis ve tunika seroza katmanında motilin immünoreaktivitesi zayıftı. (Resim 18). Duodenumdaki motilinin reaksiyon yoğunluğu katmanlar arasında kıyaslandığında en yoğun tunika mukoza katmanında gözükürken tunika muskularis ve tunika seroza katmanında çok az reaksiyon belirlendi. Duodenumda; kontrol, sham ve melatonin grupları arasındaki yoğunluk farkı istatistiki açıdan önemli olmasada kontrol ve sham gruplarında reaksiyon yoğunluğu benzer ve yüksek iken, melatonin grubunda reaksiyon yoğunluğunun azaldığı belirlenmiştir.

Jejunumda, motilin immünoreaktivitesi lamina epitelyaliste net olarak saptandı (Resim 25,27,28). Lamina epitelyalisteki motilin immünoreaktif hücreler tek tek lümenle temas halinde prizmatik epitel hücreler şeklinde görüldü. Motilin üreten hücreler prizmatik, yuvarlak, armut ve üçgen şeklinde gözlemlendi (Resim 27,28). Kript

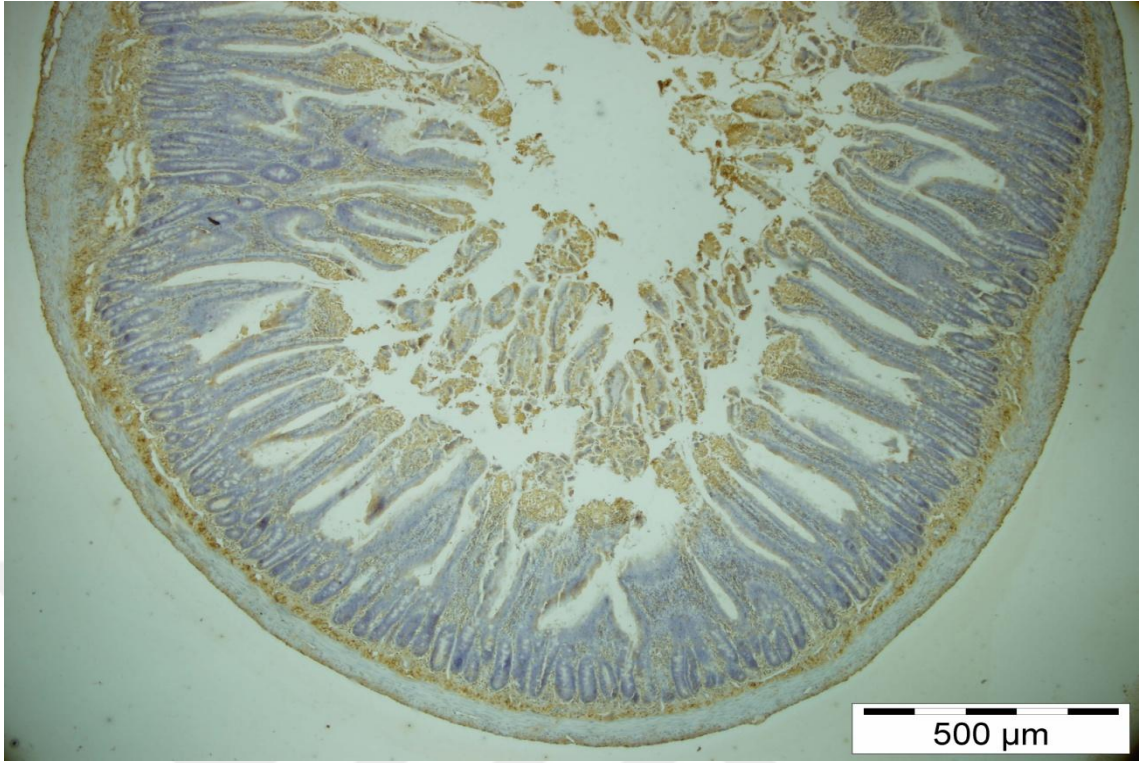
epitelindeki motilin immünoreaktivitesi gösteren hücreler kapalı tipte gözlemlendi. Lamina epitelyalisteki motilin immünoreaktivitesi kript epitelindeki motilin immünoreaktivitesine göre daha fazla belirlendi (Resim 25). Her üç grupta da Goblet hücrelerinde motilin immünoreaktivitesi gözlenmedi (Resim 28). Goblet hücrelerine bitişik epitel hücrelerinde motilin immünoreaktivitesinin daha yoğun olduğu saptandı (Resim 28). Bazı epitel hücrelerinde ise reaksiyon olmadığı gözlemlendi. Lamina propria katmanında bazı bağ doku hücrelerinde de yer yer motilin immünoreaktivitesi görüldü (Resim 26,27,28). Motilin immünoreaktivitesinin kontrol, sham ve deneme gruplarında hem sitoplazmik hemde nükleer tarzda olduğu, epitel dokuda sitoplazmik boyamanın nükleer boyamaya göre daha fazla olduğu belirlendi (Resim 27). Lamina muskularis katmanında motilin immünoreaktivitesi belirlenmedi. Submukoza tabakasının bağ dokusunda motilin immünoreaktivitesi yoğun olarak tespit edildi (Resim 23,24). Jejunumun submukozası ve kriptlerindeki motilin immünoreaktivitesi duodenum ve ileumdan daha yoğun bir şekilde gözlemlendi (Resim 21,22). Tunika muskularis ve tunika seroza katmanında motilin immünoreaktivitesi çok az belirlendi. Longitudinal kas katmanında motilin immünoreaktivitesi sirküler katmana göre daha yoğun bir şekilde gözlemlendi (Resim 23). Jejunumdaki motilinin reaksiyon yoğunluğu katmanlar arasında kıyaslandığında en yoğun tunika mukoza katmanında gözükürken tunika muskularis ve tunika serozada çok az reaksiyon belirlendi. Jejunumdaki gruplar arasındaki yoğunluk farkı istatistiksel açıdan önemli olmasada kontrol ve sham gruplarında reaksiyon yoğunluğu benzer ve yüksek iken, melatonin grubunda reaksiyon yoğunluğunun azaldığı saptanmıştır.

İleumda, motilin immünoreaktivitesi lamina epitelyaliste belirgindi (Resim 36). Lamina epitelyalisteki motilin immünoreaktivitesi lümeneye bakan prizmatik epitel hücrelerinde belirlendi. Hücrelerin bazal kısımlarında reaksiyon yoğunluklarının arttığı görüldü (Resim 36). İleum kriptlerindeki motilin immünoreaktivitesi gösteren hücreler kapalı tipte gözlemlendi (Resim 34,35). Lamina epitelyalisteki motilin immünoreaktivitesi kript epitelindeki motilin immünoreaktivitesine göre yoğun şekildeydi (Resim 33). Kriptler arasındaki bağ doku bölgesindeki iri hücrelerde yer yer reaksiyon gözlemlendi. Her üç grupta da Goblet hücrelerinde motilin immünoreaktivitesi tespit edilmedi (Resim 34). Goblet hücrelerine bitişik epitel hücrelerinde motilin immünoreaktivitesinin arttığı belirlendi. Bazı epitel hücrelerinde ise reaksiyon olmadığı gözlemlendi. Lamina propria

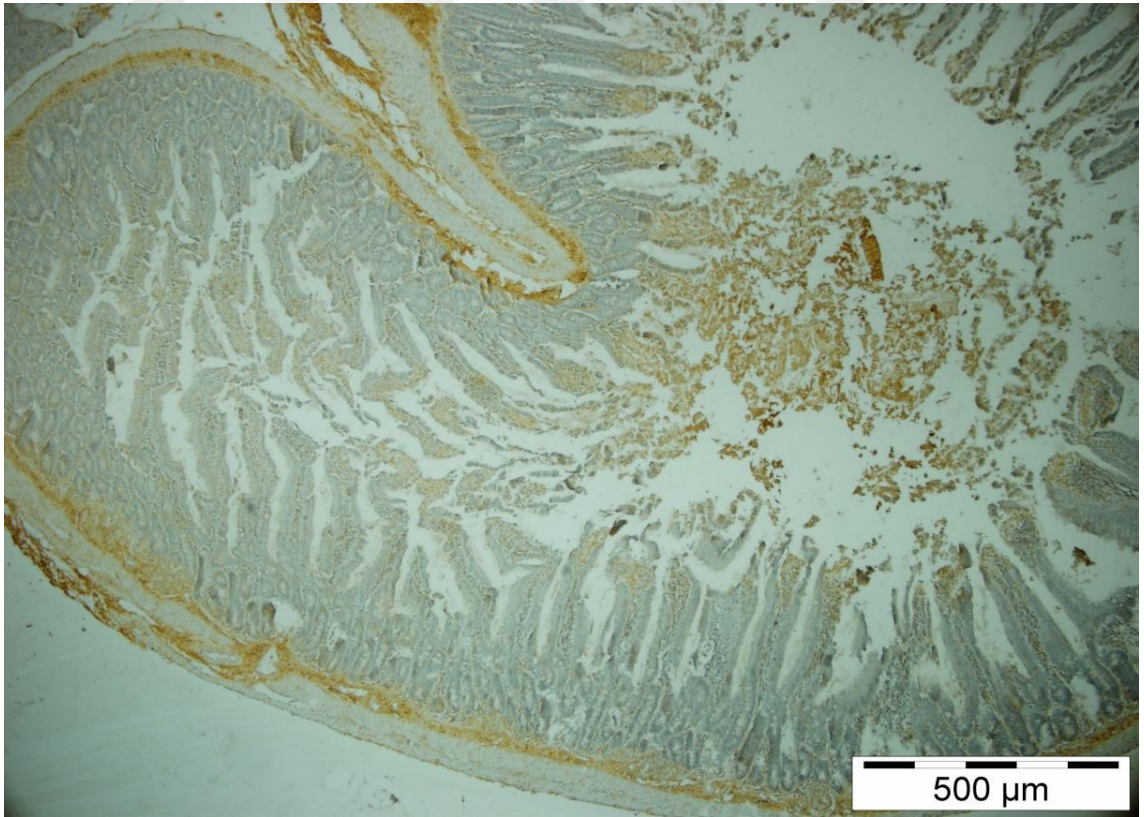
katmanında bazı bağı dokü hücrelerinde motilin immünoreaktivitesi tespit edildi (Resim 36). Motilin immünoreaktivitesinin kontrol, sham ve deneme gruplarında sitoplazmik ve nükleer tarzda reaksiyon olduğu, epitel dokuda stoplazmik boyamanın nükleer boyamaya oranla daha fazla olduğu belirlendi (Resim 36). Lamina muskularis katmanında motilin immünoreaktivitesi saptanmadı. Submukoza tabakasının bağı dokusunda motilin immünoreaktivitesi yoğun olarak belirlendi (Resim 33). Tunika muskularis ve tnika seroza katmanında motilin immünoreaktivitesi çok az gözlendi. Longitudinal kas katmanında motilin immünoreaktivitesi sirküler katmana göre daha yoğun bir şekilde belirlendi (Resim 33). İleumdaki motilinin reaksiyon yoğunluğu katmanlar arasında kıyaslandığında en yoğun tunika mukoza katmanında gözükürken tunika muskularis ve tunika serozada çok az reaksiyon belirlendi. İleumdaki; kontrol, sham ve melatonin grupları arasındaki yoğunluk farkı istatistiki açıdan önemli olmasada kontrol ve sham gruplarında reaksiyon yoğunluğu benzer ve yüksek iken melatonin grubunda reaksiyon yoğunluğunun azaldığı belirlenmiştir. Motilin immünoreaktivitesi tüm gruplar içinde en yüksek jejunumda sonra duodenumda en az ise ileumda belirlenmiştir.

Tablo 8: İncebağırsaktaki motilin reaksiyon yoğunluğu. Kontrol, sham ve melatonin grupları arasında motilin immünoreaktivitesinin reaksiyon yoğunluğunun istatistiki analizi ($p>0,05$).

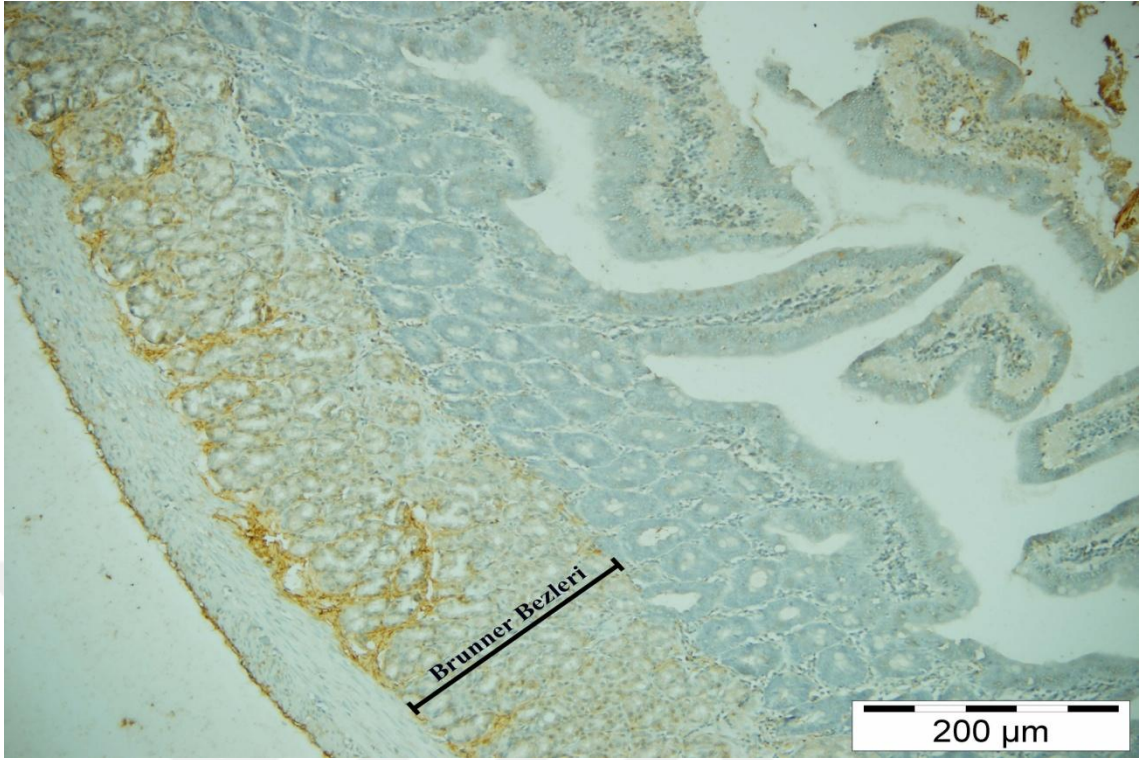
	Kontrol	Sham	Melatonin
Duodenum	+++ ^a	+++ ^a	++ ^{±a}
Jejunum	+++ ^{±b}	+++ ^{±b}	+++ ^b
İleum	+++ ^c	+++ ^c	++ ^c



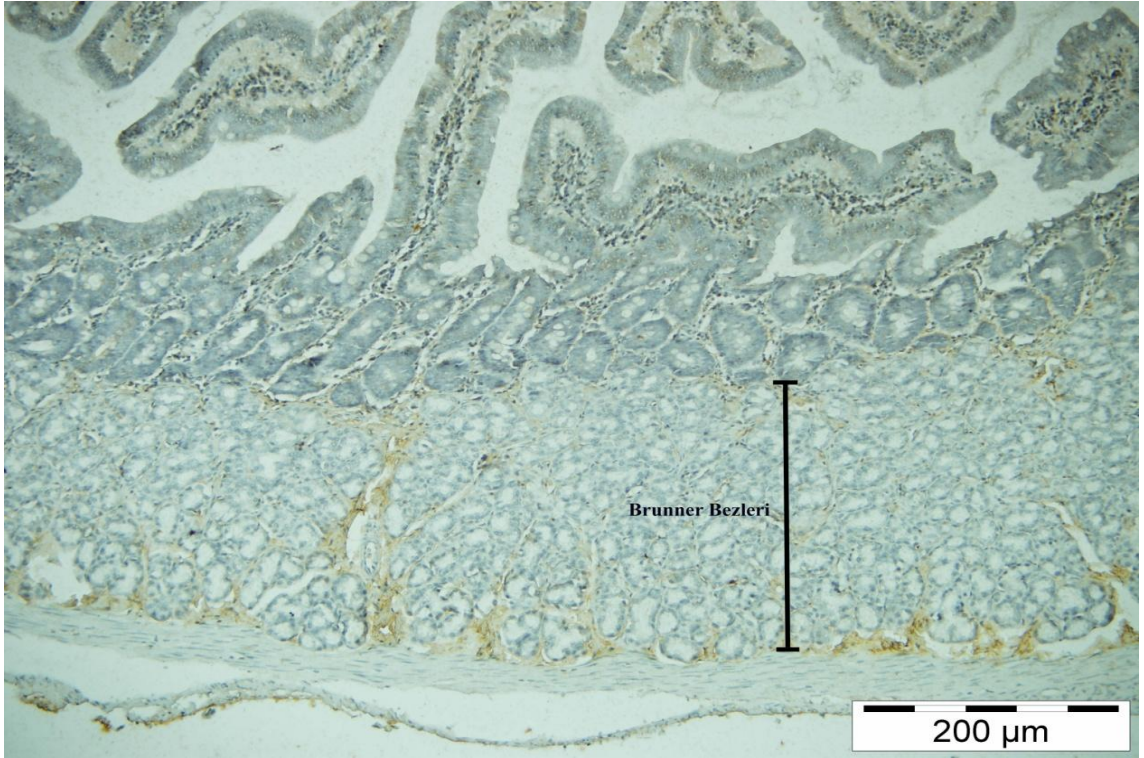
Resim 13: Kontrol grubu duodenumun'da motilin immünoreaktivitesi.



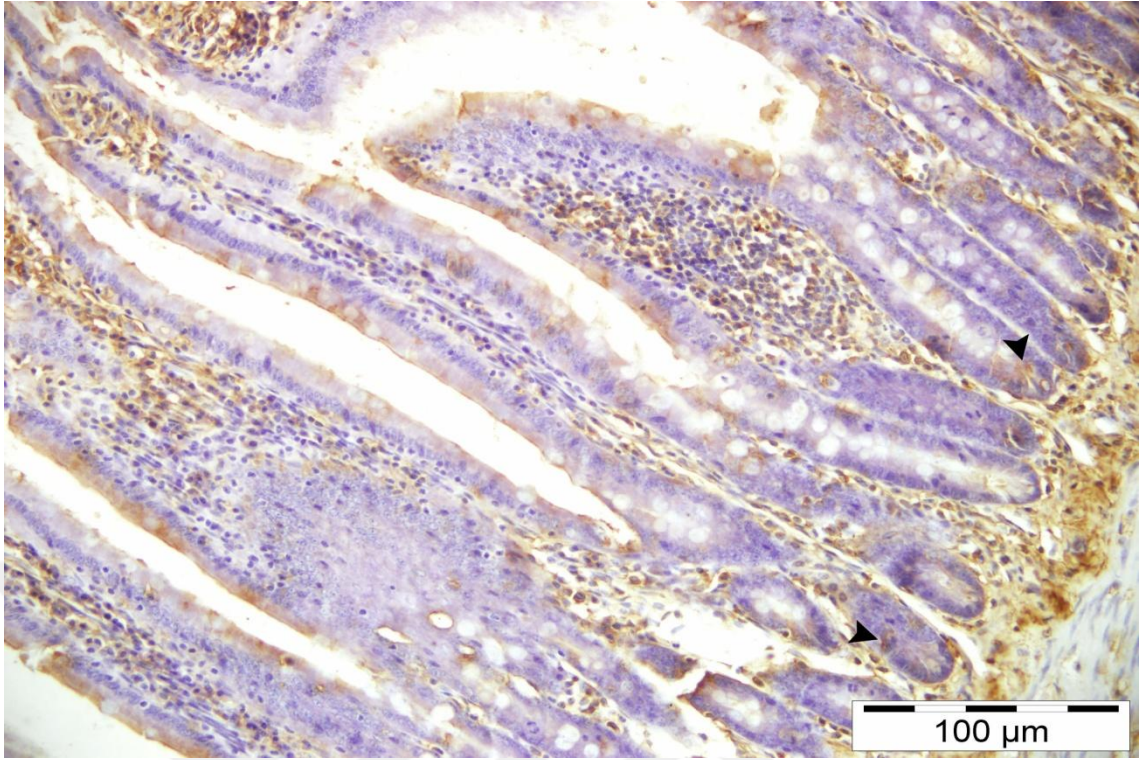
Resim 14: Melatonin grubu duodenum'da motilin immünoreaktivitesi.



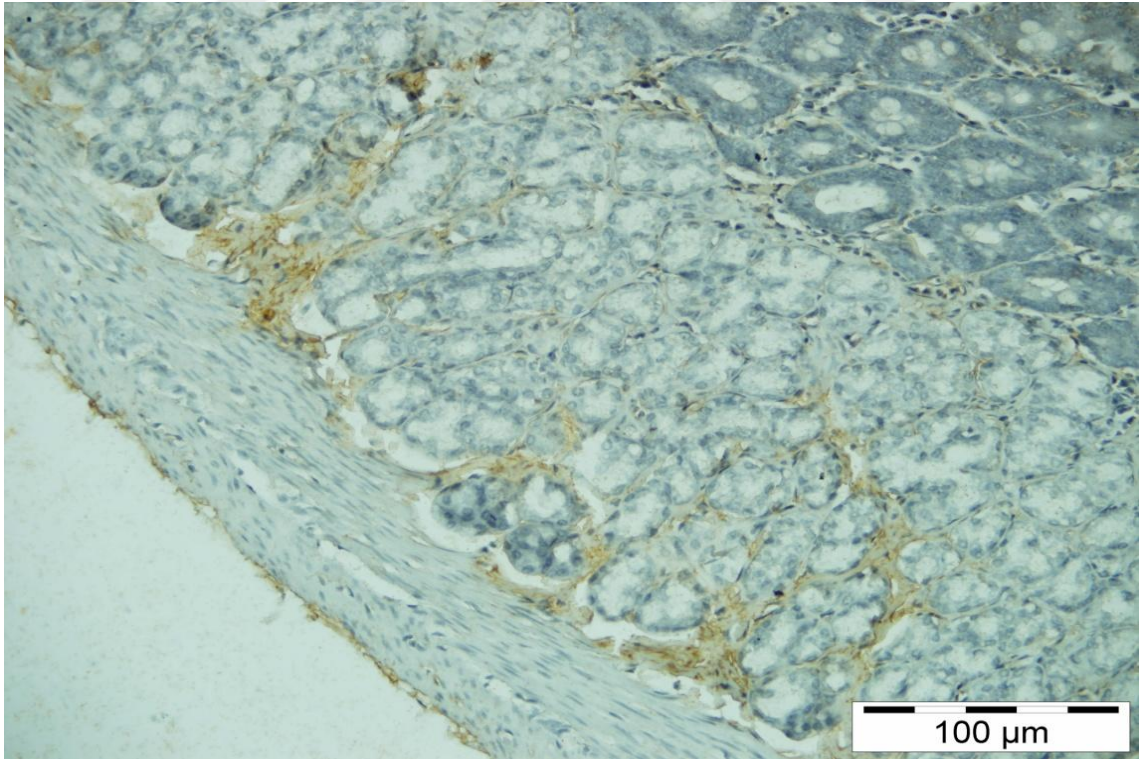
Resim 15: Kontrol grubu duodenum'da motilin immünoreaktivitesi.



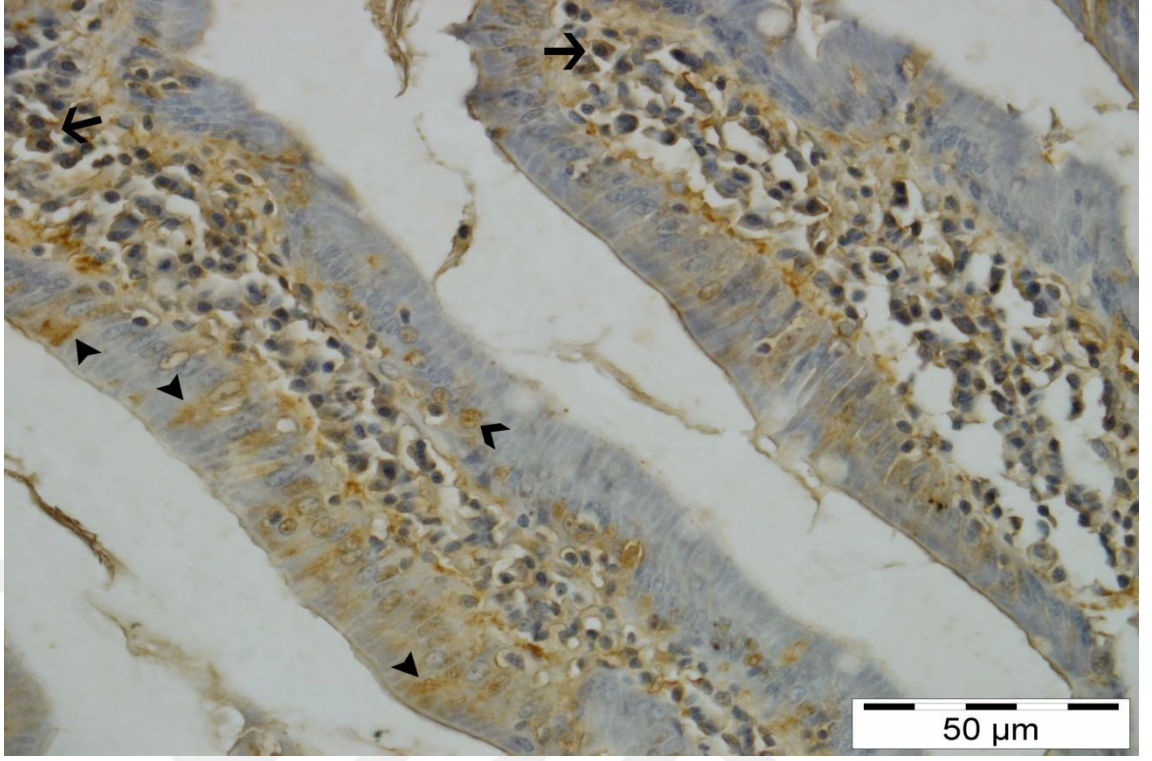
Resim 16: Melatonin grubu duodenumun'da motilin immünoreaktivitesi.



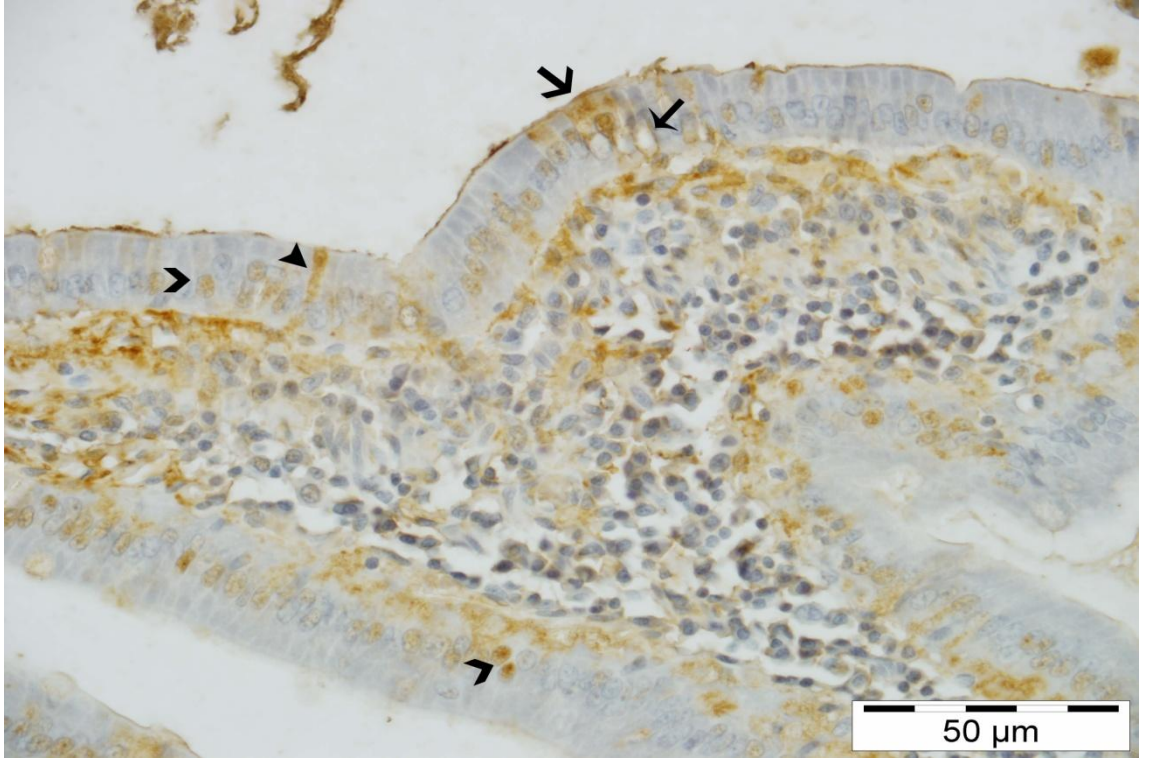
Resim 17: Sham grubu duodenumun'da motilin immünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Kapalı Tip Motilin immünopozitif Hücre.



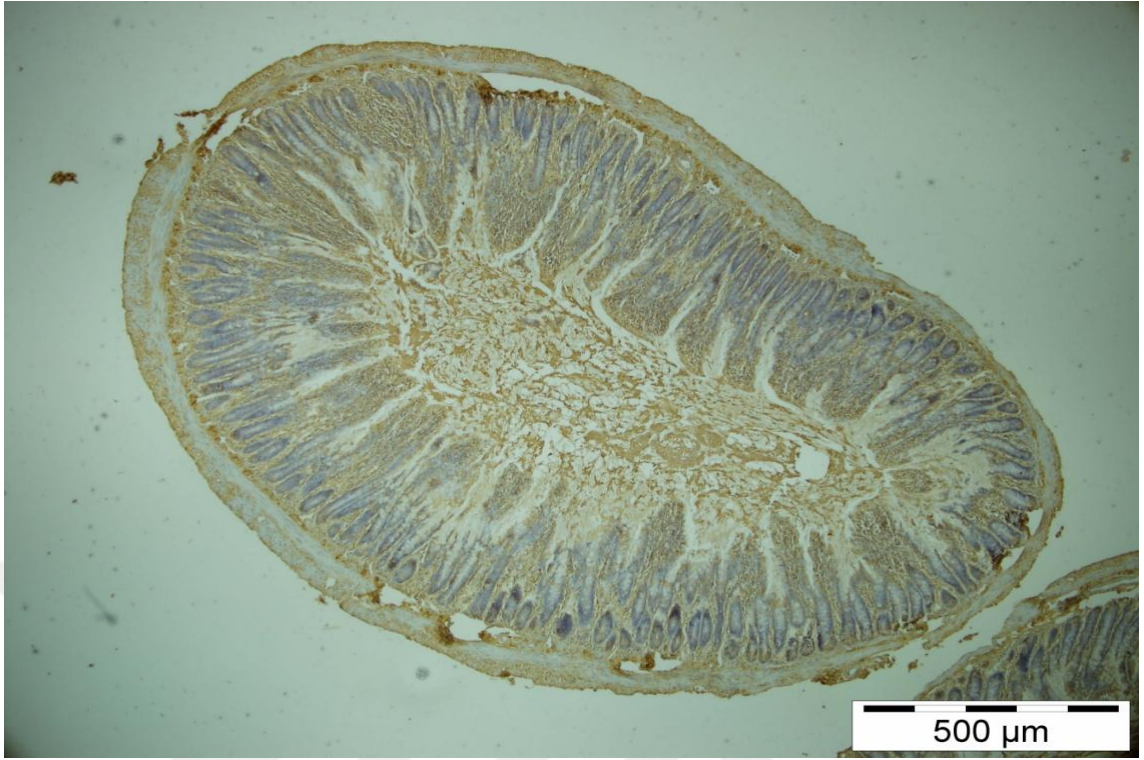
Resim 18: Melatonin grubu duodenum'da motilin immünoreaktivitesi.



Resim 19: Kontrol grubu duodenum'da motilin immünoaktivitesi. **Ok Başı:** Açık Tip Motilin İmmünopozitif Hücre ve stoplazmik boyama. **Ok:** Lamina propria. **Kuyruksuz ok:** Nükleer boyama.



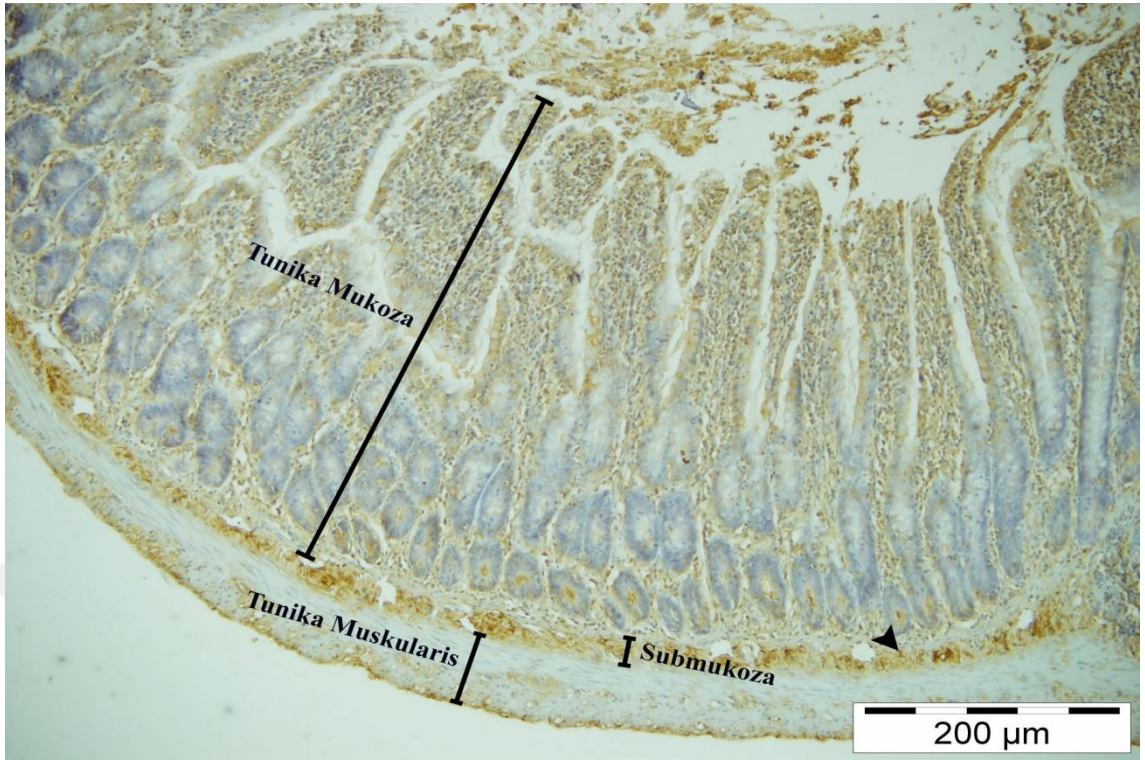
Resim 20: Melatonin grubu duodenum'da motilin immünoaktivitesi. **Ok Başı:** Açık Tip Motilin İmmünopozitif Hücre. **Kuyruksuz Ok:** Nükleer boyama. **Ok:** Stoplazmik Boyama. **İnce Ok:** Goblet Hücresi.



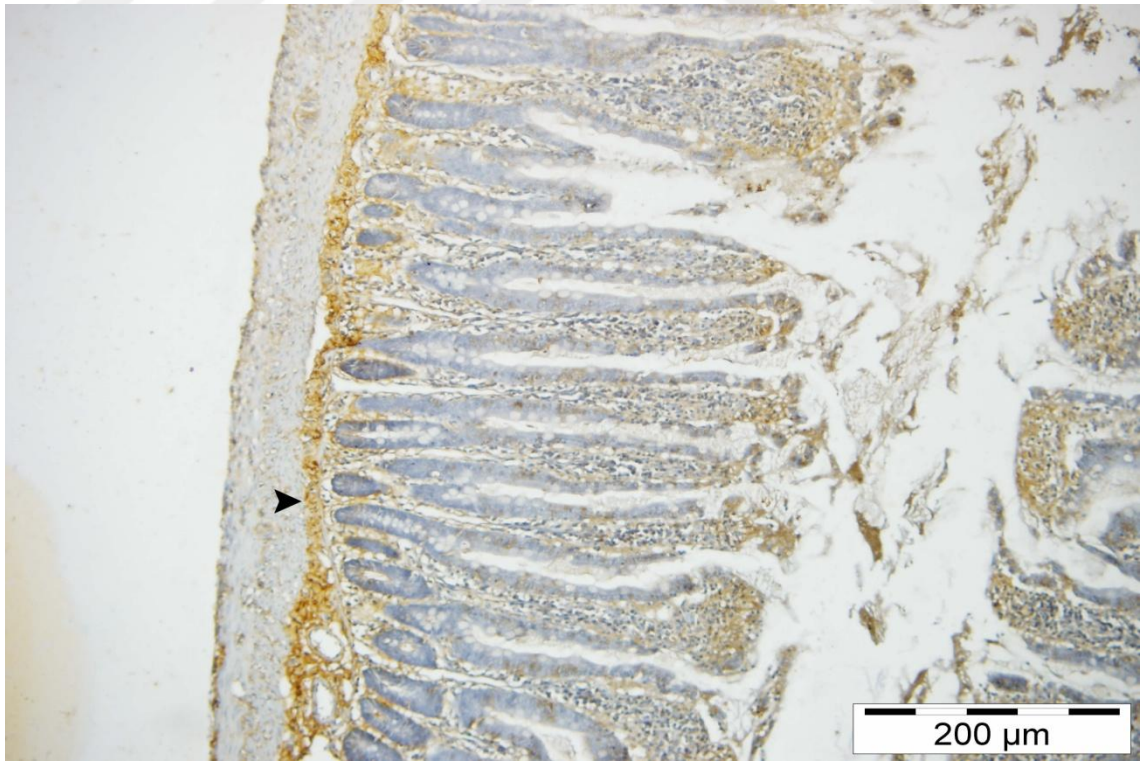
Resim 21: Kontrol grubu jejunum'da motilin immünoreaktivitesi.



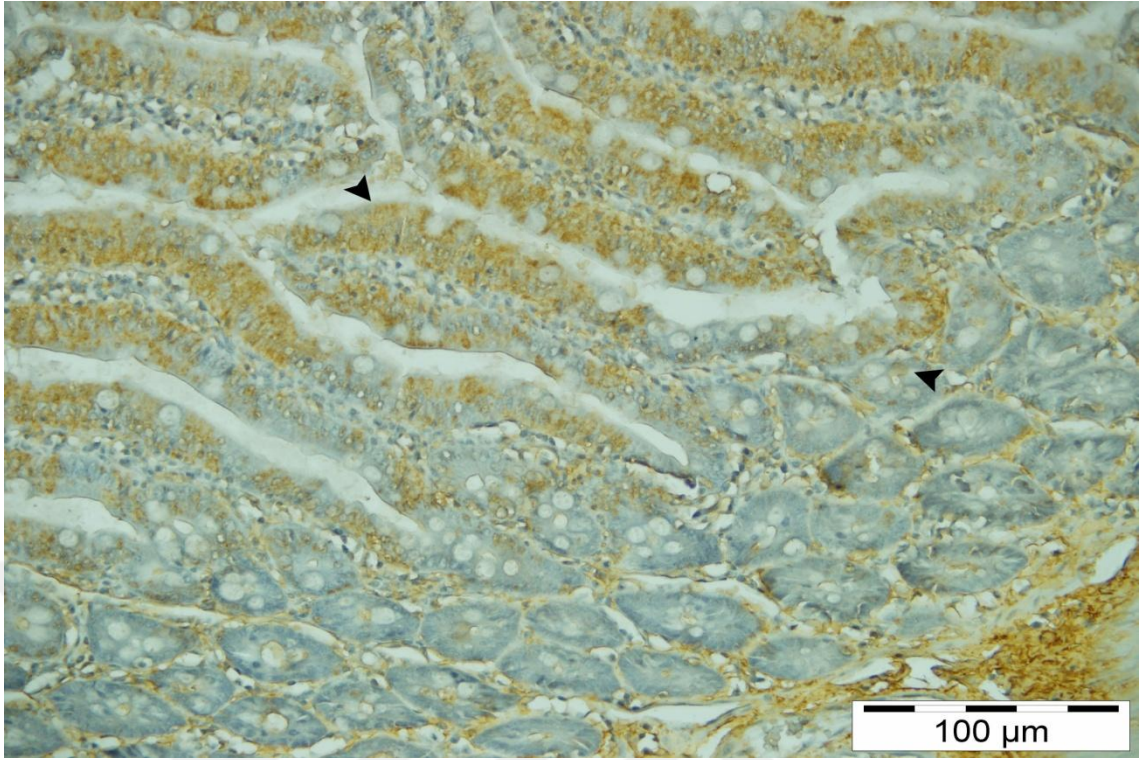
Resim 22: Melatonin grubu jejunum'da motilin immünoreaktivitesi.



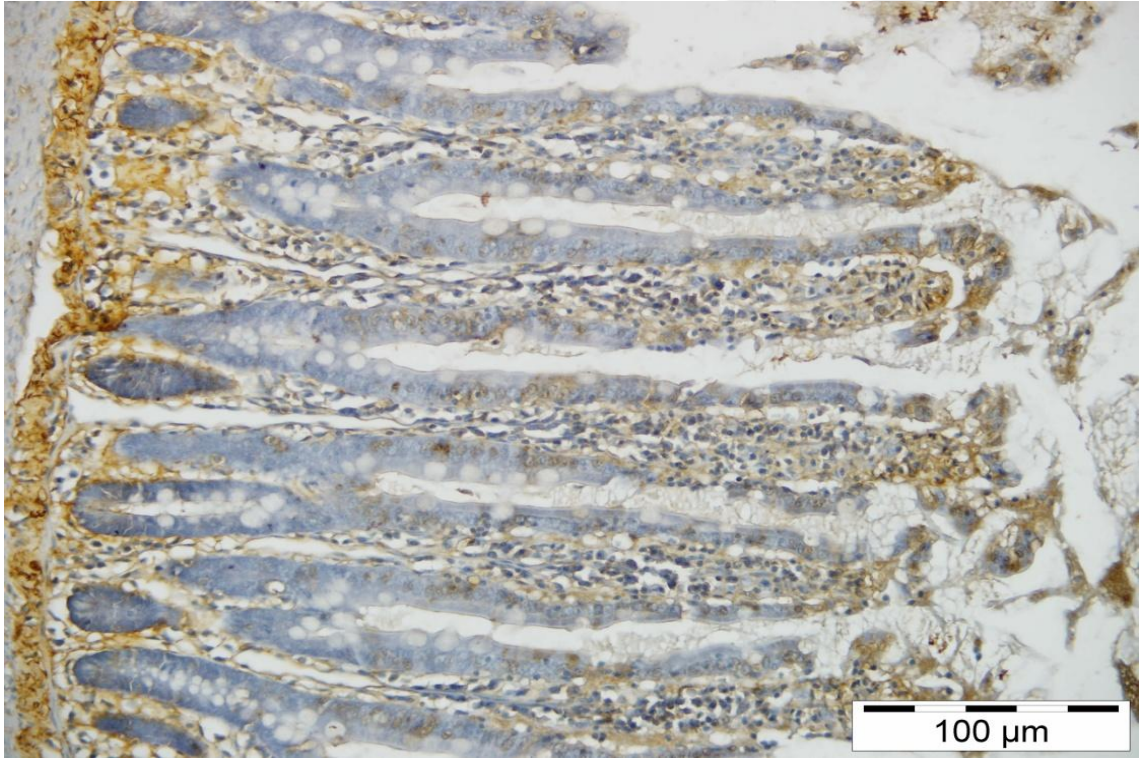
Resim 23: Kontrol grubu jejunum'da motilin immünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Submukozda Motilin İmmünoreaktivitesi.



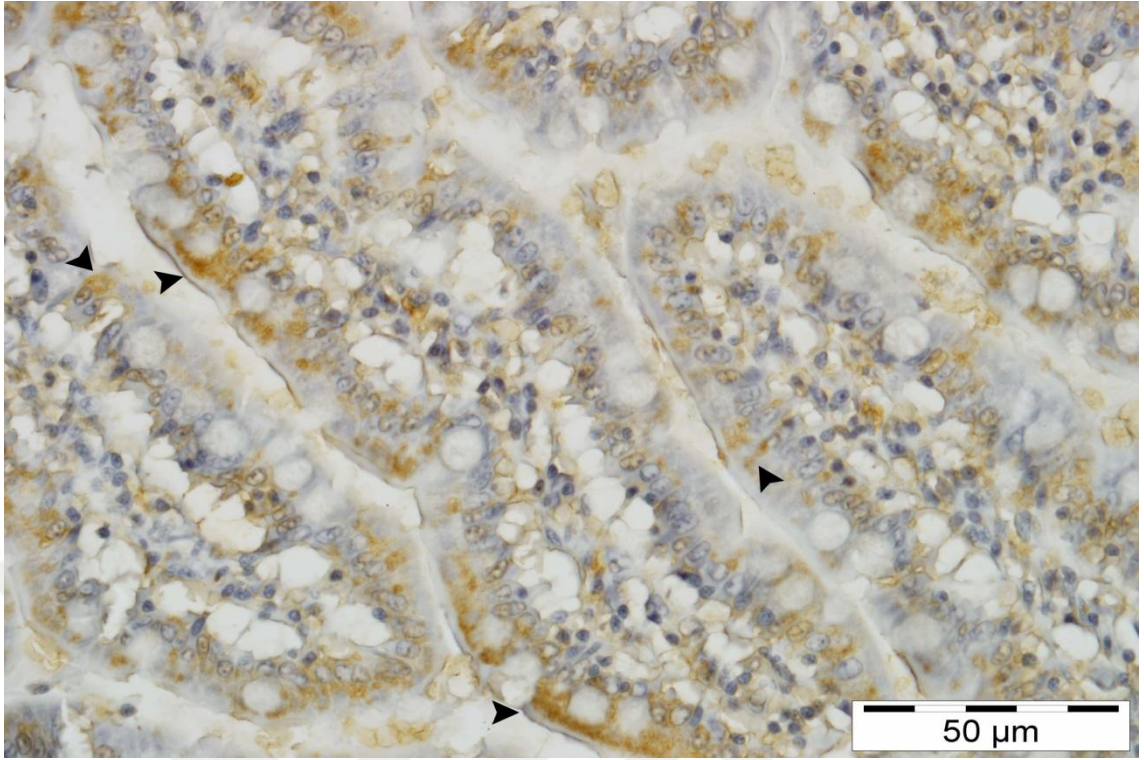
Resim 24: Melatonin grubu jejunum'da motilin immünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Submukozda Motilin İmmünoreaktivitesi.



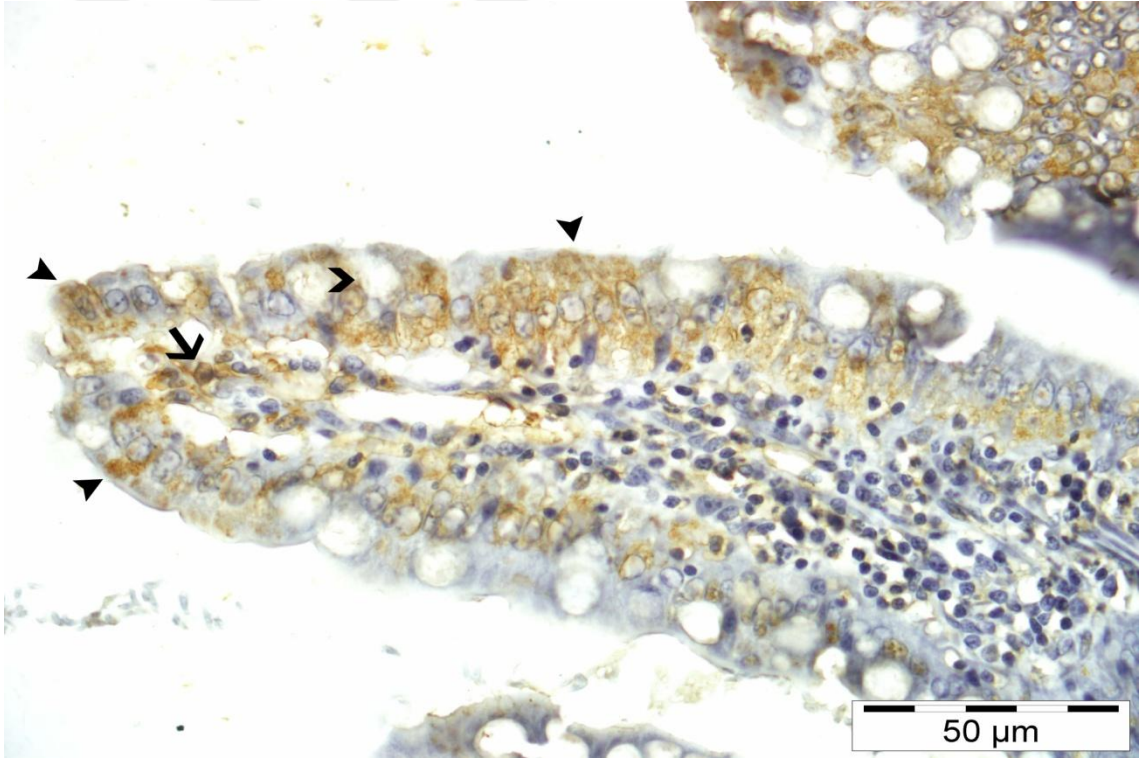
Resim 25: Sham grubu jejunum'da motilin immünoaktivitesi. **Ok Başı:** Motilin immünoaktif hücreler.



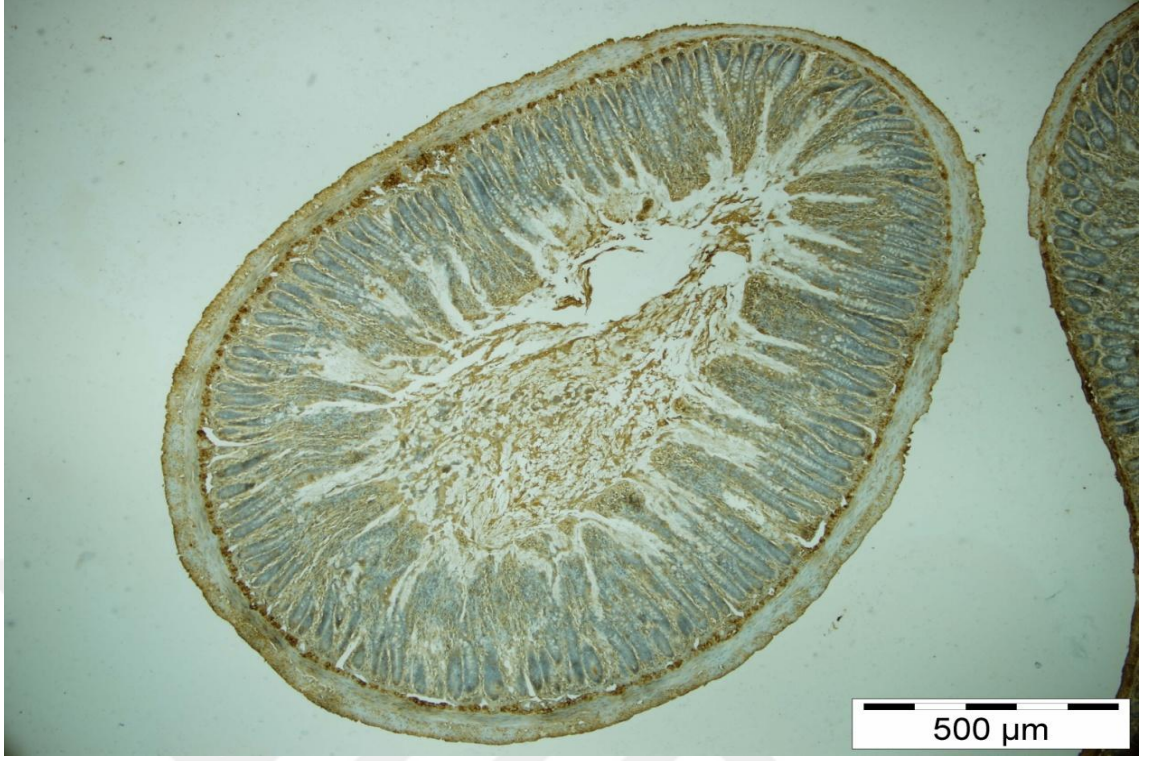
Resim 26: Melatonin grubu jejunum'da motilin immünoaktivitesi.



Resim 27: Sham grubu jejunum'da motilin immünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Açık tip motilin immünoreaktif hücreler.



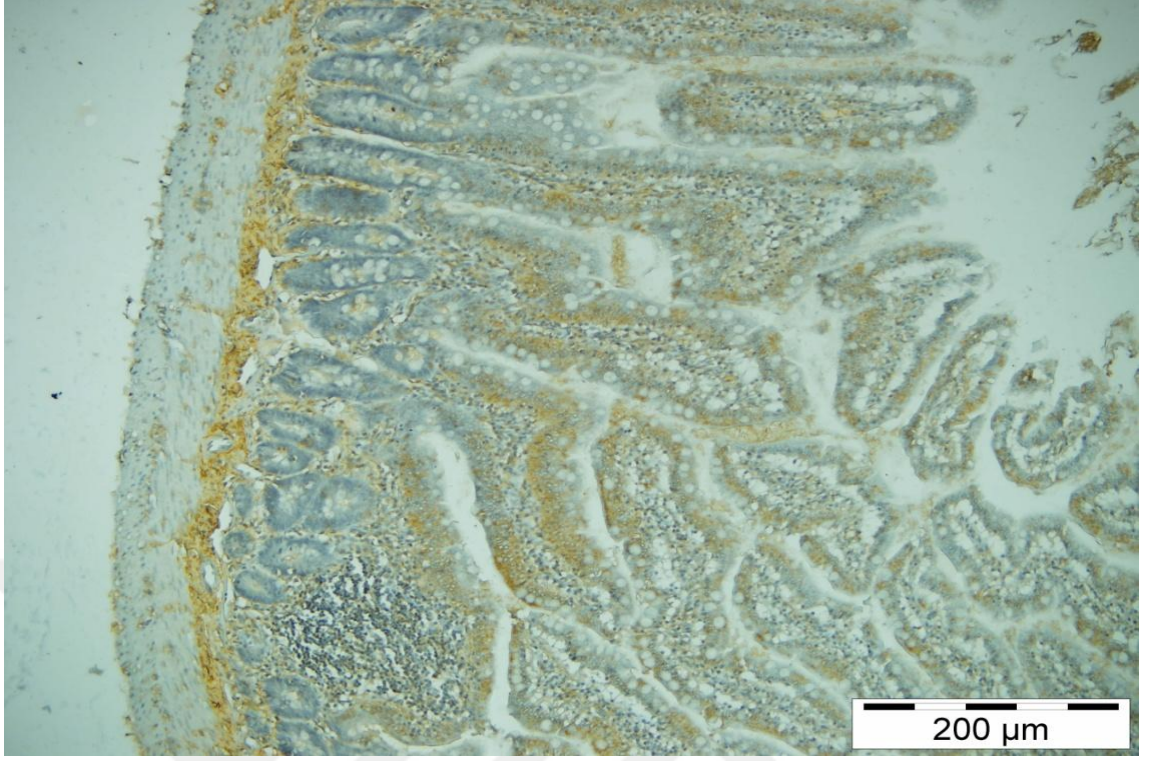
Resim 28: Melatonin grubu jejunum'da motilin immünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Motilin immünoreaktif hücre. **Kuyruksuz Ok:** Goblet hücresi. **Ok:** Lamina propria'da motilin immünoreaktif hücre.



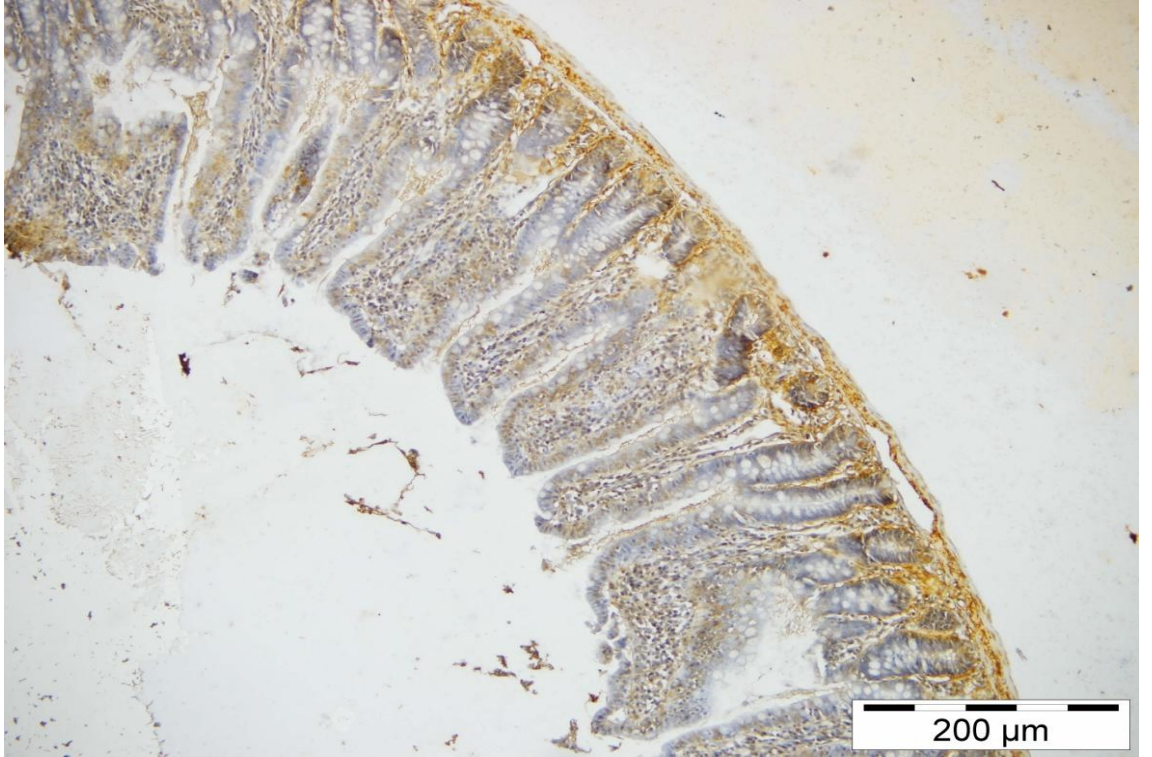
Resim 29: Kontrol grubu ileum'da motilin immünoreaktivitesi.



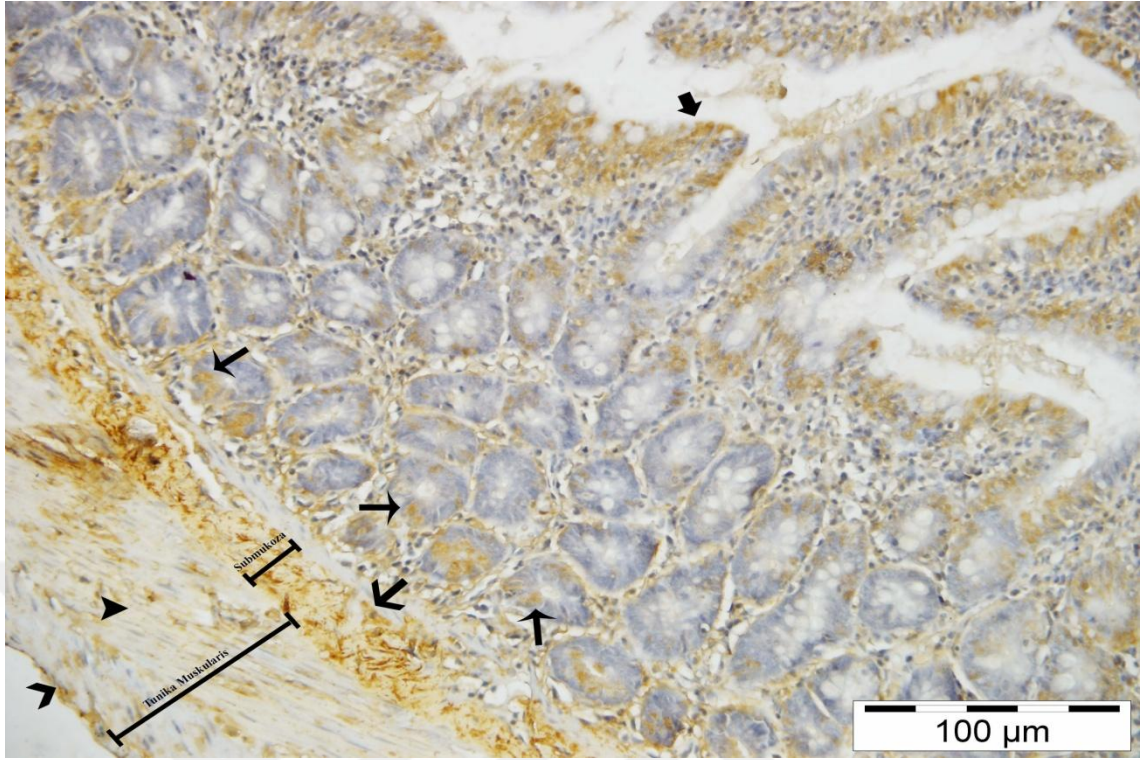
Resim 30: Melatonin grubu ileum'da motilin immünoreaktivitesi.



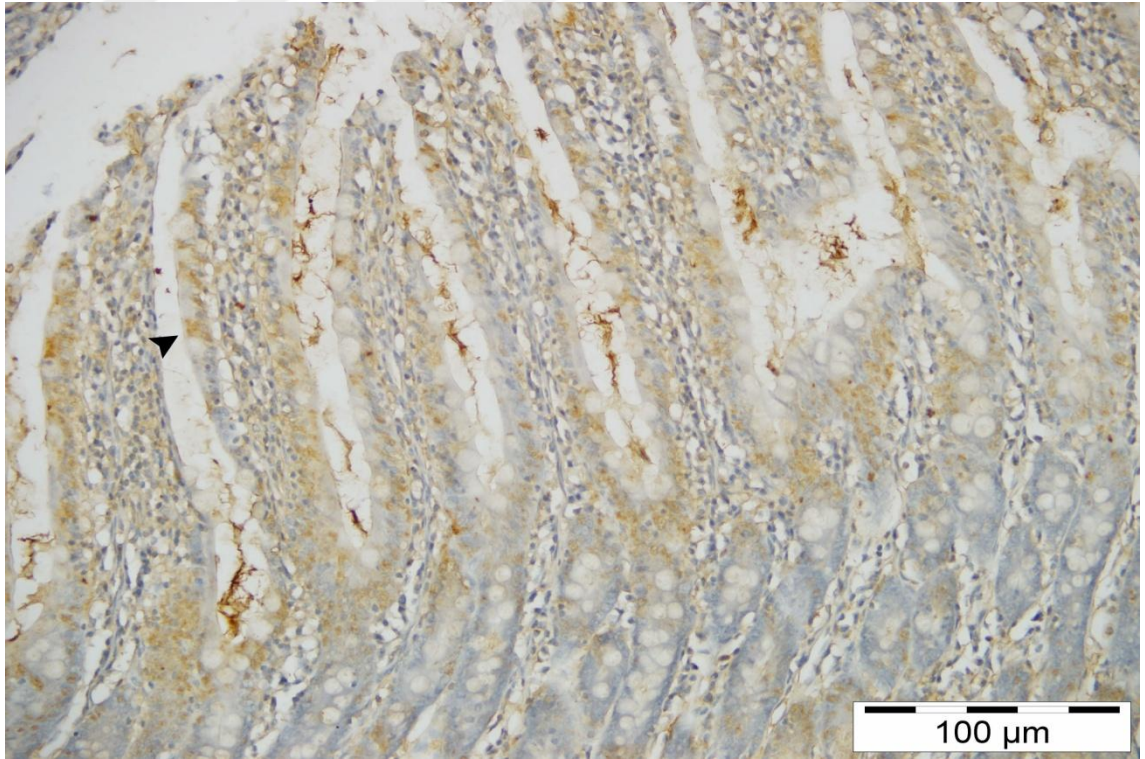
Resim 31: Sham grubu ileum'da motilin immünoreaktivitesi.



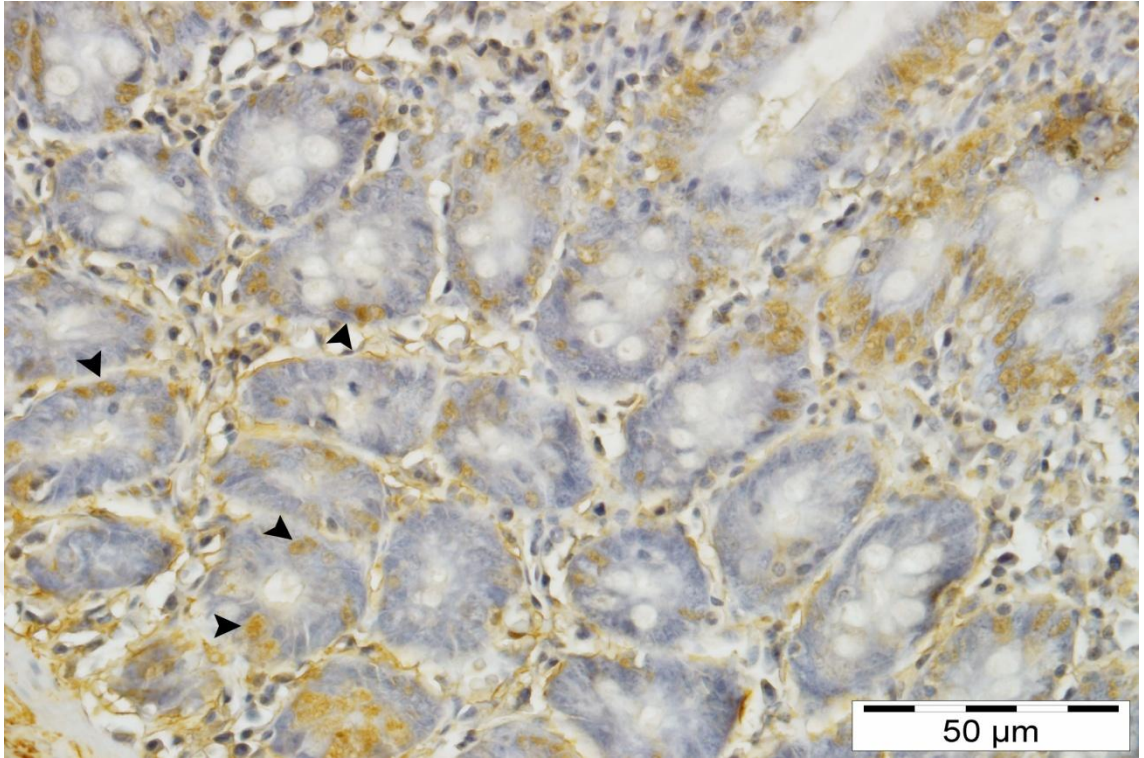
Resim 32: Melatonin grubu ileum'da motilin immünoreaktivitesi.



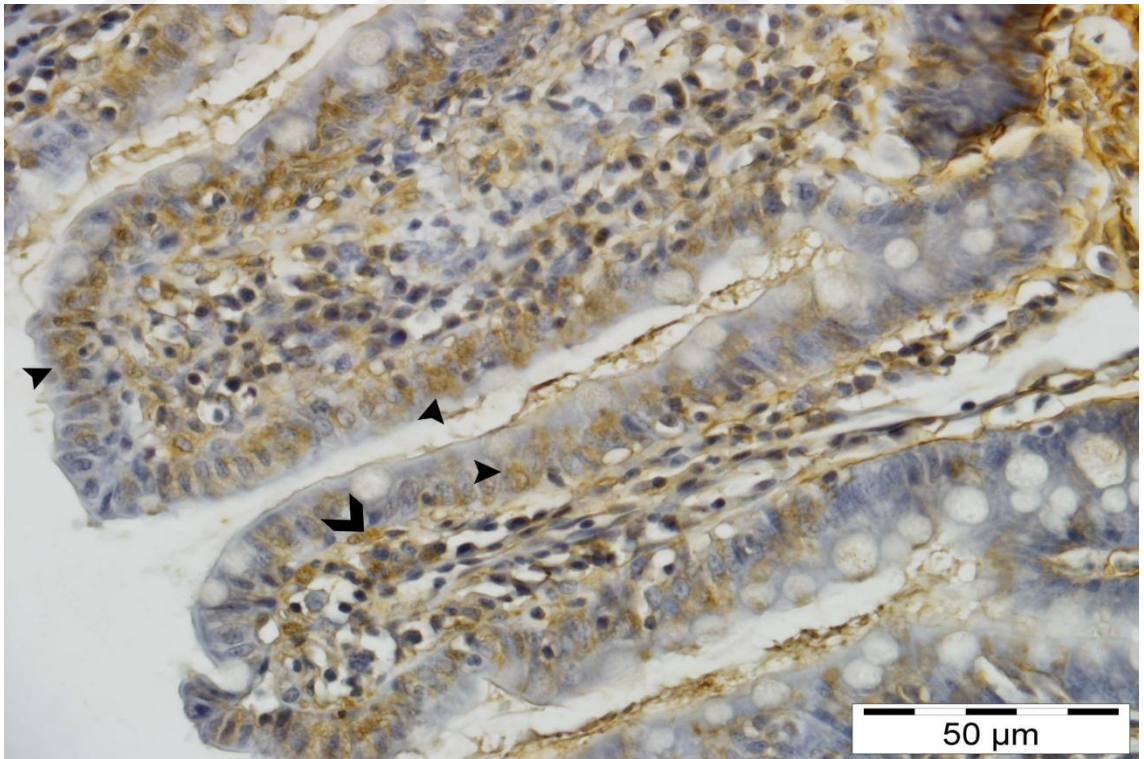
Resim 33: Kontrol grubu ileum'da motilin immünoreaktivitesi. **Ok:** Submukoza. **Kalın Ok:** Lamina Epitelyalis **İnce Ok:** Kriptler **Ok Başı:** Tunika Mukozda **Kuyruksuz Ok:** Tunika Seroza



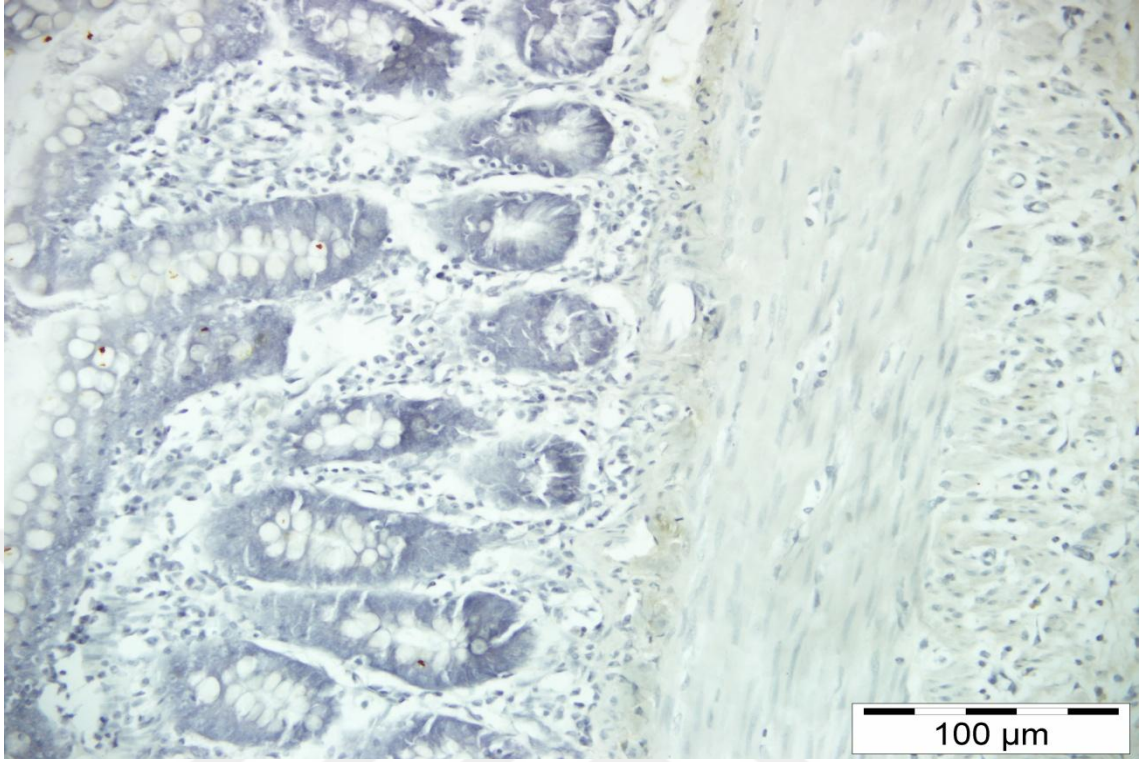
Resim 34: Melatonin grubu ileum'da motilin immünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Motilin immünopozitif hücreler.



Resim 35: Kontrol grubu ileum'da motilin immünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Kriptlerde kapalı tip motilin immünopozitif hücreler.



Resim 36: Melatonin grubu ileum'da motilin immünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Lamina epitelyaliste açık tip motilin immünopozitif hücre. **Kuyruksuz ok:** Lamina propria'da motilin immünopozitif hücreler.



Resim 37: Negatif kontrol İncebağırsakta.

4.4.2. Ghrelin'nin İmmünohistokimyasal Bulguları

Ghrelin için yapılan immünohistokimyasal incelemede kontrol, sham ve melatonin gruplarının incebağırsak doku örneklerinin -'den ++++'e kadar değişen değerlerde reaksiyon yoğunluğu belirlenmiştir. Bu reaksiyon yoğunlukları tablo 9'da gösterilmiştir.

Duodenumda ghrelin immünoreaktivitesi lamina propria katmanında belirgin olarak görüldü (Resim 42,44). Lamina epitelyalisteki lümenle komşu prizmatik epitel hücrelerinde zayıf bir reaksiyon belirlendi. Ghrelin üreten hücreler prizmatik, yuvarlak ve üçgen şeklinde tespit edildi (Resim 44). Duodenumun villus epitelindeki ghrelin immünoreaktivitesi kriptlere göre daha fazla miktarda gözlemlendi. Her üç grupta da Goblet hücrelerinde immünoreaktivite tespit edilmedi. Kriptler arasındaki bağ dokuda bazı hücrelerde ghrelin immünoreaktivitesi gözlemlendi (Resim 40,42). Epitel hücrelerinin bazılarında ise reaksiyon olmadığı gözlemlendi. Lamina propria katmanının bağ doku hücrelerinde ghrelin immünoreaktivitesi yoğun bir şekilde görüldü (Resim 42,43). Lamina propriyadaki ghrelin immünoreaktivitesi lamina epitelyalisten daha fazla şekilde gözlemlendi. Epitel hücrelerinin ghrelin immünoreaktivitesinin kontrol, sham ve deneme gruplarında genel olarak sitoplazmik tarzda fazla olduğu gözlemlenirken çok az hücrede hem stoplazmik hemde nükleer reaksiyon gözlemlendi. Lamina muskularis katmanında ghrelin immünoreaktivitesi belirlenmedi. Submukoza tabakasının bağ dokusunda ghrelin immünoreaktivitesi yoğun olarak tespit edildi (Resim 40). Brunner bezlerinde ghrelin immünoreaktivitesi belirlenmedi (Resim 45). Tunika muskularis ve tunika seroza katmanında ise ghrelin immünoreaktivitesi gözlenmedi (Resim 41). Duodenumda; kontrol, sham ve melatonin grupları arasındaki yoğunluk farkı istatistiki açıdan önemli olmasada kontrol ve sham gruplarında reaksiyon yoğunluğu benzer ve yüksek iken, melatonin grubunda ghrelin reaksiyon yoğunluğunun azaldığı belirlendi.

Jejunumda ghrelin immünoreaktivitesi lamina epitelyalis katmanında belirgin olarak gözlemlendi (Resim 51,53). Ghrelin immünoreaktivitesi villusların epitel dokusunda özellikle apikal kısmında açık hücre tipi belirgin şekilde görüldü (Resim 49,51). Jejunumdaki hücreler lümenle temas halinde prizmatik epitel hücreler şeklindeydi. (Resim 53). Ghrelin üreten hücreler prizmatik, yuvarlak ve üçgen şeklinde gözlemlendi (Resim 52,53). Villus epitelindeki ghrelin immünoreaktivitesi kriptlere oranla daha

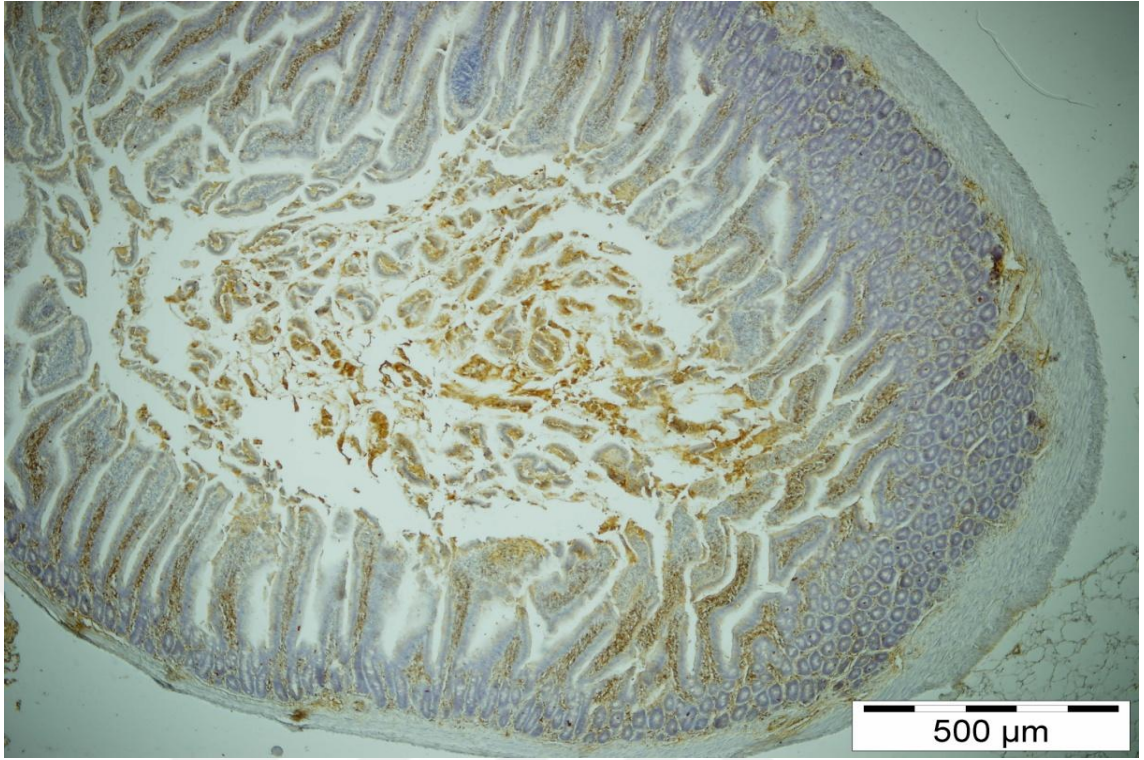
fazla miktarda gözlemlendi (Resim 48,50). Her üç grupta da Goblet hücrelerinde immünoreaktivitenin olmadığı tespit edildi. Kriptler arasındaki bağ dokudaki bazı hücrelerde ghrelin immünoreaktivitesi gözlemlendi (Resim 48,52). Tunika mukoza katmanının kriptlerindeki ghrelin immünoreaktivitesi gösteren hücreler kapalı tipte gözlemlendi (Resim 52,53). Lamina propriadaki ghrelin immünoreaktivitesi lamina epitelyalisten daha fazla belirlendi. Lamina epitelyalisteki ghrelin immünoreaktivitesinin yoğunluğu kript epitelindeki ghrelin immünoreaktivitesinin yoğunluğuna göre daha fazla tespit edildi (Resim 48,50). Bazı epitel hücrelerinde ise ghrelin immünoreaktivitesinin olmadığı gözlemlendi. Epitel hücrelerinin ghrelin immünoreaktivitesinin kontrol, sham ve deneme gruplarında genel olarak sitoplazmik tarzda fazla olduğu gözlemlenirken çok az hücrede hem stoplazmik hemde nükleer tarzda reaksiyon gözlemlendi (Resim 53). Lamina muskularis katmanında ghrelin immünoreaktivitesi belirlenmedi. Submukoza tabakasının bağ dokusunda ghrelin immünoreaktivitesi yoğun olarak belirlendi. Tunika muskularis ve tunika seroza katmanında ise ghrelin immünoreaktivitesi gözlemlenmedi (Resim 46,48,50). Jejunumdakidaki gruplar arasındaki yoğunluk farkı istatistikî açıdan önemli olmasada kontrol ve sham gruplarında reaksiyon yoğunluğu benzer ve yüksek iken, melatonin grubunda reaksiyon yoğunluğunun azaldığı saptandı. Jejunumdaki ghrelin reaksiyon yoğunluğu duodenuma göre daha azaldığı tespit edildi.

İleumda ghrelin immünoreaktivitesi lamina epitelyalis ve lamina propriada belirgin olarak saptandı (Resim 56,60). İleumdaki hücreler lümenle tek tek temas halinde olan prizmatik epitel hücreler şeklindeydi (Resim 60). Ghrelin immünoreaktif hücreler prizmatik, yuvarlak ve üçgen şeklinde gözlemlendi (Resim 60,61). Goblet hücrelerinde her üç grupta motilin immünoreaktivitenin olmadığı tespit edildi. Kriptler arasındaki bağ doku bölgesinde ghrelin immünoreaktivitesi gözlemlenmiştir (Resim 56,57). Ghrelin immünoreaktivitesi gösteren hücreler villus intestinalislerde açık, kriptlerde ise kapalı tipte gözlemlendi (Resim 60). Lamina epitelyalisteki ghrelin immünoreaktivitesi kript epitelindeki ghrelin immünoreaktivitesine göre daha fazla saptandı (Resim 56,60). Bazı epitel hücrelerinde ise reaksiyon gözlemlenmedi. Lamina propria katmanının bağ doku hücrelerinde ghrelin immünoreaktivitesi yoğun bir şekilde görüldü. Lamina propriadaki ghrelin immünoreaktivitesi lamina epitelyalise oranda daha fazla miktarda gözlemlendi (Resim 56,57). Epitel hücrelerinin ghrelin immünoreaktivitesinin kontrol, sham ve

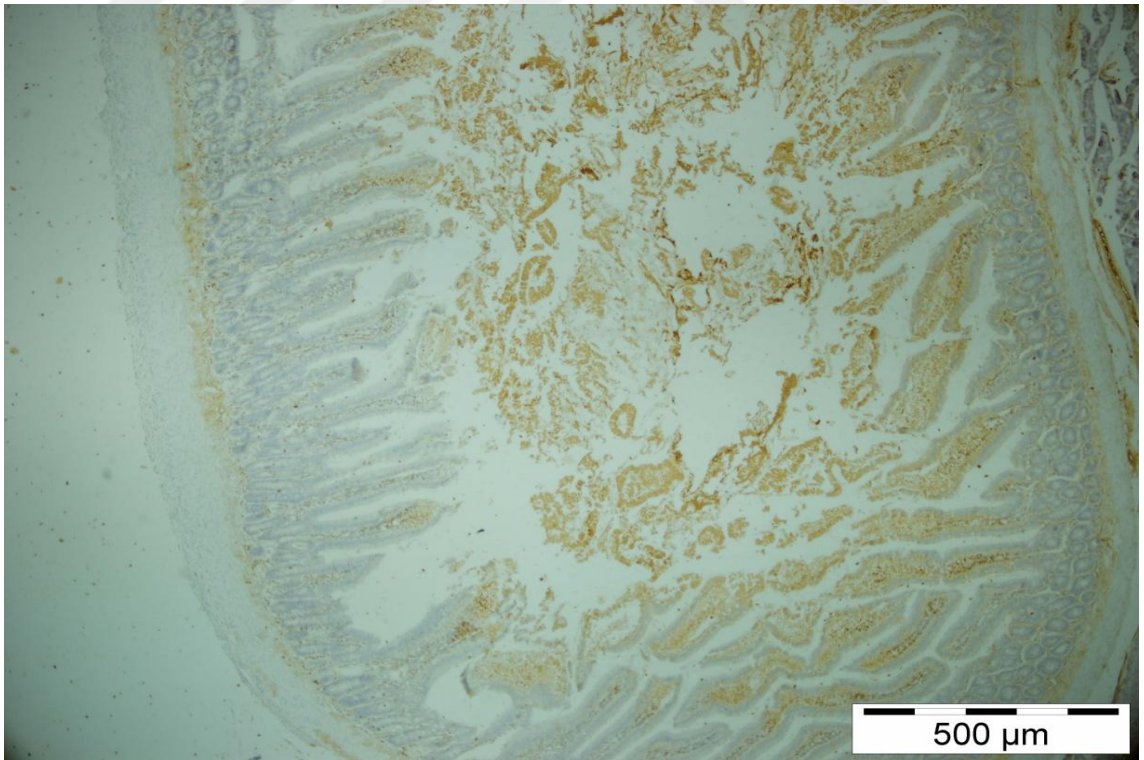
deneme gruplarında genel olara sitoplazmik tarzda fazla olduğu gözlemlenirken çok az hücrede hem stoplazmik hemde nükleer tarzda reaksiyon gözlemlenmiştir (Resim 60). Lamina muskularis katmanında ghrelin immünoreaktivitesi belirlenmedi. Submukoza tabakasının bağ dokusunda ghrelin immünoreaktivitesi yoğun olarak tespit edildi (Resim 55,56,57). Tunika muskularis ve tunika seroza katmanında ise ghrelin immünoreaktivitesi gözlenmedi (Resim 54,55,56). İleumdaki; kontrol, sham ve melatonin grupları arasındaki yoğunluk farkı istatistikî açıdan önemli olmasada kontrol ve sham gruplarında reaksiyon yoğunluğu benzer ve yüksek iken melatonin grubunda reaksiyon yoğunluğunun azaldığı belirlendi. Ghrelin immünoreaktivitesi tüm gruplar içinde en yüksek duodenumda sonra jejunumda en az ise ileumda belirlendi.

Tablo 9: İncebağırsaktaki ghrelin reaksiyon yoğunluğu. Kontrol, sham ve melatonin grupları arasında ghrelin immünoreaktivitesinin reaksiyon yoğunluğunun istatistikî analizi ($p>0,05$).

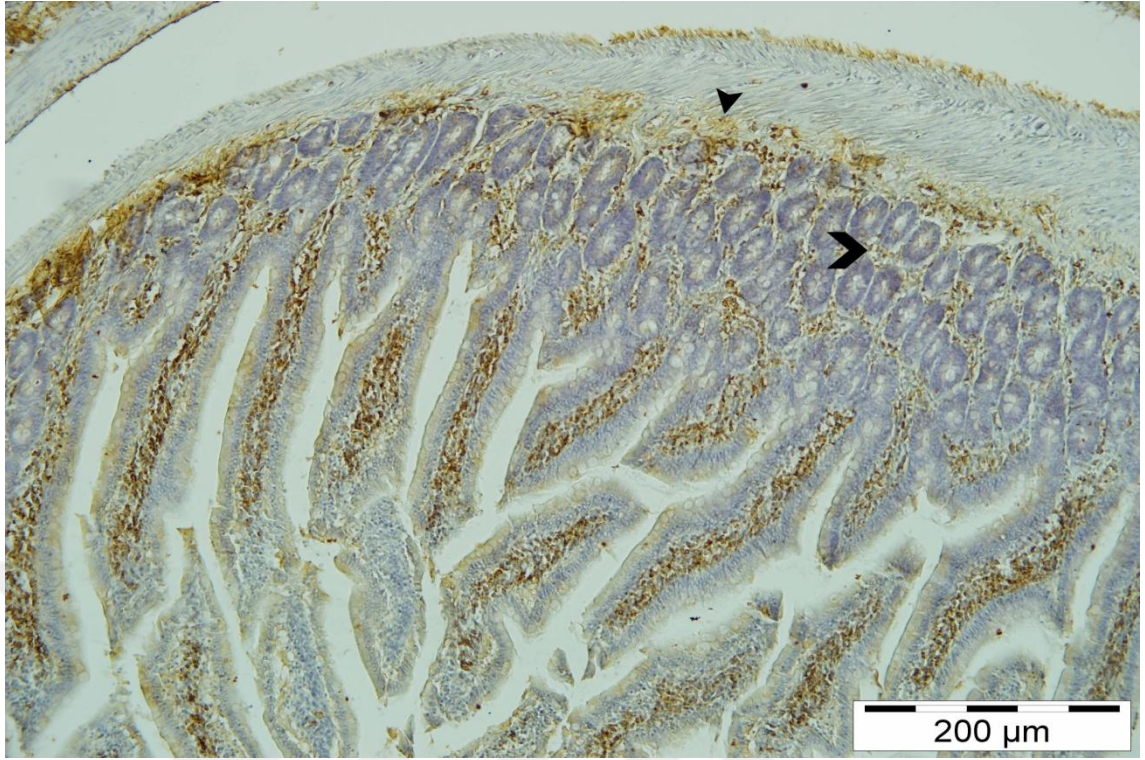
	Kontrol	Sham	Melatonin
Duodenum	++++ ^a	++++ ^a	+++ ^a
Jejunum	+++ ^b	+++ ^b	++ ^b
İleum	++ ^c	++ ^c	+ ^c



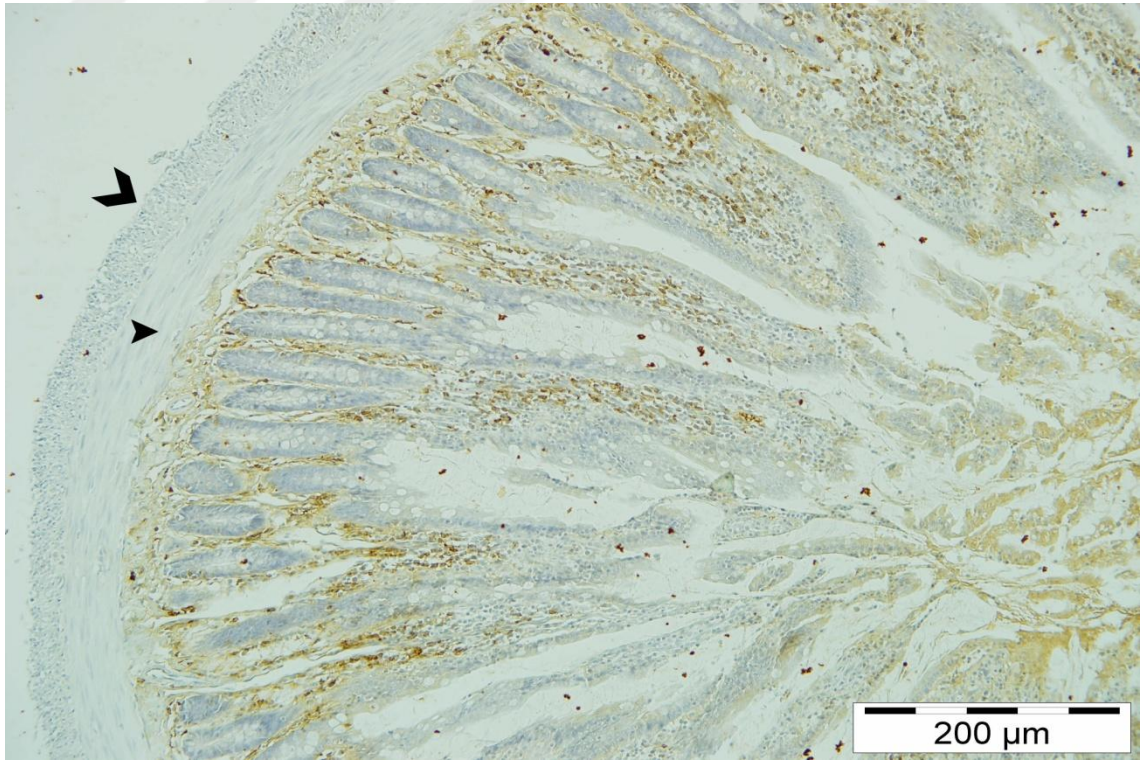
Resim 38: Kontrol grubu duodenum'da ghrelin immünoaktivitesi.



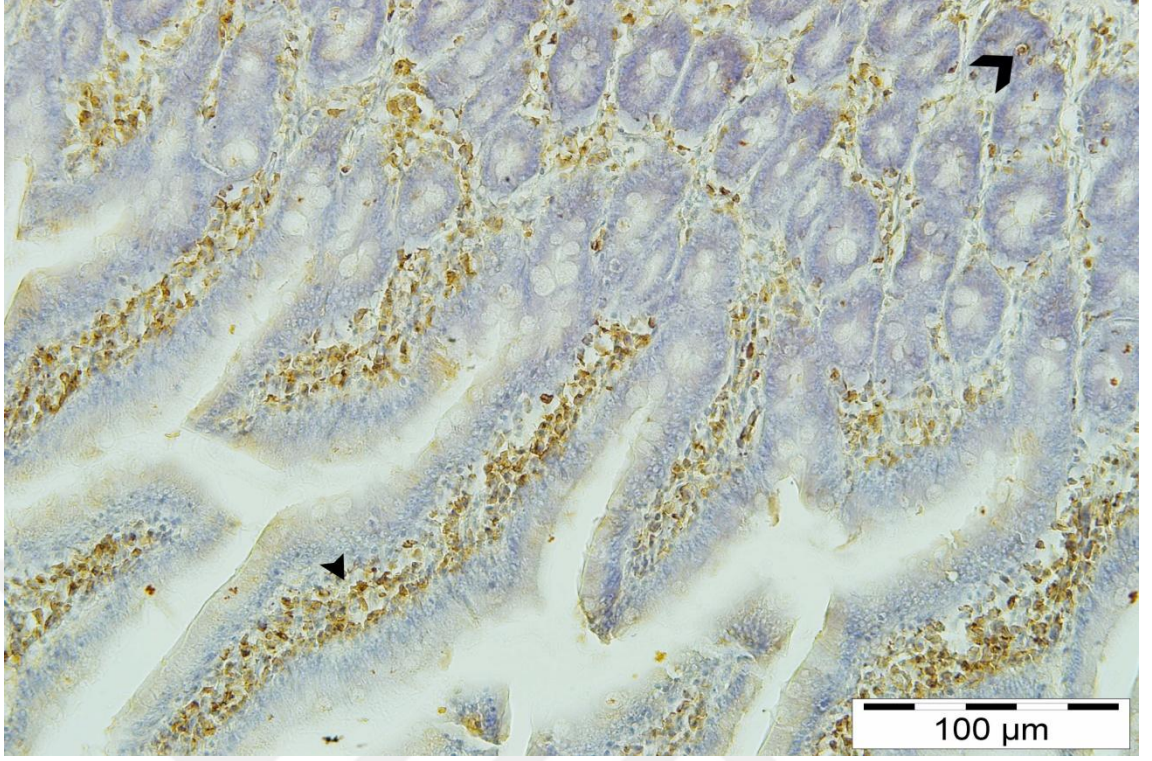
Resim 39: Melatonin grubu duodenum'da ghrelin immünoaktivitesi.



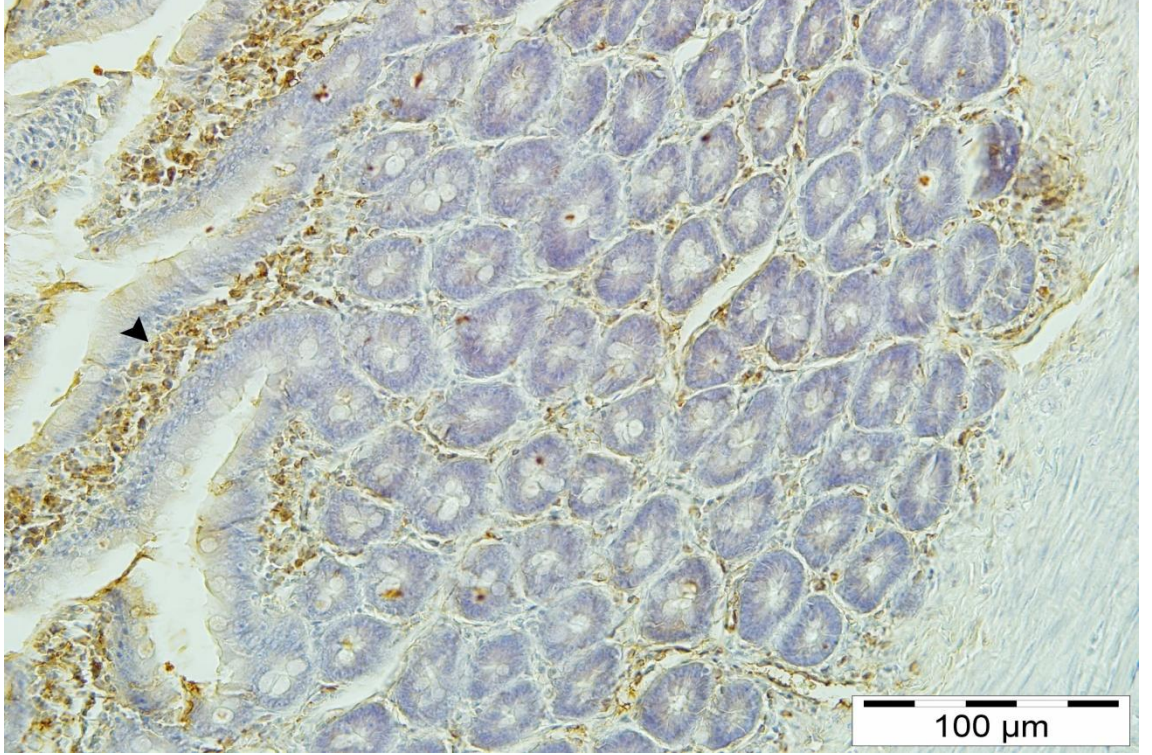
Resim 40: Kontrol grubu duodenum'da ghrelin immünoaktivitesi. **Ok Başı:** Submukozada ghrelin immünoaktivitesi. **Kuyruksuz Ok:** Kript aralarındaki bağ dokuda motilin immünoaktif hücreler.



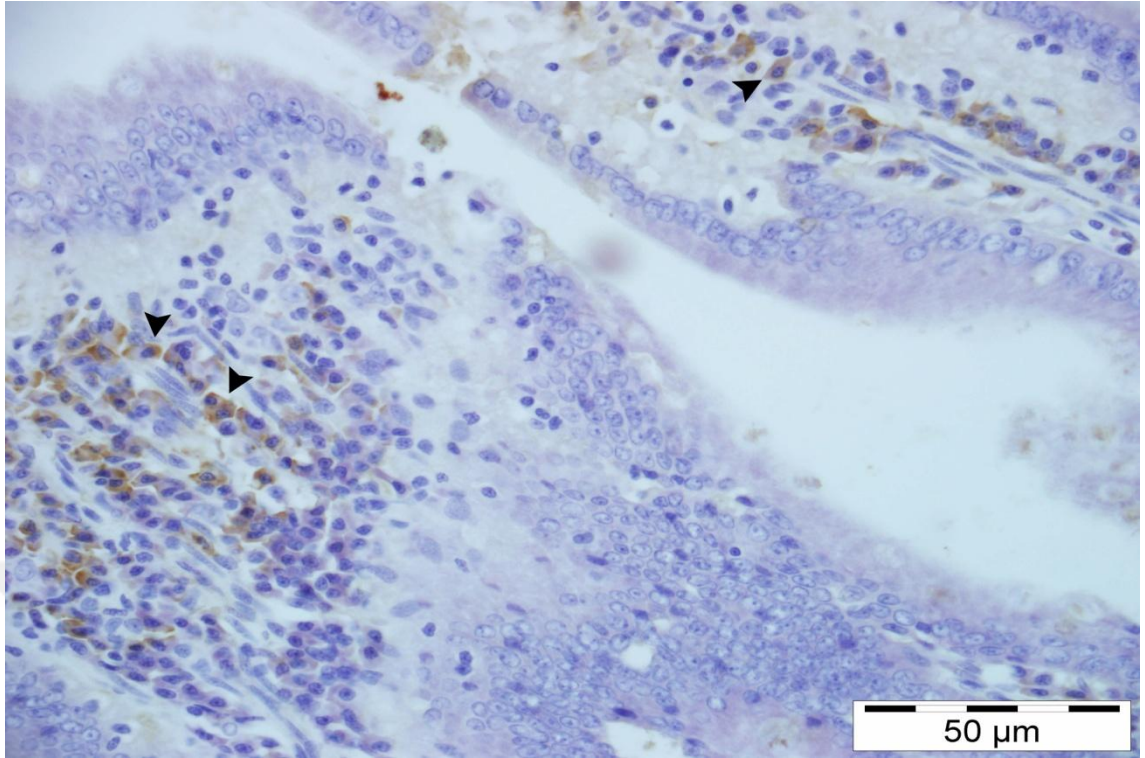
Resim 41: Melatonin grubu duodenum'da ghrelin immünoaktivitesi. **Ok Başı:** Tunika muskulariste ghrelin immünoaktivitesi. **Kuyruksuz Ok:** Tunika serozda ghrelin immünoaktivitesi.



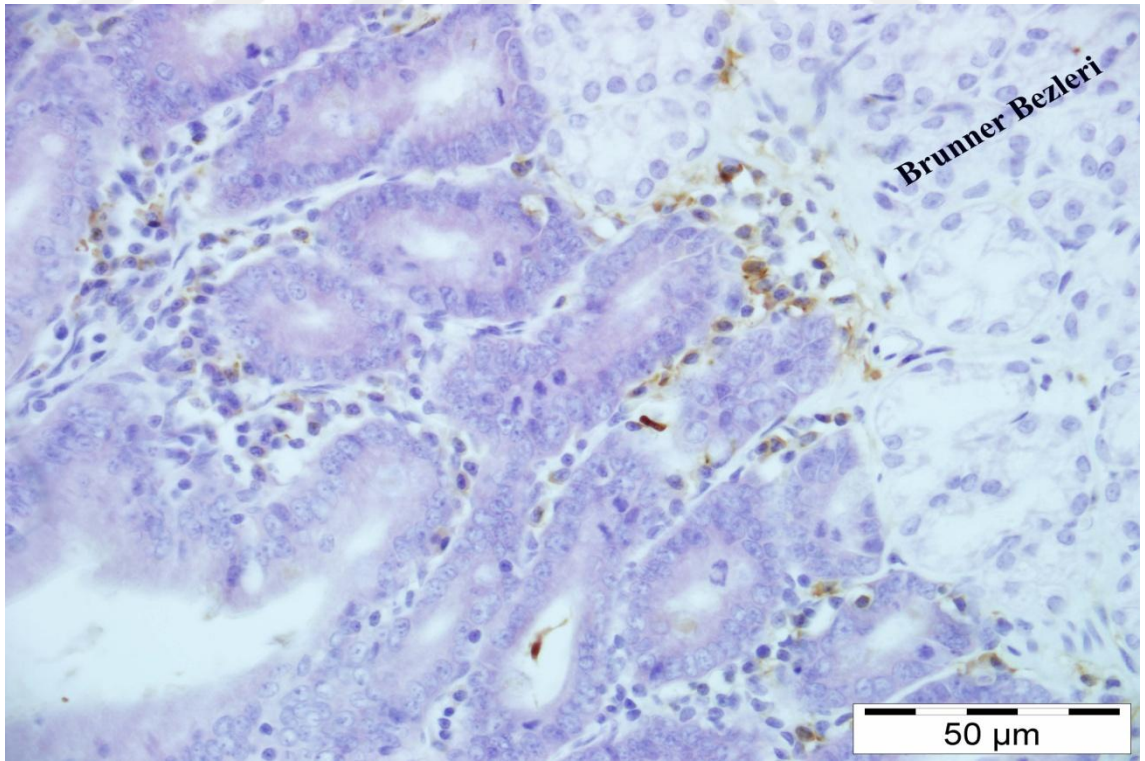
Resim 42: Kontrol grubu duodenum'da ghrelin immünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Lamina propria'da ghrelin immünopozitif hücreler. **Kuyruksuz Ok:** Kriptlerde kapalı tip ghrelin immünopozitif hücreler.



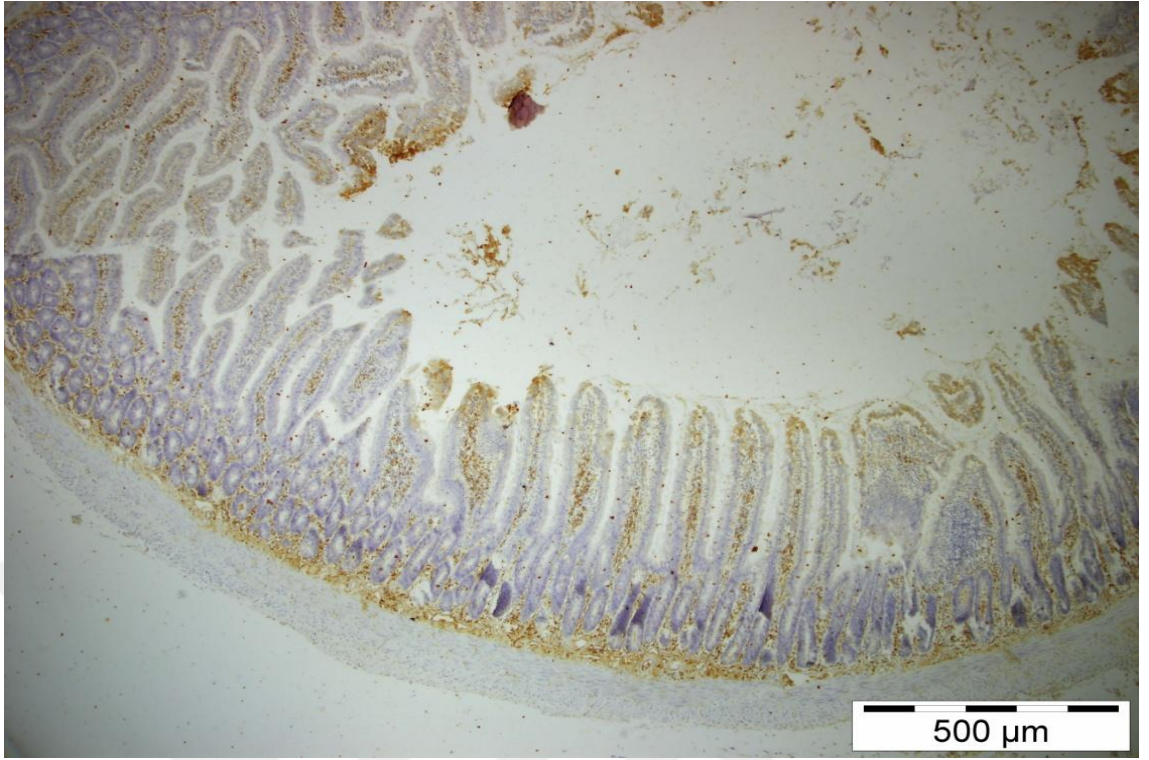
Resim 43: Melatonin grubu duodenum'da ghrelin immünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Lamina propria'da ghrelin immünopozitif hücreler.



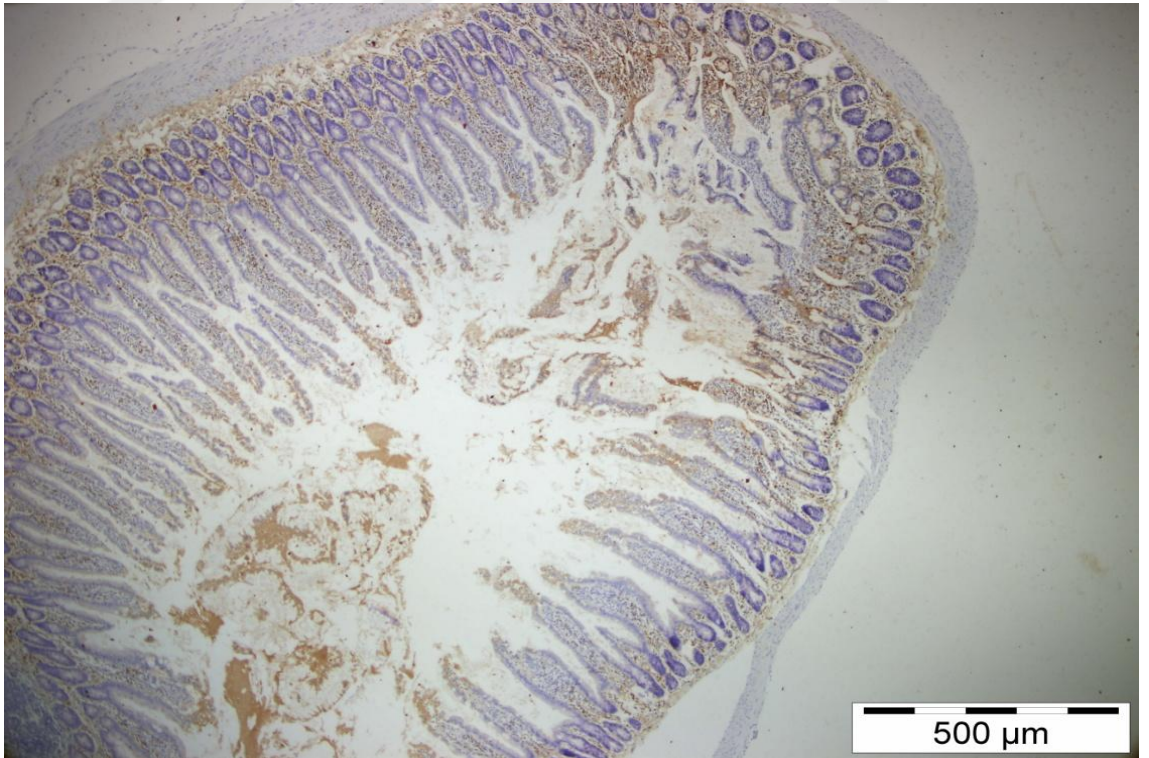
Resim 44: Kontrol grubu duodenum'da ghrelin immünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Lamina propria'da ghrelin immünoreaktif hücreler.



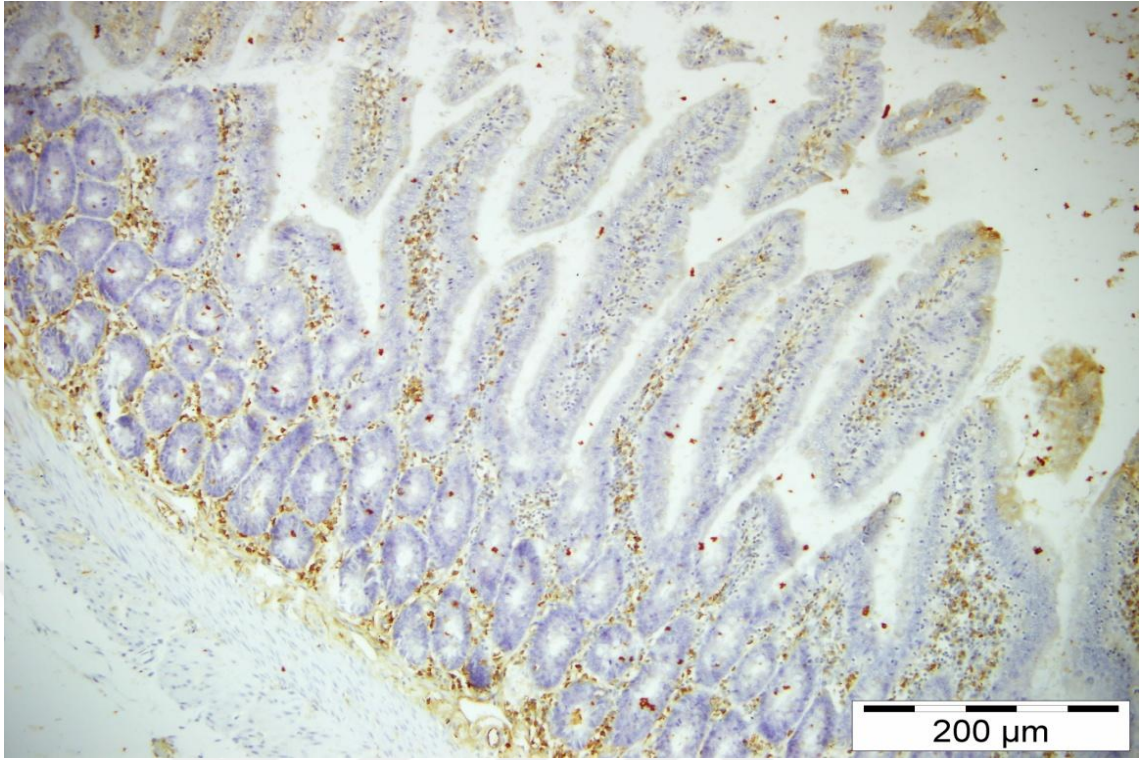
Resim 45: Melatonin grubu duodenum'da ghrelin immünoreaktivitesi.



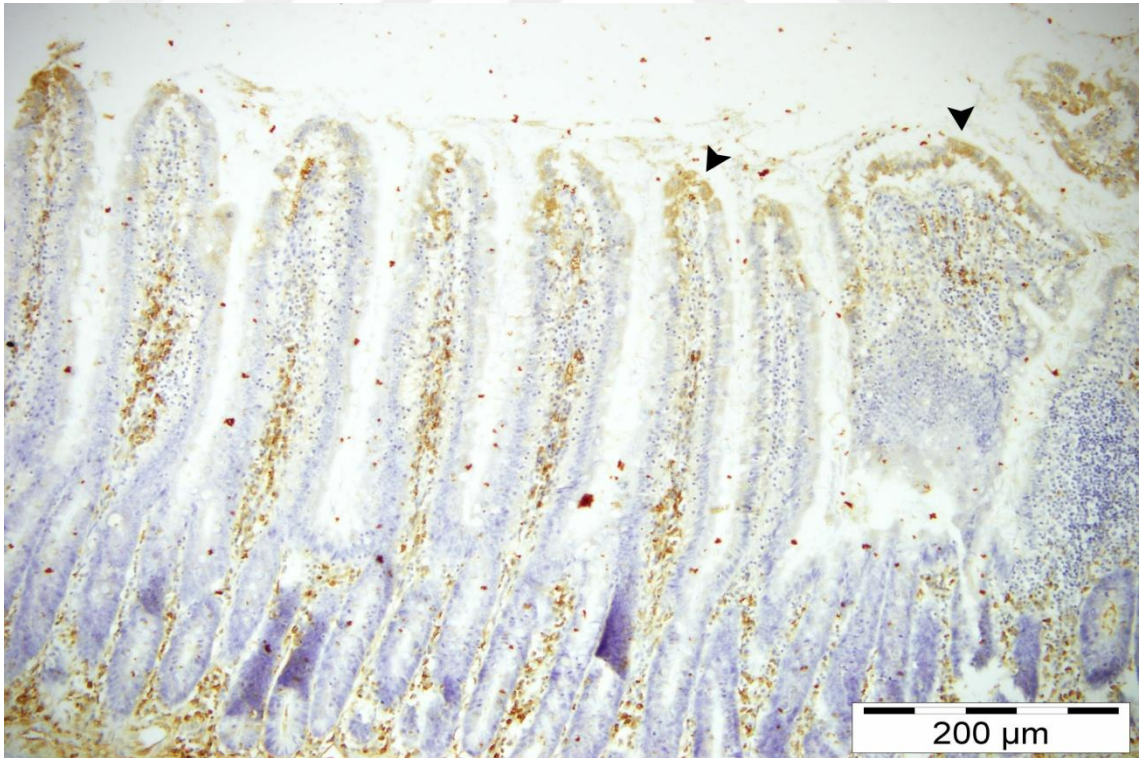
Resim 46: Kontrol grubu jejunum'da ghrelin immünoreaktivitesi.



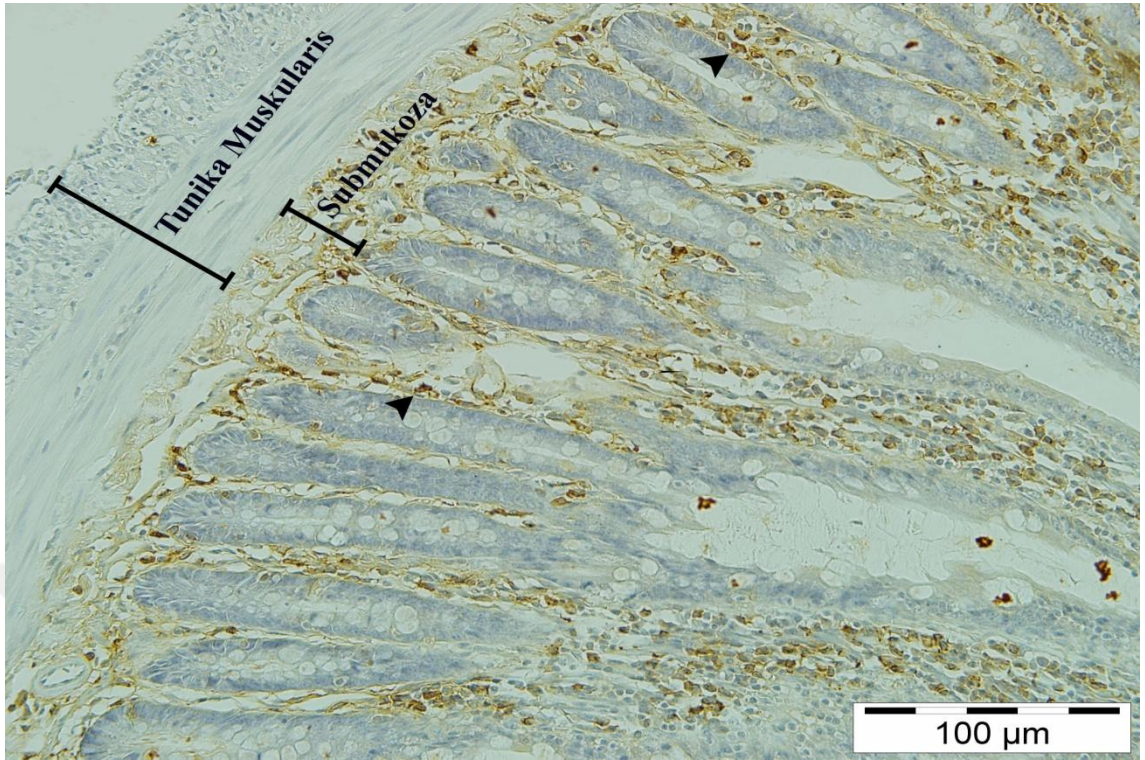
Resim 47: Melatonin grubu jejunum'da ghrelin immünoreaktivitesi.



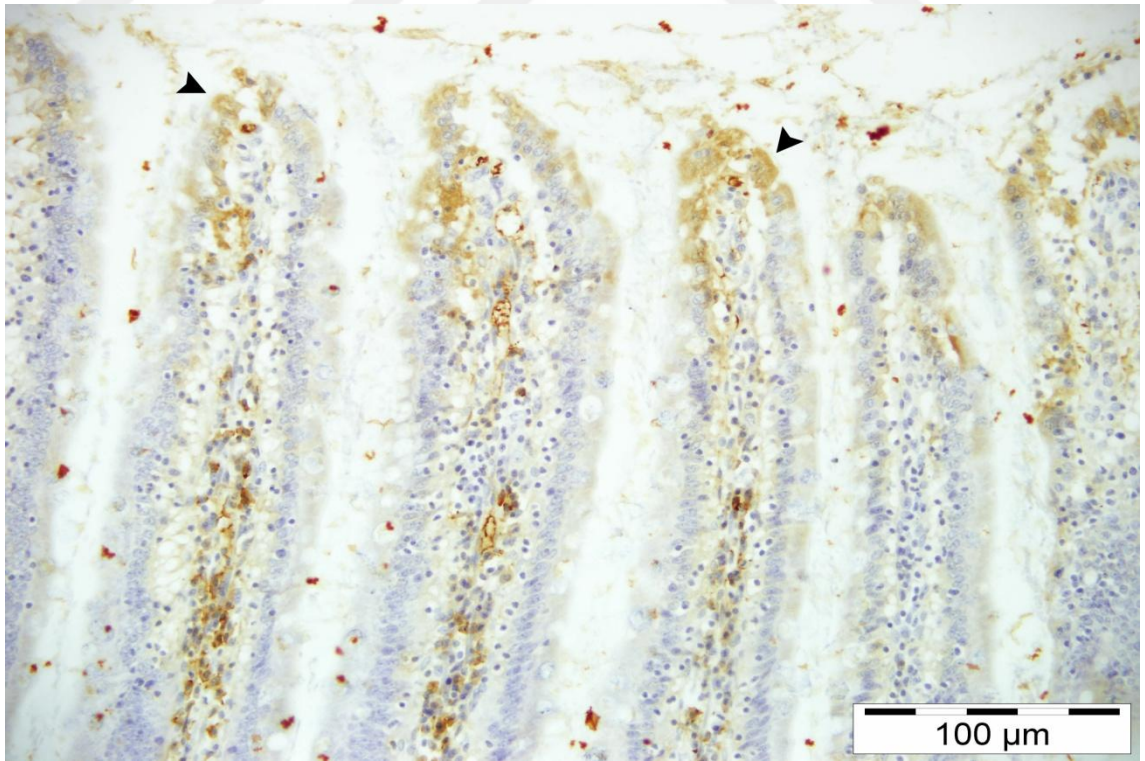
Resim 48: Kontrol grubu jejunum'da ghrelin immünoaktivitesi.



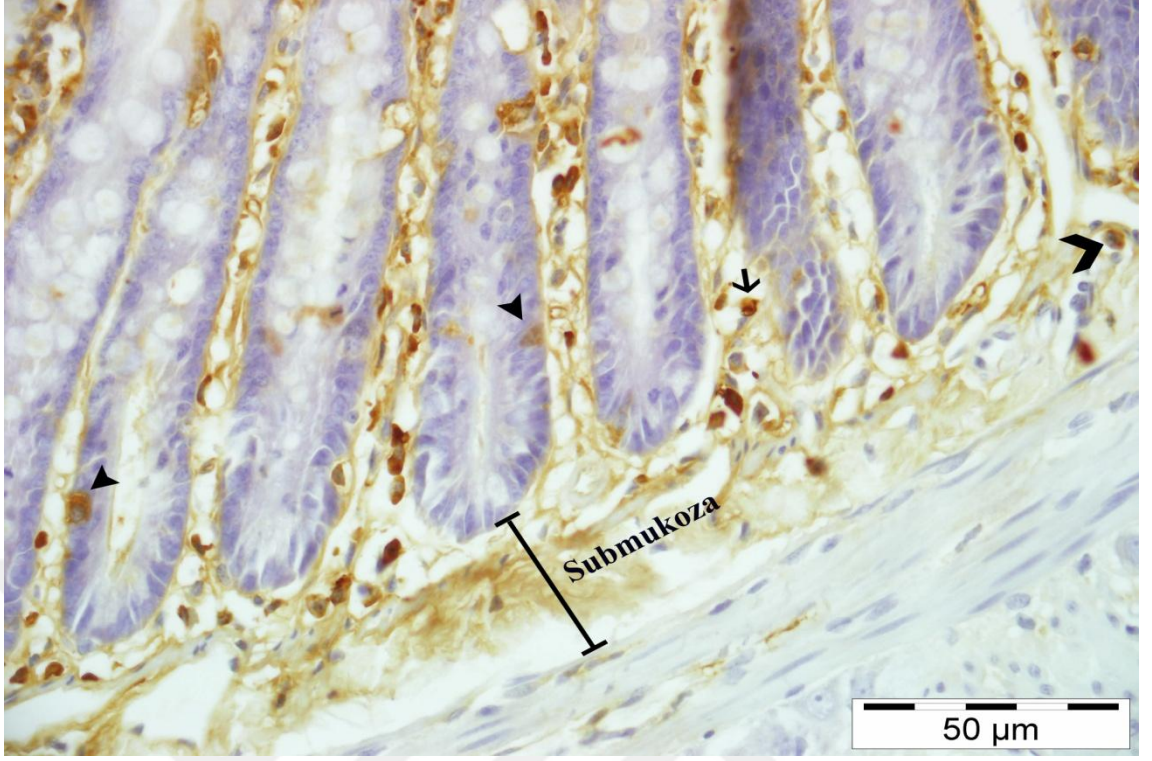
Resim 49: Melatonin grubu jejunum'da ghrelin immünoaktivitesi. **Ok Başı:** Villus intestinalislerde ghrelin immünoaktif hücreler.



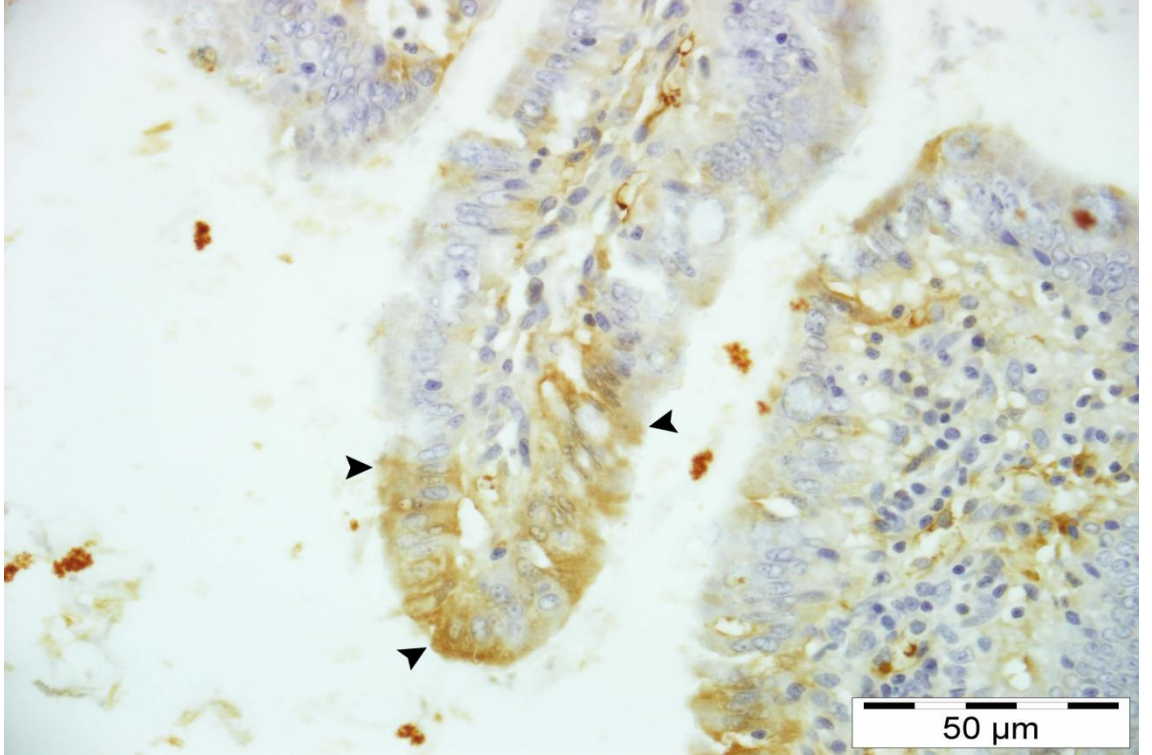
Resim 50: Kontrol grubu jejunum'da ghrelin immünoaktivitesi. **Ok Başı:** Kript aralarındaki bağ dokuda ghrelin immünoaktif hücreler.



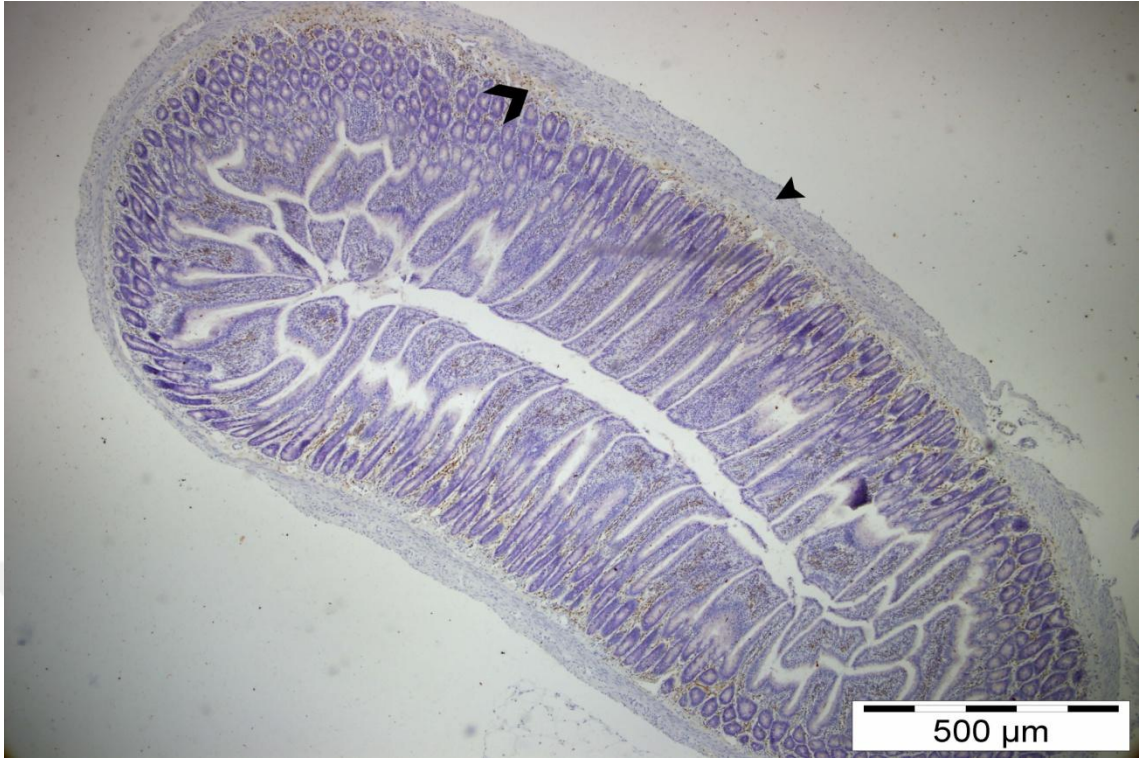
Resim 51: Melatonin grubu jejunum'da ghrelin immünoaktivitesi. **Ok Başı:** Lamina epitelyalis ve villuslarda ghrelin immünoaktif hücreler.



Resim 52: Kontrol grubu jejunum'da ghrelin immünoaktivitesi. **Ok Başı:** Kriptlerde kapalı tip ghrelin immünoaktif hücreler. **Kuyruksuz Ok:** Submukozada ghrelin immünoaktif hücreler. **Ok:** Kriptler arasındaki bağ doku.



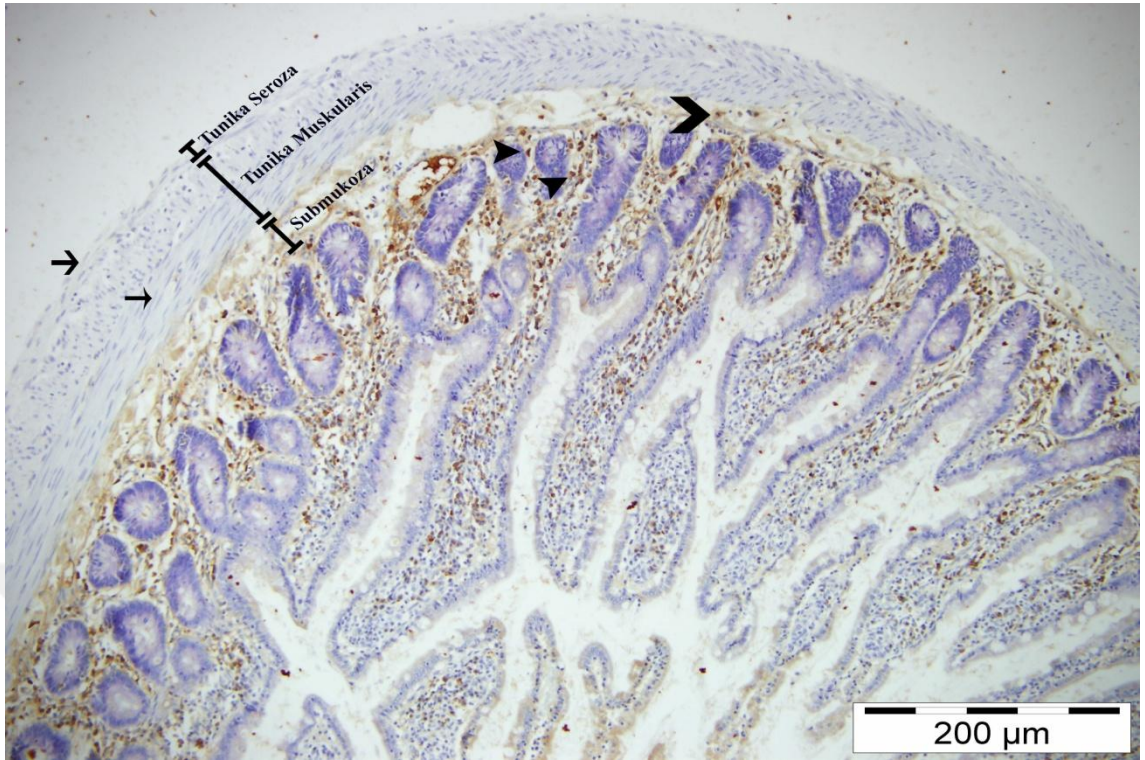
Resim 53: Melatonin grubu jejunum'da ghrelin immünoaktivitesi. **Ok Başı:** Lamina epitelyaliste prizmatik, açık tip ghrelin immünoaktif hücreler.



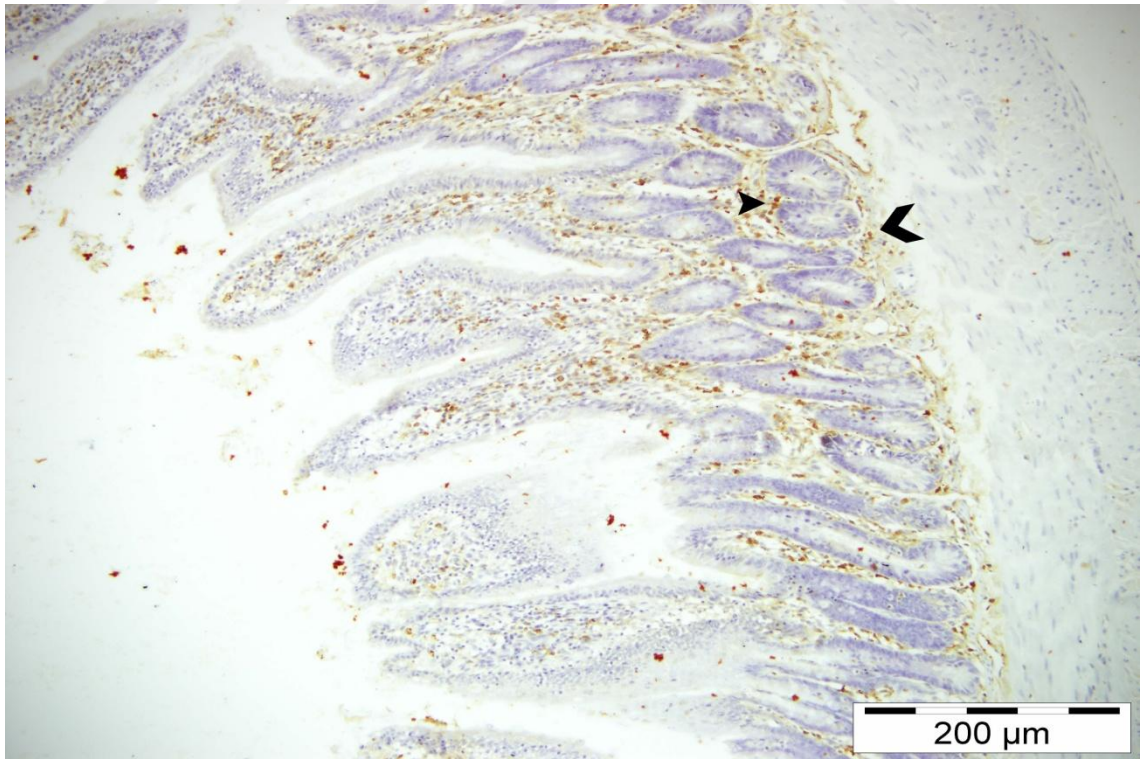
Resim 54: Kontrol grubu ileum'da ghrelin immünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Tunika muskularis **Kuyruksuz ok:** Submukoza.



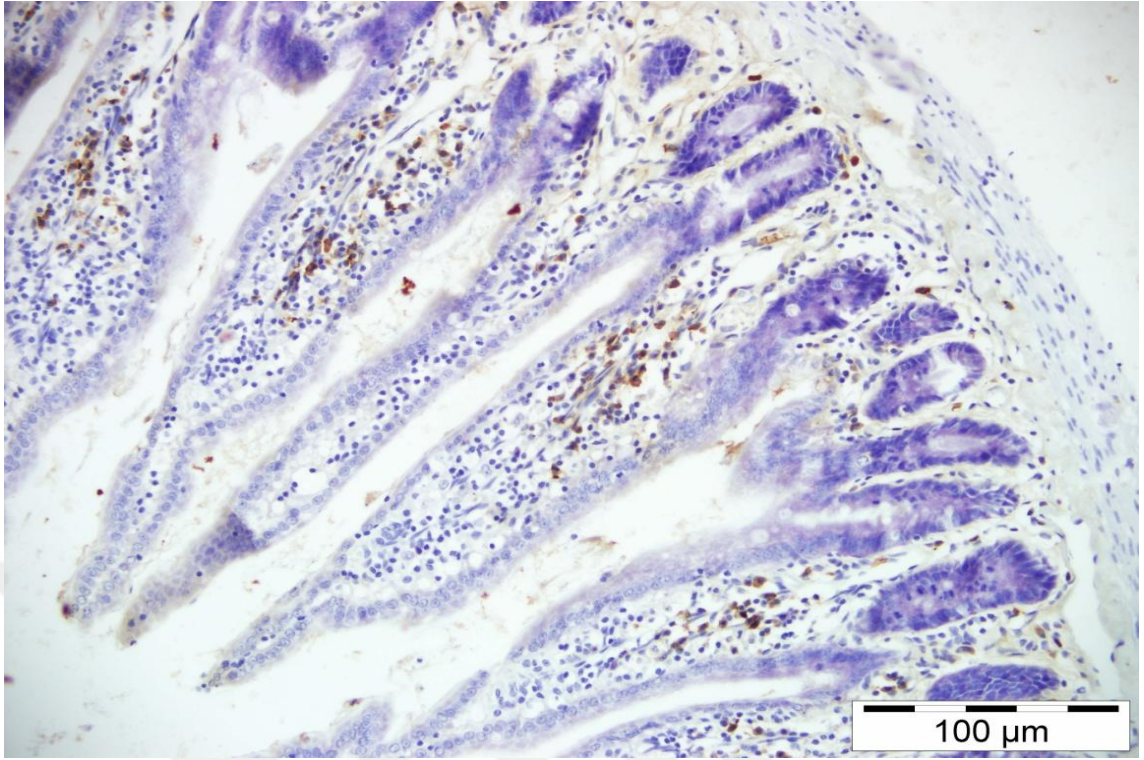
Resim 55: Melatonin grubu ileum'da ghrelin immünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Tunika muskularis **Kuyruksuz ok:** Submukoza.



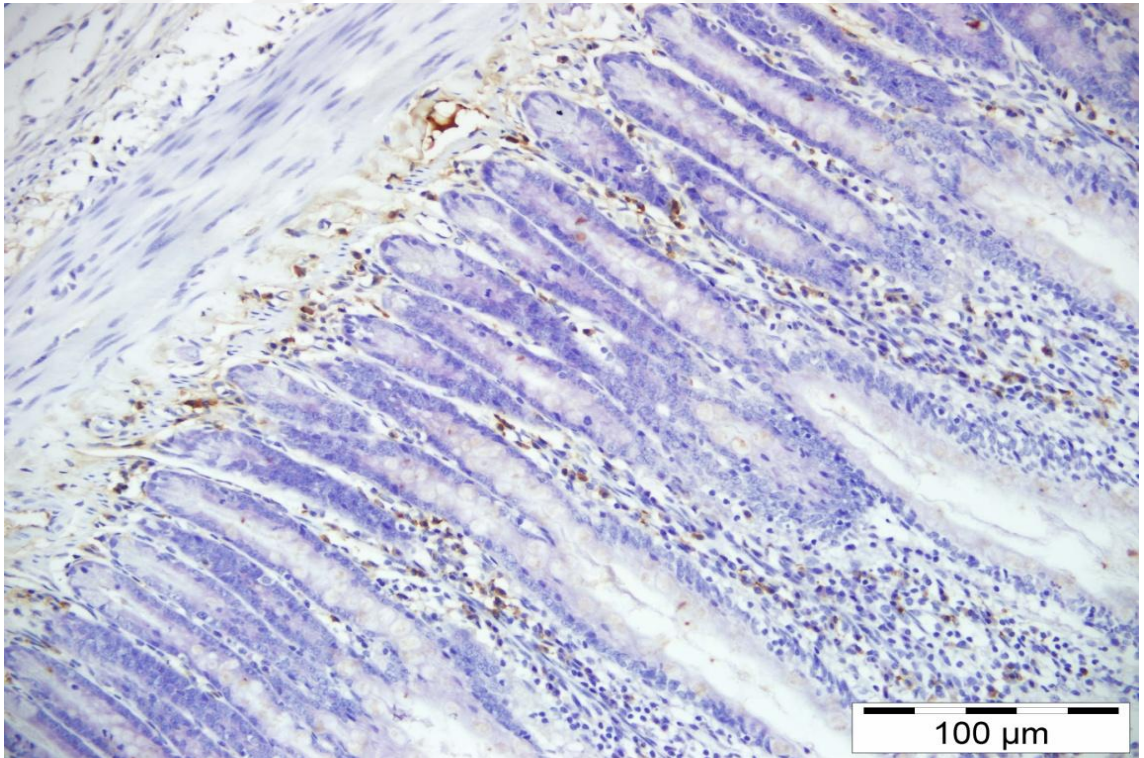
Resim 56: Kontrol grubu ileum'da ghrelin immünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Kript arasındaki bağ doku. **Kuyruksuz Ok:** Submukoza. **İnce Ok:** T.M.'da Ghrelin İR. **Ok:** T.S.'da Ghrelin İR.



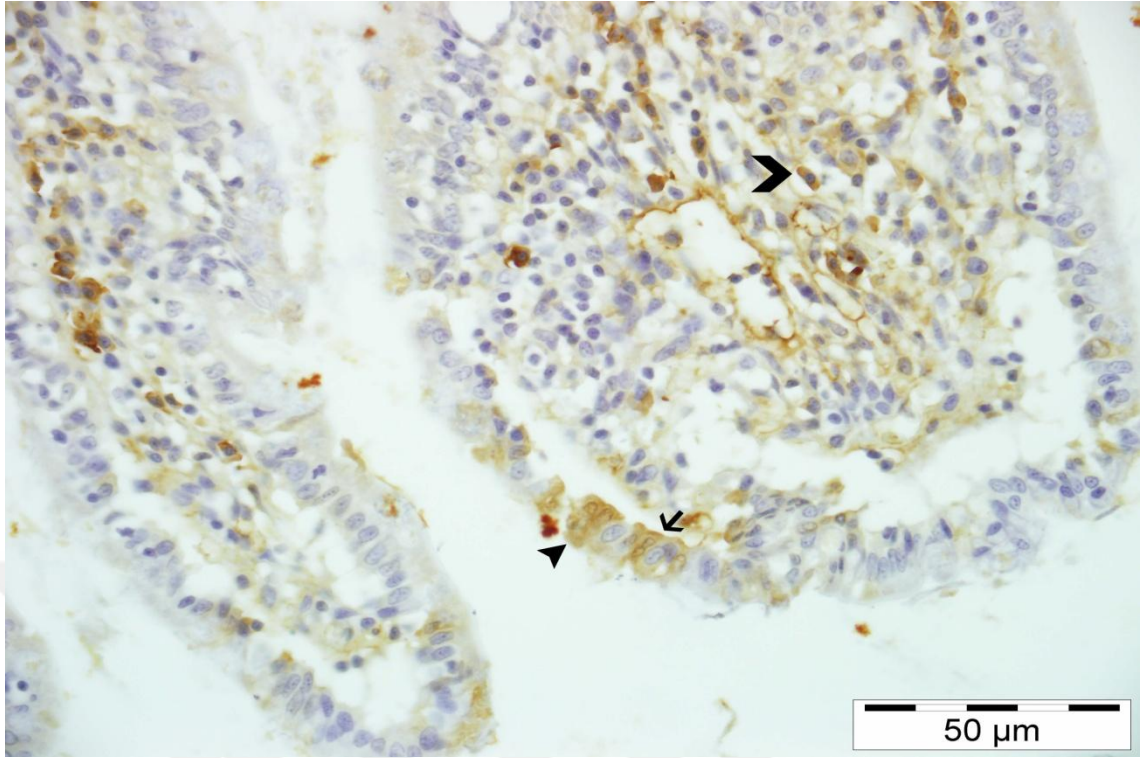
Resim 57: Melatonin grubu ileum'da ghrelin immünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Kriptlerdeki bağ dokuda ghrelin immünoreaktif hücreler. **Kuyruksuz Ok:** Submukozada ghrelin immünoreaktif hücreler.



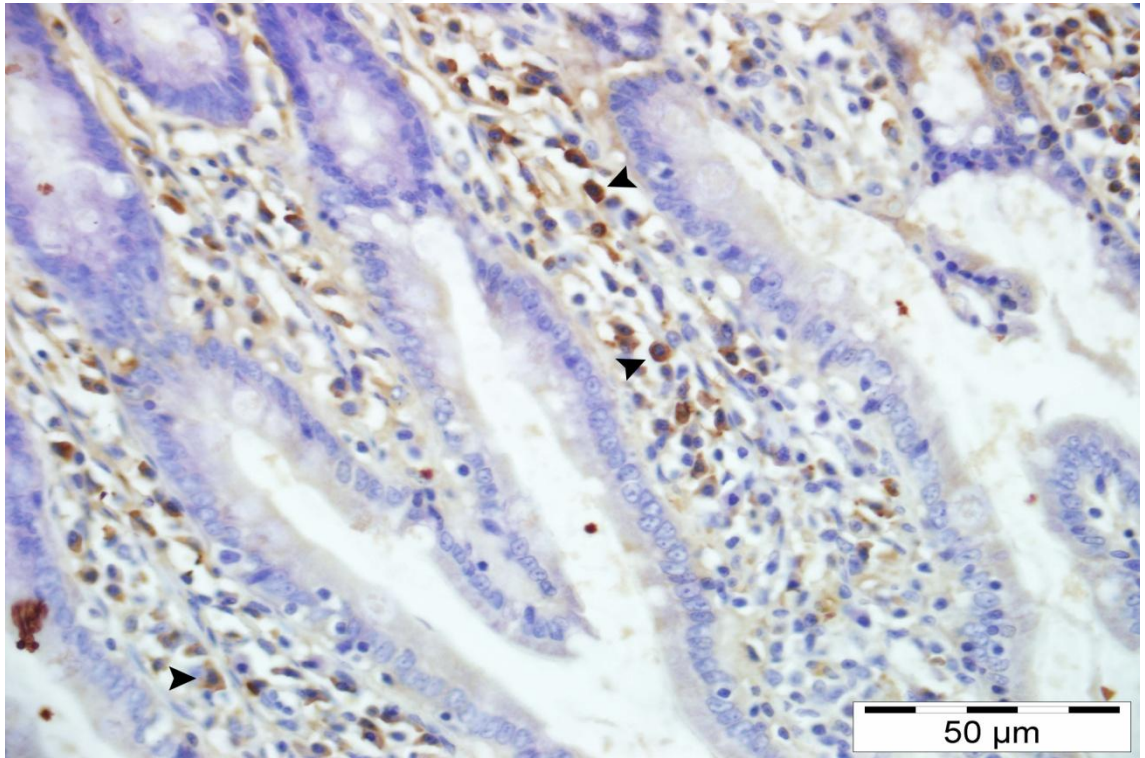
Resim 58: Sham grubu ileum'da ghrelin immünoaktivitesi.



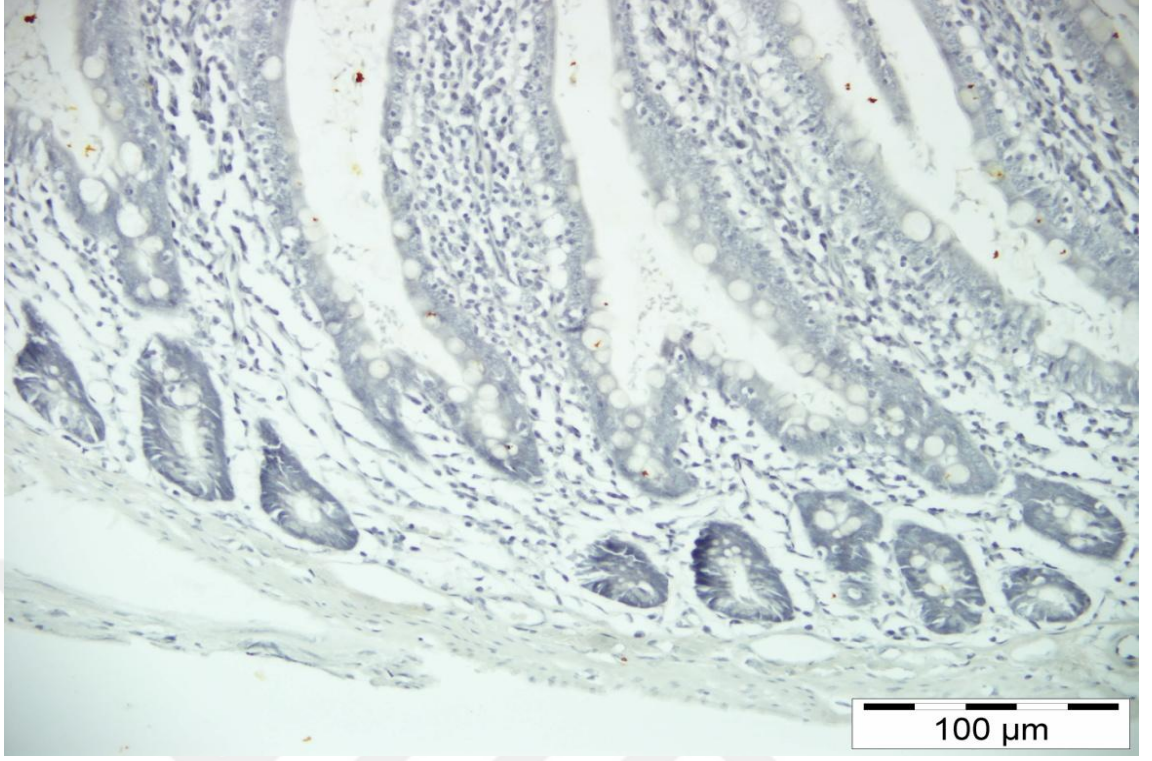
Resim 59: Melatonin grubu ileum'da ghrelin immünoaktivitesi.



Resim 60: Kontrol grubu ileum'da ghrelin immünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Stoplazmik boyama. **Ok:** Açık tip ghrelin immünopozitif hücre. **Kuyruksuz Ok:** Stoplazmik boyama.



Resim 61: Melatonin grubu ileum'da ghrelin immünoreaktivitesi. **Ok Başı:** Lamina propria'da ghrelin immünopozitif hücreler.



Resim 62: Negatif Kontrol İncebağırsakta.

5. TARTIŞMA

Bu araştırmada ratlara uygulanan melatoninin incebağırsaklardaki histolojik, histometrik değişmeler ile motilin ve ghrelinin immünohistokimyasal lokalizasyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

Canlı ağırlıklarla ilgili yapılan çalışmaların bazılarında melatonin uygulamasının canlı ağırlıkları azalttığı (Canpolat ve ark. 2006, Terron ve ark.2013, Wolden-Hanson ve ark. 2000) bazı çalışmalrda ise arttırdığı (Şimşek ve ark. 2012, Cam ve ark. 2003) bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada ortalama canlı ağırlık bakımından melatonin ve sham gruplarının canlı ağırlıklarının azaldığı kontrol grubunda ise canlı ağırlıklarda artış olduğu tespit edildi. Sham grubundaki azalma istatistiki anlamda önemsizken, melatonin grubundaki azalmanın ve kontrol grubundaki artışın istatistiksel düzeyde anlamlı olduğu gözlenmiştir. Melatonin uygulamasının canlı ağırlığı düşürmesi ve bunun sham grubunda da benzerlik göstermesi enjeksiyona bağlı bir durum olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Ratların incebağırsağında alüminyum toksisitesi üzerinde melatoninin rolünü belirlemek amacıyla yapılan çalışmada (Sarıkaya, 2011), melatonin uygulanmış ratların incebağırsak dokusunda histolojik değişikliklerin olmadığını, normal histolojik görünüme sahip incebağırsak yapısı gösterdiğini, kontrol ile melatonin uygulanan grupların incebağırsak dokularında histolojik yapı bakımından bir farklılık gözlenmediği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada, kontrol, sham ve melatonin grubuna ait incebağırsak dokuları normal histolojik yapıda izlendi. İnce bağırsaklardaki tunika mukoza, tunika muskularis ve tunika seroza yapıları literatüre (Ross ve Pawlina 2011) paralel olarak izlendi. İncebağırsak tunika mukozasında; lamina epitelyalis, lamina propria, lamina muskularis, submukoza ile lamina propriadaki glandula intestinalisler saptandı. Duodenumda Brunner bezleride normal yapıda gözlemlendi. İleumda lamina propriaya yayılmış lenf folikülleri görüldü. Melatonin, kontrol ve sham grupları arasında histolojik bulgularda literatürlerden (Gülmez 2008) farklı bir yapı gözlenmedi.

Güçlü ve ark. (2014) melatoninin rat gastrointestinal sistemdeki mitotik aktivite üzerine yaptıkları çalışmada melatoninin, bağırsak uzunluğu ve ağırlığını arttırdığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda bağırsak ağırlığı ve uzunluğu ölçülmediği için tam

bir paralellik kurulamadı. Ancak villus uzunluğunun ve eninin melatonin grubunda artmış olması açısından benzer etkide olabileceğini düşünmekteyiz.

Yapılan bir araştırmada (İpek 2015) diyabet oluşturulmuş ratlarda melatonin uygulanmasının duodenum üzerindeki etkisi morfolojik olarak incelenmiştir. Bu çalışma (İpek 2015), diyabet oluşturulmamış ratlarda melatonin grubunda villus uzunluğunun, villus eninin ve kript derinliğinin kontrol grubuna göre daha kısa bulunduğunu bildirmiştir. Bizim çalışmamız ise duodenumda; melatonin uygulamasının bu çalışmanın(İpek 2015) aksine villus uzunluğu ve villus enini arttırdığı göstermiştir. Kript derinliği açısından gruplar arasında önemli bir fark istatistiğe yansımada da melatonin grubunda kript derinliğinin arttığı belirlendi. Ayrıca bizim çalışmamızda bu çalışmada (İpek 2015) ölçülmeyen jejunum ve ileumdaki villus uzunluğu, villus eni ve kript derinliği ölçüldü. Melatoninin jejunumda sadece villus uzunluğunu arttırdığı, ileumda ise bir değişmeye yol açmadığı görüldü.

Melatonin uygulanmasının ratların incebağırsağında villus uzunlukları ve toplam mukoza kalınlıklarını arttırdığı bildirilmiştir (Akbaba ve ark. (2012). Çalışmamızda da melatonin uygulamasının villus uzunluğunu ve enini arttırdığını gözlemledik.

Bunların dışında yapılan çalışmalarda; melatoninin ratlarda bağırsak yaralanmalarına karşı koruyucu etkisinin olduğu (Fernandez 2017, Al-Ghoul 2010), bağırsaklarda antioksidan enzimlerin artmasına,ve yaraların iyileşmesine neden olduğu (Tunç 2010), bağırsak dokusunda gelişen hasarı antioksidan seviyesini arttırarak bağırsak dokusunu hasardan koruduğu (Akçay 2017), ratların gastrointestinal kanalında kasılma ve gevşetici etkilerinin olduğu ratlarda melatoninin düşük dozu bağırsak çalışmasını hızlandırırken yüksek dozu bağırsakların çalışmasını yavaşlatıcı etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Storr 1986, Harlow 1986, Drago 2000).

Çalışmamızda melatonin uygulamasının bağırsaklarda özellikle duodenumda villus enini ve uzunluğunu arttırdığını gözlemledik. Bu durum melatoninin incebağırsakta mitotik aktiviteyi arttırdığını düşündürdü (Güçlü ve ark. (2014)).

İmmünohistokimyasal Değerlendirme

Motilin İmmünoreaktivitesinin Değerlendirilmesi

Rat incebağırsağında yapılan bir çalışmada (Sakai ve ark. 1994) motilin immünoreaktif hücreleri duodenum, jejunum ve ileumun villus ve kript epitellerine dağılmış olarak tespit etmişlerdir. İncebağırsak kriptlerindeki motilin immünoreaktif hücreleri üçgen ve prizmatik şekilde gözlemlemişlerdir. Lamina epitelyalisteki motilin immünoreaktif hücreler lümeneye doğru uzadıkça daralmakta ve bazale doğru genişleyip lamba şeklini almaktadır (Sakai ve ark. 1994). Çalışmamızda da motilin immünoreaktif hücreler duodenum, jejunum ve ileumda tespit edilmiş, bu hücrelerin şekilleri üçgen prizmatik ve lamba şeklinde belirlenmiş ayrıca yapılan çalışmadan farklı olarak kriptlerdeki bazı hücrelerde yuvarlak şekilde de motilin immünoreaktif hücreler belirlenmiştir.

Sakai ve ark. (1994) rat incebağırsağında yaptıkları çalışmada motilin immünoreaktivitesinin yoğunluğunu en yüksek jejunumda sonra duodenumda en az ise ileumda tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da benzer bir sonuca ulaşılmış, reaksiyon yoğunluğu en yüksek jejunumda belirlenirken en düşük ileumda tespit edilmiştir. Sakai ve ark. (1994) ayrıca motilin üreten hücreleri kriptlerde mitotik hücrelerin hemen yanlarında yoğunlaştığını gözlemlerken bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak villuslardaki motilin üreten hücreleri Goblet hücrelerinin çevresinde daha yoğunlaşmış olarak tespit ettik.

Tsutsui ve ark. (2009) asya ev faresinde yaptıkları çalışmada bizim çalışmamıza benzer şekilde incebağırsak mukozasında açık ve kapalı tip motilin immünopozitif hücreleri gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda ise açık tip motilin immünoreaktif hücreleri daha çok lamina epitelyaliste kapalı tip motilin immünoreaktif hücreleri ise kript epiteline daha fazla tespit ettik.

İnsan jejunumunda yapılan bir çalışmada (Ferri ve ark. 1987) tunika epitelyalis dışında da motilin immünoreaktivitesi belirlenmiştir. Reaksiyon özellikle mukoza ve duodenal submukozada gözlenirken duodenumun kaslarında ise daha az miktarda motilin immünoreaktivitesi tespit edilmiştir (Ferri ve ark. 1987). Çalışmamızda da motilin immünoreaktivitesi tunika mukoza katmanının submukoza ve lamina epitelyalis katmanında yüksek düzeyde bulunmuştur. Tunika muskularis katmanında da motilin immünoreaktivitesi tespit ettik.

Wierup ve ark. (2007)'nin insan incebağırsağında yaptığı çalışmada duodenum'dan ileum'a doğru motilin immünoreaktivitesinin giderek azaldığını tespit etmişlerdir. Bizde bu çalışmadan (Wierup ve ark. (2007)) farklı olarak motilin immünoreaktivitesini en yoğun jejunumda sonra duodenumda en az ise ileumda tespit edildi.

Köpeklerde yapılan bir çalışmada İtoh (1990), bizim çalışmamıza paralel şekilde motilin immünoreaktivitesini incebağırsağın epitelinde gözlemlerken epiteldeki hücrelerin bazal kısımlarının daha çok reaksiyon verdiğini söylemişlerdir. Bizim çalışmamızda ise bu çalışmadan farklı olarak lamina propria, submukoza, tunika muskularis ve tunika serozadada reaksiyon gözlenmiştir.

Afrika fillerinin incebağırsağında yapılan bir çalışmada (Van Aswegen ve ark. 1996) motilin immünoreaktivitesini sadece duodenum ve ileum mukozasında ve kriptlerinde az miktarda tespit ederken incebağırsağın diğer kısımlarında reaksiyon gözlememişlerdir. Çalışmamızda ise motilin immünoreaktivitesi en yüksek jejunumda tespit edildi.

Auvijit ve ark. (2016)'nın Japon bildircinlarında motilin hücrelerinin tespiti için yaptıkları çalışmada bizim çalışmamıza benzer şekilde incebağırsağın epiteline dağılmış olarak hücreleri görmüşlerdir ancak çalışmamızdan farklı olarak Mo hücrelerinin en yoğun duodenumda sonra jejunumda en az ise ileumda tespit etmişlerdir.

Timsahlarda yapılan bir çalışmada Yamada ve ark. (1987), motilin immünoreaktif hücrelerin incebağırsağın duodenumdan ileuma doğru gidildikçe sayılarının azaldığını söylemişlerdir. Rat incebağırsağında yaptığımız çalışmada ise incebağırsağın proksimalinden distaline doğru azalan bir immünoreaktivite gözlemlenemedi. En yüksek immünoreaktiviteyi jejunumda en az immünoreaktiviteyi ise ileumda tespit ettik.

Yaptığımız çalışmada rat incebağırsağındaki motilin immünoreaktivitesini (Sakai ve ark. 1994, Ferri ve ark. 1987) bazı çalışmalarla paralel belirlerken bazılarıyla ise (Wierup ve ark. (2007), Aswegen ve ark. (1996), Auvijit ve ark. (2016)) farklı belirledik. Bu farklılığın nedenini ise tür farklılığından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Hayvan türlerine göre motilin immünoreaktivitesinin yoğunluğunun ve reaksiyonun bulunduğu bağırsak katmanlarının değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir (Ferri ve ark. 1987).

Yapılan bir çalışmada melatoninin fare ince bağırsak motilitesi üzerine (Eralp 2009) etkisi incelenmiş, melatoninin çeşitli dozlarda verildiğinde kasılma oranlarında düşüşe yol açtığı bildirilmiştir.

Şentürk (2018) yaptığı çalışmada hipertiroidi oluşturulan ratlarda melatonin uygulamasının bağırsak motilitesi üzerine etkilerini incelemiş, melatonin uygulamasının kontraksiyon yanıtlarını azalttığı belirlenmiştir.

Melatonin uygulamasının bağırsaktaki motilin immünoaktivitesi üzerine etkisini inceleyen herangi bir araştırmaya rastlanmadı. Yaptığımız çalışmada melatoninin motilin immünoaktivitesini genel olarak düşürdüğünü belirledik. Bu konuda immünohistokimyasal bir çalışmaya rastlamadığımız için diğer çalışmalarla karşılaştırdık. Melatoninin bağırsak kontraksiyonunu azaltarak bağırsak motilitesini düşürmesi ile sonuçlanan çalışmalar (Şentürk 2018, Eralp 2009) motilinle ilgili çalışmamızı dolaylı olarakta olsa desteklediğini düşünmekteyiz.

Ghrelin İmmünoaktivitesinin Değerlendirmesi

Date ve ark. (2000)'nin rat incebağırsağında yaptığı çalışmada ghrelin immünoaktivitesinin duodenumdan ileuma doğru giderek azaldığını tespit etmişlerdir. İmmünoaktiviteyi hücrelerin bazal kısımlarında daha yoğun şekilde gözlemlemişlerdir. Yaptığımız çalışmada ise Date ve ark.(2000) çalışmasına paralel olarak ghrelin immünoaktivitesinin duodenumdan ileuma doğru azaldığının immünopozitif hücrelerde reaksiyonun bazal kısmında daha yoğunlaştığını tespit ettik.

Janiuk ve ark. (2016)'nın rat incebağırsağında yaptığı çalışmada ghrelin immünoaktif hücreleri bizim çalışmamıza paralel olarak bağırsağın mukozasında tespit etmişlerdir. Ghrelin immünopozitif hücreleri uzun yada üçgen şeklinde belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda ise bu hücre şekillerine ek olarak yuvarlak immünoaktif hücrelerde görülmüştür. Duodenum, jejunum ve ileumda ghrelin immünopozitif hücreler diğer epitel hücrelerinin arasına tek tek dağılmış olarak bulunması (Janiuk ve ark. (2016)) bizim çalışmamızda da gözlenen bulgulardandı. Ghrelin immünopozitif hücrelerin duodenumdan ileuma doğru gidildikçe sayılarının azalmasıda bizim çalışmamıza paralellik göstermektedir.

Sakata ve ark. (2002)'nin rat incebağırında yaptığı çalışmada ghrelin immünopozitif hücreleri incebağır sak mukozasında villus ve kript epitellerinde açık ve kapalı tip olarak tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da villus epitellerinde açık tip, kript epitellerinde kapalı tip hücreler belirlenmiştir. Çalışmamızda ise bu çalışmadan farklı olarak submukoza ve lamina propriada da ghrelin immünoreaktivitesi gözlemlenmiştir.

Bianchini ve ark. (2012)'nin rat ta yaptığı çalışmada ghrelin immünopozitif hücreleri duodenumda sadece epitel ve kriptlerde gözlemlerken bizim çalışmamız buna ek olarak submukoza ve lamina propriada da ghrelin immünopozitif hücreleri tespit edilmiştir.

İnsan incebağırında yapılan bir çalışmada (Grönberg ve ark. 2008) ghrelin immünoreaktif hücreleri duodenumdan ileuma doğru giderek azalan bir şekilde tespit etmişlerdir. Özellikler incebağır sak kripterinde bizim çalışmamıza paralel şekilde önemli sayıda ghrelin immünoreaktif hücre tespit etmişlerdir. Duodenumdaki Brunner bezlerinde ise çok az sayıda ghrelin immünoreaktif hücre tespiti yapmışlardır. Bizim çalışmamızda ise bu çalışmadan (Grönberg ve ark. 2008) farklı olarak duodenumdaki Brunner bezlerinde ghrelin immünoreaktivitesi gözlenmemiştir.

Rat incebağırında yapılan bir çalışmada Zhao ve ark. (2008)'nin açıl ghrelini daha çok hücrenin stoplazmasında des açıl ghrelini ise hücrenin çekirdeğine lokalize olduğunu söylemiştir. Çalışmamızda açıl ghrelin kullandığımız için ghrelin immünopozitif hücrelerin daha çok stoplazmik boyama yaptıklarını gözlemledik. Ayrıca bizim çalışmamıza paralel olarak ghrelin immünoreaktivitesinin duodenumdan ileuma doğru giderek azaldığını söylemişlerdir. Ghrelin immünopozitif hücreleri açık ve kapalı tipte tespit etmeleri bizim bulgularımıza paralellik göstermektedir.

Tanaka ve ark. (2005)'nin insan midesinde yaptıkları çalışmada ghrelin immünopozitif hücreleri midede lamina muskularise yakın olan yerde daha yoğun olarak görmüşlerdir. Bizim çalışmamızda ise ghrelin üreten hücreler villusların apikallerinde ve lamina propriada yoğunlaşırken özellikle duodenumda lamina muskularise yakın kısımlarda ghrelin immünoreaktif hücrelerin yoğunlaştığını tespit ettik.

Shao ve ark. (2010)'nin Pekin ördeklerinde yaptıkları çalışmada incebağır saklarda ghrelin immünoreaktif hücreleri tespit edememişlerdir. Mide lamina

propriasında ise çok az ghrelin immünoreaktivitesi gözlemlenmiştir. Bizim çalışmamızda incebağırsak lamina propriasında reaksiyon gözlemlenmiştir.

Wang ve ark. (2009)'nın deve kuşlarında yaptıkları çalışmada doğumdan 90.güne kadar ghrelin immünoreaktif hücreleri takip etmişler ve yaşla beraber ghrelin immünoreaktif hücrelerin arttığını tespit etmişlerdir. İncebağırsağın tüm bölümlerinde ghrelin immünoreaktif hücreleri açık ve kapalı tip olarak belirlemişlerdir. Ghrelin immünoreaktif hücreleri duodenumdan ileuma doğru azalır şekilde tespit etmişlerdir.

Sönmez (2017)'in ratlarda yaptığı çalışmada melatoninin, serumdaki ghrelin düzeyi üzerine baskılayıcı etkisinin olduğunu göstermiştir. İstatistiki anlamda kontrol ve melatonin grupları arasında anlamlı bir fark bulunmasada melatonin grubundaki serum ghrelin düzeyi kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur.

Böbrekte ve karaciğerde melatonin uygulanmasının ghrelin immünoreaktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (Saltan ve Aslan 2017). Ancak çalışmamızda melatonin uygulamasının bağırsaklarda ghrelin immünoreaktivitesinin azalttığı görüldü.

De Pedro ve ark. (2008)'nin balıklar üzerinde yaptıkları çalışmada melatonin uygulamasının dolaşımdaki ghrelin seviyelerinde bir baskılama eğilimi oluşturduğunu tespit etmişlerdir.

Melatonin uygulamasının bağırsaktaki ghrelin immünoreaktivitesi üzerine etkisini inceleyen bir araştırmaya rastlanmasada melatonin uygulamasının serumdaki ghrelin düzeyini düşürmesi (Sönmez 2017), ghrelin seviyelerini baskılaması (De Pedro ve ark. 2008) ile sonuçlanan çalışmalar ghrelinle ilgili çalışmamızı dolaylı olarak destekleyen sonuçlar vermektedir.

6. SONUÇ

Melatoninin, incebağırsakta motilin ve ghrelin immünoreaktivitesi üzerine etkisini inceleyen bir araştırmaya rastlanmadı. Yapılan bu çalışmada melatonin enjekte edilmiş ratların incebağırsak dokularına ait histolojik bulgularımızda melatonin, kontrol ve sham grubu ratların ince bağırsaklarında herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı. Kontrol, sham ve melatonin grupları karşılaştırıldığında ince bağırsağa ait dokularda önemli histolojik farklılık gözlenmedi. Histometrik olarak; duodenumda villus uzunluğu

ve eni için melatonin grubu ile kontrol ve sham grupları arasında anlamlı farklılık görüldü. Jejunumda ise kontrol ve melatonin gruplarında villus uzunluğu bakımından anlamlı bir fark görülürken ileumda gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Melatoninin mitotik aktiviteyi arttırdığını düşünmekteyiz. İmmünohistokimyasal çalışma bulgularımızda ise motilin immünopozitif hücreler Goblet hücrelerine komşu epitellerde daha yoğun olduğu saptandı. Stoplazmik boyamanın çekirdek boyamasına göre daha fazla olduğu tespit edildi. Submukoza, tunika muskularis ve tunika seroza katmanında ise motilin immünoreaktivitesi tespit edildi. Jejunumdaki motilin immünoreaktivitesinin duodenum ve ileumdan daha yoğun bir şekilde gözlemlendi. Motilin immünoreaktivitesi kontrol, sham ve melatonin grubunda en yüksek jejunum sonra duodenumda en az ise ileumda tespit edildi. Melatonin uygulamasının bağırsaklardaki motilin immünoreaktivitesinin azalmasına neden olduğu belirlendi. Ghrelin immünoreaktivitesi genel olarak villus epitelinde kriplere oranda daha fazla miktarda gözlemlendi. Lamina propria katmanında bazı hücrelerde ghrelin immünoreaktivitesi tespit edildi. Submukoza tabakasında ghrelin immünoreaktivitesi çok az miktarda tespit edilirken tunika muskularis ve tunika seroza katmanında ise ghrelin immünoreaktivitesi tespit edilmedi. Ghrelin immünoreaktivitesinin duodenumdan ileuma doğru gidildikçe azaldığı gözlemlendi. Ghrelin immünoreaktivitesinin melatonin uygulanan grupta kontrol grubuna göre azaldığı tespit edildi.

7. ÖNERİLER

İleriye dönük çalışmalarda; bulgularımızı destekleyen elektron mikroskop gibi ultrastrüktürel çalışmalar yapılabilir. Ayrıca in situ hidribizasyon, western blot, RT PCR ve gibi diğer moleküler çalışmalar ile melatoninin diğer enteroendokrin hücrelere etkisini araştıran kantitatif çalışmalar uygulanabilir. Özellikle melatoninin antioksidan etkisi ile ghrelin ve motilin arasındaki ilişkinin farklı yöntemlerle daha ayrıntılı çalışılması gerektiğini düşünmekteyiz.

8. KAYNAKÇA

Akbaba S., Işık S., Özoğul Y., Bostancı E.B., Aydog G., Özdemir M., Atalay F., Akoğlu M.: Effects of melatonin on bacterial translocation in an experimental short bowel syndrome, *African Journal of Microbiology Research* Vol. 6(5), pp. 982-990, 2012.

Akçay G.B.: Streptozotosin İle Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Bağırsak Dokusunda Gelişen Oksidan Hasara Karşı Melatonin Tedavisinin Olası Koruyucu Etkilerinin İncelenmesi, Marmara Üni.,Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul, 2017.

Aksoy Ö.B., Erbaş O.: Physiological effects of melatonin hormone, *FNG & Bilim Tıp Dergisi*;3(1):52-62, 2017.

Al-Ghoul W.M., Abu-Shaqra S., Park B.G., Fazal N.: Melatonin plays a protective role in postburn rodent gut pathophysiology. *Int J Biol Sci.* May 17;6(3):282-93, 2010.

Arendt J.: Melatonin. *Clin Endocrinol*; 29: 205-209, 1988.

Arıncı K., Elhan A.: *Anatomi. 1.Cilt*, Ankara, Güneş Kitap evi. 25-37, 2006.

Ariga H., Tsukamoto K., Chen C., Mantyh C., Pappas T.N., Takahashi T.: "Endogenous acyl ghrelin is involved in mediating spontaneous phase III-like contractions of the rat stomach," *Neurogastroenterology & Motility*, vol. 19, no. 8, pp. 675–680, 2007.

Ariyasu H, Takaya K., Tagami T., Ogawa Y., Hosoda K., Akamizu T., Suda M., Koh T., Natsui K., Toyooka S.: Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 86 4753-4758, 2001.

Asakawa A, Inui A, Kaga T, ve ark.: Ghrelin is an appetitestimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology* 120: 337-45, 2001.

Asakawa A., Inui A., Kaga T.: Ghrelin is an appetitestimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology*, 120: 337-45, 2001.

Assayed ME., Abd El-Aty AM.: Protection of Rat Chromosomes by Melatonin Against Gamma Radiation- Induced Damage. *Mutat Res*; 667: 14-20, 2009.

Auld F., Emily L., Maschauer Ian Morrison, Debra J.Skene Renata L.Riha.: Evidence for the efficacy of melatonin in the treatment of primary adult sleep disorders. *Sleep Medicine Reviews*, 34, 10-22, 2017.

Auvijit S.A., Mondal A., Kitazawa T., Takemi S., Sakai T., Sakata I.: Molecular cloning of motilin and mechanism-induced gastrointestinal motility in japanese guil, general and comparative endocrinology volume 233 pages 53-62, 2016.

Banfield D.K., MacGillivray R.T., Brown J.C., McIntosh C.H.: The isolation and characterization of rabbit motilin precursor cDNA. *Biochim Biophys Acta* 1131 341-344, 1992.

Bechtold D.A., Gibbs J.E., Loudon A.S.I.: Circadian dysfunction in disease. *Trends Pharmacol Sci* 31: 191-198, 2010.

Bianchini M., Teive, Ricardo Fantazzinni Russi, Daniella Serafim Couto Vieira, André Muller Teive, Aline Costa, Armando Jose d'Acampora: Quantitative immunohistochemical analysis of duodenal ghrelin cells after sleeve gastrectomy in Wistar rats, *Acta Cirúrgica Brasileira* - Vol. 27 (9) – 599, 2012.

Bloom W., Fawcett D.W.: *A Textbook of histology*. Twelve edition. Philadelphia, WB Saunders Comp.; 141-56, 1975.

Bourne RS., Mills GH.: Melatonin: possible implications for the postoperative and critically ill patient. *Intensive Care Med*, 32:371-379, 2006.

Bron R., Furness J.B.: Rhythm of digestion: keeping time in the gastrointestinal tract. *Clin Exp Pharmacol Physiol*; 36: 1041-1048, 2009.

Brown J. C., Cook M. A., Dryburgh J. R.: "Motilin, a gastric motor activity stimulating polypeptide: the complete amino acid sequence," *Canadian Journal of Biochemistry*, vol. 51, no. 5, pp. 533-537, 1973.

Brown J. C., Cook M. A., Dryburgh J. R.: "Motilin, a gastric motor activity stimulating polypeptide: the complete amino acid sequence," *Canadian Journal of Biochemistry*, vol. 51, no. 5, pp. 533-537, 1973.

Brown J. C., Dryburgh J. R.: "Discovery of motilin," *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, vol. 39, pp. 15-17, 1976.

Bubenik G.A., Konturek S.J.: Melatonin and aging: prospects for human treatment. *J Physiol Pharmacol*; 62: 13-19, 2011.

Bubenik, G.A., Pang S.F.: The role of serotonin and melatonin in gastrointestinal physiology: ontogeny, regulation of food intake and mutual serotonin-melatonin feedback. *J. Pineal Res.* 16: 91-99, 1994.

Cagnacci A., Kräuchi K., Wirz-Justice A., Volpe A.: Homeostatic versus circadian effects of melatonin on core body temperature in humans. *J Biol Rhythms.*; 12: 509-517, 1997.

Cam M., Yavuz Ö., Güven A., Ercan F., Bukan N., Üstündağ N.: Protective effects of chronic melatonin treatment against renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Pineal Res.* 35: 212-220, 2003.

Canpolat S., Aydin M., Yasar A., Colakoglu N., Yilmaz B., Kelestimur H.: Effects of pinealectomy and exogenous melatonin on immunohistochemical ghrelin staining of arcuate nucleus and serum ghrelin levels in the rat. *Neurosci. Lett.* 410(2): 13-136, 2006.

Canpolat, S., Aydin, M., Yasar A., Çolakoglu N., Yilmaz B., Kelestimur H.: Effects of pinealectomy and exogenous melatonin on immunohistochemical ghrelin staining of arcuate nucleus and serum ghrelin levels in the rat. *Neurosci. Lett.* 410(2): 132-136, 2006.

Cardinali DP., Pévet P.: Basic aspects of melatonin action. *Sleep Med Rev*; 2:175-190, 1998.

Ceranowicz P., Warzecha Z., Dembinski A. ve ark.: Treatment with ghrelin accelerates the healing of acetic acid-induced gastrin and duodenal ulcers in rats. *J Physiol Pharmacol* 60: 87-98, 2009.

Chen C.Y., Tsai C.Y.: *Ghrelin and Motilin in the Gastrointestinal System* Current Pharmaceutical Design, Bentham Science Publishers, 2012.

Chen CY., Doong ML., Chien EJ.: Intracerebroventricular ghrelin enhances non-nutrient semiliquid gastric emptying in fasted conscious rats. *Gastroenterol J Taiwan* 25: 242-8, 2008.

Chen CY., Inui A., Asakawa A.: Des-acyl ghrelin acts by CRF type 2 receptors to disrupt fasted stomach motility in conscious rats. *Gastroenterology*, 129: 8-25, 2005.

Claustrat B., Brun J., Chazot G.: The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Med Rev* 9:11-24, 2005.

Claustrat B., Brun J., Chazot G.: The basic physiology and pathophysiology of melatonin. *Sleep Med Rev*; 9:11-24, 2005.

Cowley M., Smith R., Diano ., Tschop M., Pronchuk N., Grove K., Stasburger C., Bidlingmaier M., Esterman M., Heiman M., Garcia- Segura L., Nilni E., Mendez P., Low M., Sotonyi P., Friedman J., Liu H., Pinto S., Colmers W., Cone R., Horvath T.: The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 37: 649–661, 2003.

Çam A, Erdoğan MF.: Melatonin. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi. Mecmuası*; 56:103-12, 2003.

Date Y., Kojima M., Hosoda H., ve ark.: Ghrelin, a novel growth hormone- releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology*, 141: 4255-61, 2000.

De Clercq P, Depoortere I, Macielag M, Vandermeers A, Vandermeers-Piret MC & Peeters TL 1996 Isolation, sequence, and bioactivity of chicken motilin. *Peptides* 17 203-2008.

De Pedro N., Martinez-Alvarez R.M., Delgado M.J.: Melatonin reduces body weight in goldfish (*Carassius auratus*): effects on metabolic resources and some feeding regulators. *J Pineal res.* 45(1),32-39. 2008.

De Winter BY., De Man JG., Seerden TC.: Effect of ghrelin and growth hormone-releasing peptide 6 on septic ileus in mice. *Neurogastroenterol Motil*; 16: 439-46, 2004.

Deloose E., Depoortere P.J.I., Tack J.: The migrating motor complex: control mechanisms and its role in health and disease 27 March 2012 *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* volume 9, pages271 285 doi:10.1038/nrgastro.2012.57, 2012.

Depoortere I., De Winter B., Thijs T., De Man J., Pelckmans P., Peeters T.: Comparison of the gastroprokinetic effects of ghrelin, GHRP-6 and motilin in rats in vivo and in vitro. *Eur J Pharmacol*; 515: 160-8, 2005.

Depoortere I., Van Assche G., Peeters T.L.: Distribution and subcellular localization of motilin binding sites in the rabbit brain. *Brain Res* 777 103-109, 1997.

Dornonville de la Cour C., Lindstrom E., Norlen P., Hakanson R.: Ghrelin stimulates gastric emptying but is without effect on acid secretion and gastric endocrine cells. *Regul Pept* 120: 23-32, 2004.

Drago F., Macaudo S., Salehi S.: Small doses of melatonin increase intestinal motility in rats, *J.Pineal Res.* 29:116 – 124, 2000.

Edholm T., Levin F., Hellström PM., Schmidt PT.: Ghrelin stimulates motility in the small intestine of rats through intrinsic cholinergic neurons, *Regul Pept*; 121: 25-30, 2004.

Eralp Z.E.: Melatoninin Fare İnce Ve Kalın Bağırsak Motilitesi Üzerine Etkisi, Ankara Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Ankara, 2009.

Erdoğan, D., Hatiboğlu, M.T., Görgün, M., Ilgaz, C.: Özel Histoloji, Ankara, Hatiboğlu Yayınları, 1996.

Erlich, S.S., Apuzzo, M.L.J.: The pineal gland: anatomy. Physiology and clinical significance. *J. Neurosurg.* 63: 321-341, 1985.

Eşrefoğlu M.: Özel Histoloji. Medipres. 79-105s, Malatya, 2009.

Feighner S.D., Tan C.P., McKee K.K., Palyha O.C., Hreniuk D.L., Pong S.S., Austin C.P., Figueroa D., MacNeil D., Cascieri M.A. ve ark.: Receptor for motilin identified in the human gastrointestinal system. *Science* 284 2184-2188, 1999.

Ferna'ndez-Gil B, Moneim AEA, Ortiz F, Shen Y-Q, Soto-Mercado V, Mendivil-Perez M, ve ark.: Melatonin protects rats from radiotherapy-induced small intestine toxicity. *PLoS ONE* 12(4): e0174474. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174474>, 2017.

Ferri G.L., Adrian T.E., Ghatei M.A., Soimero L., Rebecchi L., Biliotti G., Polak J.M., Bloom S.R.: Intramural distribution of regulatory peptides in the human stomach and duodenum. *Hepato-gastroenterology.* Apr;34(2):81-5, 1987.

Ferri G.L., Adrian T.E., Soimero L., McGregor G.P., Ghatei M.A., Morreale R.A., Rebecchi L., Tonelli L., Polak J.M., Bloom S.R.: Regulatory peptide distribution in separated layers of the human jejunum. *Digestion.*;37(1):15-21, 1987.

Folwaczny C., Chang J.K., Tschop M.: "Ghrelin and motilin: two sides of one coin?" *European Journal of Endocrinology*, vol. 144, no. 4, pp. R1–R3, 2001.

Froy O.: Metabolism and circadian rhythms – implications for obesity. *Endocr Rev*; 31: 1-24, 2010.

Fujimiya M., Asakawa A., Ataka K., Chen CY., Kato I., Inui A.: Ghrelin, des-acyl ghrelin, and obestatin: regulatory roles on the gastrointestinal motility. *Int J Pept* 2010.

Fujimiya M., Asakawa A., Ataka K., Kato I., Inui A.: Different effects of ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin on gastroduodenal motility in conscious rats. *World J Gastroenterol*, 14 6318-6326, 2008.

Fujino K., Inui A., Asakawa A., Kihara N., Fujimura M, Fujimiya M.: "Ghrelin induces fasted motor activity of the gastrointestinal tract in conscious fed rats," *Journal of Physiology*, vol. 550, no. 1, pp. 227–240, 2003.

Fujino K., Inui A., Asakawa A., Kihara N., Fujimura M., Fujimiya M.: Ghrelin induces fasted motor activity of the gastrointestinal tract in conscious fed rats. *J Physiol*, 550: 227-40, 2003.

Fujino K., Inui A., Asakawa N., Kihara M., Fujimura, Fujimiya M.: "Ghrelin induces fasted motor activity of the gastrointestinal tract in conscious fed rats," *Journal of Physiology*, vol. 550, no. 1, pp. 227–240, 2003.

Fukuda H., Mizuta Y., Isomoto H.: Ghrelin enhances gastric motility through direct stimulation of intrinsic neural pathways and capsaicin-sensitive afferent neurones in rats. *Scand J Gastroenterol*, 39: 1209-14., 2004.

Gartner, L. P., Hiatt, J. L.: *Color textbook of histology*, 2. Edition, W. B.

Gillette, MU., McArthur AJ.: Circadian actions of melatonin at the suprachiasmatic nucleus. *Behav Brain Res.*; 73: 135-139, 1996.

Grönberg M., Tsolakis A.V., Magnusson L., Janson E.T., Saras J.: Distribution of Obestatin and Ghrelin in Human Tissues: Immunoreactive Cells in the Gastrointestinal Tract, Pancreas, and Mammary Glands *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* Volume 56(9): 793–801, 2008.

Güçlü M., Demiroğullari B., Barun S., Özen İ.O., Karakus S.C., Poyraz A., Serdar M., Karabulut R., Türkyılmaz Z., Sönmez K., Kale N., Başaklar A.: The Effects of Melatonin on Intestinal Adaptation in a Rat Model of Short Bowel Syndrome, *European Journal of Pediatric Surgery* 24(02),150-157, 2014.

Gülmez N. Sindirim sistemi I. İçinde: *Veteriner Özel Histoloji*. A. Özer.(Ed), 1. Baskı., Nobel Yayın Dağıtım AŞ Ankara. (2008).

Hadley ME: *Endocrinology*. In “ Endocrine role of the Pineal gland”, 3th Ed, Prentice-Hall, Inc. New Jersey.p.532-540, 1992.

Hardeland R.: Melatonin and the pathologies of weakened or dysregulated circadian oscillators. *J Pineal Res* 62(1):e12377. doi:10.1111/jpi.12377, 2017.

Harlow H.J., Weekley B.L.: Effect of melatonin on the force of spontaneous contractions of in vitro rat small and large intestine. *J Pineal Res* 3: 277-284, 1986.

Hoogerwerf W.A.: Role of biological rhythms in gastrointestinal health and disease. *Rev Endocr Metab Dis* 10: 293-300, 2009.

Hosoda H., Kojima M., Matsuo H., Kangawa K.: Purification and characterization of rat des-Gln14-Ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *J Biol Chem* 275: 21995-2000, 2000.

Howard A.D., Feighner S.D., Cully D.F., Arena J.P., Liberatore P.A., Rosenblum C.I., Hamelin M., Hreniuk D.L., Palyha O.C., Anderson J., et al.: A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 273 974-977, 1996.

Hsu, S.M., Raine, L., Fanger, H.: Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *Journal Histochemistry & Cytochemistry*. 29: 577-580, 1981.

<http://www.lightbearers.org/the-migrating-motor-complex/>

Ishida Y., Sakahara S., Tsutsui C., Kaiya H., Sakata., Oda S., Sakai T.: Identification of ghrelin in the house musk shrew (*Suncus murinus*): cDNA cloning, peptide purification and tissue distribution. *Peptides*, 30 982-990, 2009.

Itoh Z., Honda R., Hiwatashi K. ve ark.: "Motilin induced mechanical activity in the canine alimentary tract," *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, vol. 11, supplement 39, pp. 93–110, 1976.

Itoh Z., Takeuchi S., Aizawa I., Mori K., Taminato T., Seino Y., Imura H., Yanaihara N.: Changes in plasma motilin concentration and gastrointestinal contractile activity in conscious dogs. *Am J Dig Dis* 23 929-935, 1978.

Itoh Z.: "Motilin and clinical application," *Peptides*, vol. 18, no. 4, pp. 593–608, 1997.

İpek E.D. Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Sıçanalarda Melatonin Uygulamasını Duodenum Üzerindeki Etkisinin Morfolojik Olarak İncelenmesi, Adnan Menderes Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, Aydın, 2015.

İtoh Z.: *Motilin*, ISBN:0-12-375730-4, Academic Press, California, 1990.

Janiuk I., Kaleczyc J., Kasacka I.: Ghrelin-immunoreactive cells in the gastrointestinal tract of hypertensive rats, *Folia Histochemica Et Cytobiologica* Vol. 54, No. 4, pp. 181–185, 2016.

Junquera L.G., Carnerira J., Kelly R.O.: *Temel Histoloji*. (Türkçe çeviri, Akyüz D.) 8. baskı, Ankara, Barış Kitap evi.; 241-68, 1998.

Kaiya H., Kodama S., Ishiguro K., Matsuda K., Uchiyama M., Miyazato M., Kangawa K.: Ghrelin-like peptide with fatty acid modification and O-glycosylation in the red stingray, *Dasyatis akajei*. *BMC Biochem* 10 30, 2009.

Kaiya H., Kojima M., Hosoda H., Koda A., Yamamoto K., Kitajima Y., Matsumoto M., Minamitake Y., Kikuyama S., Kangawa K.: Bullfrog ghrelin is modified by noctanoic acid at its third threonine residue. *J Biol Chem* 276 40441-40448. 2001.

Kaiya H., Sakata I., Kojima M., Hosoda H., Sakai T., Kangawa K.: Structural determination and histochemical localization of ghrelin in the red-eared slider turtle, *Trachemys scripta elegans*. *Gen Comp Endocrinol* 138 50-57, 2004.

Kaiya H., Sakata I., Yamamoto K., Koda A., Sakai T., Kangawa K., Kikuyama S.: Identification of immunoreactive plasma and stomach ghrelin, and expression of stomach ghrelin mRNA in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Gen Comp Endocrinol* 148 236-244, 2006.

Kaiya H., Van Der Geyten S., Kojima M., Hosoda H., Kitajima Y., Matsumoto M., Geelissen S, Darras VM., Kangawa K.: Chicken ghrelin: purification, cDNA cloning, and biological activity. *Endocrinology*, 143 3454-3463, 2002.

Kerman, Cirak, Özgüner, ve Dağtekin, 2005.

Kierszenbaum, A. L., *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*, Palme Yayıncılık, Ankara, 2006.

Kitazawa T., De Smet B., Verbeke K., Depoortere I., Peeters T.L.: "Gastric motor effects of peptide and non-peptide ghrelin agonists in mice in vivo and in vitro," *Gut*, vol. 54, no.8, pp. 1078–1084, 2005.

Klin T.: *J Med Sci*; 22: 221-226, 2002.

Kobayashi S., Uchida T.: *Motilin*, Ed: Zen Itoh. Academic Press, ISBN 0-12-375730-4, 1990.

Kohjitani A., Shirakawa J., Okada S., Obara H.: Effects of various peptides on isolated rabbit lower esophageal sphincter. *Peptides*; 17: 927-31, 1996.

Kojima M., Hosoda H., Date Y., Nakazato M., Matsuo H., Kangawa .: "Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach," *Nature*, vol. 402, no. 6762, pp. 656– 660, 1999.

Kojima M., Hosoda H., Date Y., Nakazato M., Matsuo H., Kangawa K.: Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402:656–660 1999.

Kojima M., Ida T., Sato T.: *Ghrelin Vitamins and Hormon Volume 77*, chapter three structure of mammalian and nonmammalian ghrelins ISBN: 978-0-12-373685-7, ISSN: 0083-6729, 2008.

Kojima M., Ida T., Sato T.: Structure of mammalian and nonmammalian ghrelins. *Vitam Horm* 77, 31-46, 2008.

Konturek P.C., Brzozowski T., Konturek S.J.: Gut clock: implication of circadian rhythms in the gastrointestinal tract. *Journal of physiology and pharmacology*, 62, 2, 139-150, 2011.

Korbonits M. Bustin SA., Kojima M., Jordan S., Adams EF., Lowe DG., Kangawa K., Grossman AB.: The expression of the growth hormone secretagogue receptor ligand ghrelin in normal and abnormal human pituitary and other neuroendocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 86:881–887, 2001.

Ku S.K., Lee H.S., Lee J.H.: A histochemical study of argentaffin endocrine cells in gastrointestinal tract of ovariectomized rats. *Korean J Vet Res*. 44: 171-77, 2004.

Ku S.K., Lee H.S., Park K.D., Lee J.H.: Immuno histochemistry of gastrointestinal endocrine cells in the Meckel's diverticulum of the Bean goose, *Anser fabalis latham*. *Korean J. Biol. Sc i.*, 4, 375 - 379, 2000.

Kukol A.: *Ghrelin Vitamins and Hormon Volume 77*, chapter one, *The Structure of Ghrelin* 2008.

Kuş İ, Sarsılmaz M. Pineal bezin morfolojik yapısı ve fonksiyonları.

Kvetnoy, I., Sandvik A.K., Waldum H.L.: The diffuse neuroendocrine system and extrapineal melatonin. *J. Mol. Endocrinology*. 18: 1-3, 1997.

Lerner AB.: *Hormones and Skin color*. *Scientific American* (July) 456-60, 1961.

Lerner, A.B., Case, J.D., Takahashi, Y.: Isolation of melatonin, pinealfactor that lightens melanocytes. *J. Am. Chem. Soci.* 80: 2587, 1958.

Levin F., Edholm T., Ehrstrom M.: Effect of peripherally administered ghrelin on gastric emptying and acid secretion in the rat. *Regul Pept*, 131: 59-65, 2005.

Lin, S., Hoffmann K., Gao C., Petrulionis, M., Herr I., Schemmer P.: Melatonin promotes sorafenib-induced apoptosis through synergistic activation of JNK/c-jun pathway in human hepatocellular carcinoma. *Journal of Pineal Research*, 62(3), 2017.

Lu WZ., Gwee KA., Moochalla S., Ho KY.: Melatonin improves bowel symptoms in female patients with irritable bowel syndrome: a double-blind placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther*; 22: 927-934, 2005.

Macchi MM., Bruce JN., Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Front Neuroendocrinol* 25:177-195, 2004.

Macchi MM., Bruce JN.: Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Front Neuroendocrinol*, 25:177-195, 2004.

Maksimovich AA.: Structure and function of the pineal gland in the vertebrates, *Zh Evol Biokhim Fiziol*; 38:3-13, 2002.

Masini M.A.: Immunohistochemical localization of gut peptides in the small intestine of snakes. *Basic Appl Histochem.* 30(3):317-24, 1986.

Masuda Y, Tanaka T, Inomata N, Ohnuma N, Tanaka S, Itoh Z, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K.: Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res. Commun*, 276:905-908 2000.

McKee K.K., Tan C.P., Palyha O.C., Liu J., Feighner S.D., Hreniuk D.L., Smith R.G., Howard A.D., Van der Ploeg L.H.: Cloning and characterization of two human G protein-coupled receptor genes (GPR38 and GPR39) related to the growth hormone secretagogue and neurotensin receptors. *Genomics* 46 426-434, 1997

Mitznegg P., Bloom S.R., Domschke W., Domschke S., Wunsch E., Demling L.: Release of motilin after duodenal acidification. *Lancet*; 1(7965) 888-9, 1976.

Miura T., Maruyama K., Kaiya H., Miyazato M., Kangawa K., Uchiyama M., Shioda S., Matsuda K.: Purification and properties of ghrelin from the intestine of the goldfish, *Carassius auratus*. *Peptides* 30 758-765. 2009.

Mollaoğlu H., Özgüner MF.: Yaşlanma sürecinde melatoninin rolü. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*; 12:52-56, 2005.

Moore J.G., Larsen K.R., Barattini P., Dayton M.T.: Asynchrony in circadian rhythms of gastric function in the rat. A model for gastric mucosal injury. *Dig Dis Sci* 39: 1619-1624, 1994.

Motilin Pierre Poitras: Handbook of biologically active peptides ED:Abba J. Kastin, Theo L. Peeters , ISBN: 978-0-12-385095-9.

Murathanoğlu, O.: Histoloji, İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul, 1996

Mustonen A.M., Nieminen P., Hyvarinen H.: Preliminary evidence that pharmacological melatonin treatment decreases rat ghrelin levels. *Endocrine* 15: 43-46, 2001.

Ohdo S.: Chronotherapeutic strategy: rhythm monitoring, manipulation and disruption. *Adv Drug Deliv Rev*, 62: 859-875, 2010.

Ohno T., Mochiki E., Kuwano H.: The Roles of Motilin and Ghrelin in Gastrointestinal Motility, Hindawi Publishing Corporation International Journal of Peptides Volume, Article ID 820794, 6 pages doi:10.1155/2010/820794, 2010.

Ohshiro H., Nonaka M., Ichikawa K.: Molecular identification and characterization of the dog motilin receptor. *Regul Pept* 146 80-87, 2008.

Okihiro M.S., Hinton D.E.: Partial hepatectomy and bile duct ligation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): histologic, immunohistochemical and enzyme histochemical characterization of hepatic regeneration and biliary hyperplasia. *Toxicologic pathology*, 28: 342-356, 2000.

Panda S., Hogenesch J.B., Kay S.A.: Circadian rhythms from flies to human. *Nature*; 417: 329-335, 2002.

Poitras P., Peeters T.L.: "Motilin," *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, vol. 15, no. 1, pp. 54-57, 2008.

Poitras, P., *Handbook of Biologically Active Peptides*, Edited by Abba J. Kastin, ISBN 13: 978-0-12-369442-3, Elsevier, 2006.

Rahman MK., Nagatsu T., Sakurai T., Hori S., Abe M., Matsuda M.: Effect of pyridoxal phosphate deficiency on aromatic L-amino acid decarboxylase activity with L-DOPA and L 5 hydroxytryptophan as substrates in rats. *Jpn J Pharmacol.*; 32:803-811, 1982.

Reiter RJ., Tan DX., Osuna C., Gitto E.: Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. *J Biomed Sci*, 7, 444-458, DOI: 10.1007/BF02253360, 2000.

Reiter RJ.: Mechanisms of cancer inhibition by melatonin. *J Pineal Res.*;37:213-214, 2004.

Ross H., Wojciech Pawlina, *Histology A Text and Atlas, Histoloji*. ISBN 978-0-7817-7200-6, 2011.

Sakahara S., Xie Z., Koike K., Hoshino S., Sakata I., Oda S., Takahashi T., Sakai T.: Physiological characteristics of gastric contractions and circadian gastric motility in the free-moving conscious house musk shrew (*Suncus murinus*). *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 299 R1106-1113, 2010.

Sakai T., Satoh M., Koyama H., Iesaki K., Umahara M., Fujikura K., Itoh Z.: Localization of motilin-immunopositive cells in the rat intestine by light microscopic immunocytochemistry Peptides volume 15 issue 6 pages 987-991, 1994.

Sakai T., Satoh M., Sonobe K., Nakajima M., Shiba Y., Itoh Z.: Autoradiographic study of motilin binding sites in the rabbit gastrointestinal tract. Regul Pept 53 249-257, 1994.

Sakata I., Nakamura K., Yamazaki M., Matsubara M., Hayashi Y., Kangawa K., Sakai T.: Ghrelin-producing cells exist as two types of cells, closed- and opened-type cells, in the rat gastrointestinal tract. Peptides 23:531-536, 2002.

Sakata I., Sakai T.: The Gut Peptide Hormone Family, Motilin and Ghrelin, Update on Mechanisms of Hormone Action - Focus on Metabolism, Growth and Reproduction, Prof. Gianluca Aimaretti (Ed.), ISBN: 978-953-307-341-5, 2011.

Saltan SK., Aslan Ş.: Immunohistochemical Localization of Ghrelin and IGF-I in the liver and kidney Tissues of melatonin-Treated rats. Journal of veterinary science and animal husbandry volume 5 issue 4 İSSN:2348-9790, 2017.

Samson W.K., Lumpkin M.D., McCann S.M.: Motilin: a novel growth hormone releasing agent. Brain Res Bull; 8: 117-21, 1982.

Samson W.K., Lumpkin M.D., Nilaver G., McCann S.M.: Motilin stimulates growth hormone release in vitro. Brain Res Bull, 12: 57-62, 1984.

Samson W.K., Lumpkin M.D., Nilaver G., McCann S.M.: "Motilin: a novel growth hormone releasing agent," Brain Research Bulletin, vol. 12, no. 1, pp. 57-62, 1984.

Sanger G.J., Hellström P.M., Näslund E.: The hungry stomach: physiology, disease, and drug development opportunities. Front Pharmacol 1: 145, 2010.

Sarıkaya G. Alüminyum İle Oluşturulan Siçan İnce Bağırsak Toksisitesi Üzerinde Melatoninin Rolü, İst. Üni, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 2011.

Satoh M., Sakai T., Koyama H., Shiba Y., Itoh Z.: Immunocytochemical localization of motilin-containing cells in the rabbit gastrointestinal tract. Peptides 16 883-887, 1995. Saunders Company, Philadelphia, 2001.

Schilling, R.: Heart Health Improves With Hormone Replacement. Heart, 2017.

Shao Y., Liu S., Tang X., Gao J., Wu G., Li Z.: Ontogeny of ghrelin mRNA expression and identification of ghrelin-immunopositive cells in the gastrointestinal tract of the Peking duck, *Anas platyrhynchos*. General and Comparative Endocrinology, 166 12-18, 2010.

Simonneaux V., Garidou M.L., Ribelayga C., Pévet P.: Melatonin: Biological Basis of Its Function in Health and Disease chapter 1, Mechanisms Underlying Seasonal Regulation of Melatonin Synthesis in Rodents , ISBN: 1-58706-244-5, 2006.

Sönmez S.: Siçanlarda Pinealektomi ve Melatonin Uygulamasının Serum Melatonin, Nesfatin-1 ve Ghrelin Düzeylerine Etkisi. Selçuk Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 2017.

Storr M., Schusdziarra V., Allescher H.D.: Inhibition of small conductance K⁺ -channels attenuated melatonin-induced relaxation of serotonin-contracted rat gastric fundus. *Can J Physiol Pharmacol* 78: 799-806 61, 2000.

Strausberg R.L., Feingold E.A, Grouse L.H, Derge J.G, Klausner R.D, Collins F.S, Wagner L., Shenmen C.M., Schuler G.D, Altschul S.F, ve ark.: Generation and initial analysis of more than 15,000 full-length human and mouse cDNA sequences. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99 16899-16903, 2002.

Svenningsson A., Lagerstedt K., Omrani M.D., Nordenskjöld A.: Absence of motilin gene mutations in infantile hypertrophic pyloric stenosis. *J Pediatr Surg*, 43:443-6, 2008.

Szurszewski J.H.: "A migrating electric complex of canine small intestine," *The American Journal of Physiology*, vol. 217, no. 6, pp. 1757–1763, 1969.

Şentürk E.: Denesel Hipertiroidi Oluşturulan ratlarda Melatonin Uygulamasının İn Vitro İntestinal Motilite Üzerine Etkileri, Atatürk Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Fizyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Erzurum, 2018.

Şimşek N., Kaya M., Kara A., Can I., Karadeniz A., Kalkan Y.: Effects of melatonin on islet neogenesis and beta cell apoptosis in streptozotocin-induced diabetic rats: an immunohistochemical study. *Domestic Animal Endocrinology*. 43: 47-57, 2012.

Tack J., Depoortere I., Bisschops R.: "Influence of ghrelin on interdigestive gastrointestinal motility in humans," *Gut*, vol. 55, no. 3, pp. 327–333, 2006.

Takeshita E., Matsuura B., Dong M., Miller L.J., Matsui H., Onji M.: Molecular characterization and distribution of motilin family receptors in the human gastrointestinal tract. *J Gastroenterol* 41 223-230, 2006.

Tamura, H., Kawamoto M., Sato S., Tamura I., Maekawa R., Taketani T., Sugino, N.: Long-term melatonin treatment delays ovarian aging. *Journal of pineal research*, 62(2), 2017.

Tanaka-Shintani M., Watanabe M.: Distribution of ghrelin-immunoreactive cells in human gastric mucosa: comparison with that of parietal cells, *J Gastroenterol* 40:345–349 doi 10.1007/s00535-004-1550-3, 2005.

Taniguchi H., Ariga H., Zheng J., Ludwig K., Takahashi T.: Effects of ghrelin on interdigestive contractions of the rat gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol*, 14 6299-6302, 2008.

Terron, M.P., Delgado-Adamez J., Pariente, J.A., Barriga, C., Paredes, S.D., Rodriguez A.B.: Melatonin reduces body weight gain increases nocturnal activity in male Wistar rats. *Physiology & Behavior*. 118: 8-13, 2013.

Toubi E., Shoenfeld Y.: Protective autoimmunity in cancer. *Oncol Rep*; 17:245-251, 2007.

Trudel L., Tomasetto C., Rio MC.: Ghrelin/motilin-related peptide is a potent prokinetic to reverse gastric postoperative ileus in rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 282: G948-52, 2002.

Tsutsui C., Kajihara K., Yanaka T., Sakata I., Itoh Z., Oda S., Sakai T.: House musk shrew (*Suncus murinus*, order: Insectivora) as a new model animal for motilin study. *Peptides* 30 318-329, 2009.

Tsuzuki K, Okamoto-Miunu K, Mizuno K.: Effects of humid heat exposure on sleep, thermoregulation, melatonin and microclimate. *J Therm Biol*; 29:31-34, 2004.

Tunç T., Demirrin H.: Evaluation of effects of s-methyl isothioureia and melatonin on intestinal ischemia/reperfusion injury in rats) fetal and pediatric pathology, 29:212–223,issn:1551-3815print /1551-3823 online doi: 10.3109/15513811003786319. 2010.

Usellini L., Buchan A.M., Polak J.M., Capella C., Cornaggia M., Solcia E.: Ultrastructural localization of motilin in endocrine cells of human and dog intestine by the immunogold technique. *Histochemistry*. 81(4):363-8, 1984.

Üstündağ, B., Canatan, H.: Melatonin: Güçlü bir antioksidan ve serbest radikal giderici. *Fırat Tıp Der.* 1: 7, 1999.

Van Aswegen G., Van Noorden S., Kotze S.H., De Vos V., Schoeman J.H.: The intestine and endocrine pancreas of the African elephant: a histological immunocytochemical and immunofluorescence study. *Onderstepoort J Vet Res.* Dec;63(4):335-40, 1996.

Vantrappen G, Janssens J, Peeters TL, Bloom SR, Christofides ND, Hellemans J.: Motilin and the interdigestive migrating motor complex in man. *Dig Dis. Sci.* 24:497–500, 1979.

Vantrappen G., Janssens J., Peeters T.L., Bloom S.R., Christofides N.D., Hellemans J.: “Motilin and the interdigestive migrating motor complexes in man,” *Digestive Diseases and Sciences*, vol. 24, no. 7, pp. 497–500, 1979.

Wada R., Sakata I., Kaiya H., Nakamura K., Hayashi Y., Kangawa K., Sakai T.: Existence of ghrelin-immunopositive and -expressing cells in the proventriculus of the hatching and adult chicken. *Regul Pept* 111 123-128, 2003.

Wang J.X., Peng K.M., Liu H.ZH., Song H., Chen X., Liu M.: Distribution and developmental changes in ghrelin-immunopositive cells in the gastrointestinal tract of African ostrich chicks, *Regulatory Peptides* 154 97–101, 2009.

Wierup N., Björkqvist M., Westroöm B., Pierzynowski S., Sundler F., Sjölund K.: Ghrelin and Motilin Are Cosecreted from a Prominent Endocrine Cell Population in the Small Intestine. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 92(9):3573–3581,2007.

Wolden-Hanson T., Mitton D.R., McCants R.L., Yellon S.M., Wilkinson C.W., Matsumoto A.M., Rasmussen D.D.: Daily melatonin administration to middle-age male rats suppresses body weight, intraabdominal adiposity, and plasma leptin and insulin independent of food intake and total body fat. *Endocrinology*. 141(2): 487-497, 2000.

Xu L., Depoortere I., Thielemans L., Huang Z., Tang M., Peeters T.L.: Sequence, distribution and quantification of the motilin precursor in the cat. *Peptides* 24 1387-1395. 2003.

Yamada J., Arita M., Kitamura N., Yamashita T., Yanaihara N., Richardson K.C. : Heterogeneity of motilin-immunoreactive cells in the duodenum and pyloric region of several avian species. *Arch Histol Cytol*, Aug;56(3):261-7, 1993.

Yamada J., Campos Valencio J.M., Kitamura N., Pacheco A.C., Yamashita T., Yanaihara N.: An Immunohistochemical Study of the Endocrine Cells in the Gastrointestinal Mucosa of the Caiman latirostris, *Arch, histol, jap.*, Vol. 50, No. 2 p. 229-241, 1987.

Yukari D., Kojima M., Hosoda H., Sawaguchi A., Mondal M. S., Sukanuma T., Matsukura S., Kangawa K., Nakazato M.: Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology*, 141(11), 4255–4261, 2000.

Yücel S., Kaplanoğlu G., Aral B.S., Seymen C.M.: Kronik Cep Telefonu Radyasyonu ve Koruma Amaçlı Uygulanan Melatoninin Ovaryuma Etkisi. GMJ, 28: 184-190, 2017.

Zhang, S.: An Atlas of Histology. Springer. 218-238p, Newyork, 1999.

Zhao Z., Sakai T.: Characteristic features of ghrelin cells in the gastrointestinal tract and the regulation of stomach ghrelin expression and production, World J Gastroenterol November 7; 14(41): 6306-6311, 2008.

Zhen Lu W., Ann Gwee K., Yu Ho K.: Functional bowel disorders in rotating shift nurses may be related to sleep disturbances. Eur J Gastroenterol Hepatol 18: 623-627, 2006.

Zheng J., Ariga H., Taniguchi H., Ludwig K., Takahashi T.: "Ghrelin regulates gastric phase III-like contractions in freely moving conscious mice," Neurogastroenterology & Motility, vol. 21, no. 1, pp. 78-84, 2009.

Zietlow A., Nakajima H., Taniguchi H., Ludwig K., Takahashi T.: Association between plasma ghrelin and motilin levels during MMC cycle in conscious dogs. Regul Pept 164 78-82, 2010.

EK 1: ÖZGEÇMİŞ

1980 yılı Çorum'un Sungurlu ilçesi doğumluyum. İlkokulu Sungurlu İsmet Paşa İlkokulunda, orta ve lise eğitimimi Sungurlu Haydar Öztaş Anadolu Lisesinde tamamladım. Erzurum Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Anabilim Dalını 2004 yılında bitirdim. 2006 yılında biyoloji öğretmeni olarak göreve başladım. Yüksek lisansımı Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zooloji Anabilim Dalında 2013 yılında tamamladım. Aynı yıl Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Doktora eğitimine başladım. Evli ve bir çocuk babasıyım. Kars Fen Lisesinde Biyoloji öğretmeni olarak çalışmaktayım.



EK 2: ETİK KURUL

**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(KAÜ-HADYEK)**

Sayı: 2015/093
Konu: Araştırma

30.09.2015

Sayın: Prof. Dr. Şahin ASLAN
Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi - KARS

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK)'nce değerlendirilip çalışma onayı istenen **KAÜ-HADYEK/2015-071** Kodlu ve **"Melatonin Uygulanan Ratların Gastrointestinal Sistemindeki Motilin ve PYY Hormonunun İmmunohistokimyasal Lokalizasyonu"** adlı araştırmanızın KAÜ-HADYEK Yönergesi ilkelerine uygun olarak planlandığı anlaşılmış ve projenin deney hayvanı kullanım etiği açısından **"UYGUN"** olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Saygılarımla.

Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN
KAÜ-HADYEK Başkanı

EK :

1- Etik Kurul Kararı (1 Adet)

Yazışma Adresi

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(KAÜ-HADYEK) Başkanlığı
Kafkas Üniversitesi Rektörlüğü, 36100 KARS

Tel: 0 474 2251158 – 2426836
Faks: 0 474 2251161
E-Posta: hadyek@kafkas.edu.tr



KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(KAÜ-HADYEK)
KURUL KARARLARI

TOPLANTI TARİHİ :	30.09.2015	TOPLANTI SAYISI :	2015/10
Araştırmanın Kodu :	KAÜ-HADYEK/2015-071	Başvuru Tarihi :	16.9.2015
Araştırmanın Adı :	<i>Melatonin Uygulanan Ratların Gastrointestinal Sistemindeki Motilin ve PYY Hormonunun İmmunohistokimyasal Lokalizasyonu</i>		

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN, başkanlığında toplanarak aşağıdaki kararları almıştır.

KARAR 89

KAÜ-HADYEK'e müracaat eden Prof. Dr. Şahin ASLAN'ın "Melatonin Uygulanan Ratların Gastrointestinal Sistemindeki Motilin ve PYY Hormonunun İmmunohistokimyasal Lokalizasyonu " adlı 15.09.2015 tarih ve KAÜ-HADYEK/2015-071 kodlu başvuru formu görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK)'nce değerlendirilip çalışma onayı istenen ve yukarıda adı belirtilen araştırma projesi KAÜ-HADYEK Yönergesi kapsamında değerlendirilmiş olup, projenin Kafkas Üniversitesi deney hayvanı kullanım etiği açısından "UYGUN" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN
Başkan

Doç. Dr. Mehmet Ali KIRPIK Başkan Yrd.	İMZA	Yrd. Doç. Dr. Cihan ÇİTİL Üye	İMZA
Yrd. Doç. Dr. Yusuf EHI Üye	İMZA	Yrd. Doç. Dr. Ali YİĞİT Üye	İMZA
Yrd. Doç. Dr. Mustafa SERTÇELİK Üye	İMZA	Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Avni EROĞLU Üye	İMZA
Yrd. Doç. Dr. Sevda ELİŞ YILDIZ Üye	(İZİNLİ)	İbrahim YILDIZ Sivil Üye	İMZA
Yrd. Doç. Dr. Sezen HARMANKAYA Üye	İMZA	Suat ÇALIŞ Sivil Üye	İMZA

ASLININ AYNIDIR

30.09.2015

Prof. Dr. İsa ÖZAYDIN
KAÜ-HADYEK Başkanı