

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİTOSAN OLİGOSAKKARİT UYGULANAN DİYABETİK VE NON-
DİYABETİK RATLARIN BAĞIRSAKLARINDA PCNA, PYY VE
CCKAR DAĞILIMININ İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK
İNCELENMESİ**

**Serap İLHAN AKSU
DOKTORA TEZİ**

**Danışman
Doç. Dr. Turgay DEPREM**

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KARS 2019

**T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİTOSAN OLİGOSAKKARİT UYGULANAN DİYABETİK VE NON-
DİYABETİK RATLARIN BAĞIRSAKLARINDA PCNA, PYY VE
CCKAR DAĞILIMININ İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK
İNCELENMESİ**

Serap İLHAN AKSU

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman

Doç. Dr. Turgay DEPREM

**Bu çalışma KAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koodinatörlüğü (Proje No:2018-TS-03)
tarafından desteklenmiştir.**

2019 KARS

TC

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Serap İLHAN AKSU tarafından hazırlanmış olan **Kitosan Oligosakkarit Uygulanan Diyabetik ve Non-Diyabetik Ratların Bağırsaklarında PCNA, PYY ve CCKAR Dağılımının İmmunohistokimyasal Olarak İncelenmesi** 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. Şahin ASLAN

Üye: Doç. Dr. Hakan SAĞSÖZ

Üye: Doç. Dr. Turgay DEPREM

Üye: Doç. Dr. Seyit Ali BİNGÖL

İmza:



The image shows four handwritten signatures on a set of four horizontal dotted lines. The first signature is the most prominent and appears to be 'Muzaffer Aydın Ketani'. The second signature is 'Şahin Aslan'. The third signature is 'Hakan Sağsöz'. The fourth signature is 'Turgay Deprem'. The name 'Deprem' is written in a larger, more legible font below the signature.

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

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışmada kitosan oligosakkarit uygulanan diyabetik ve non-diyabetik ratların ince bağırak dokusunda PCNA, PYY ve CCKAR dağılımını immunohistokimyasal yöntemlerle incelenmiştir.

Öncelikle tez hipotez aşamasından, laboratuvar uygulamalarına ve tez bitimine kadar, bu süreçte daima fikirlerimi dikkate alan ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım sayın Doç. Dr. Turgay DEPREM'e, doktora ders aşamasında bilgilerini bana aktaran ve tez döneminde ihtiyacım olduğunda her zaman yardım eden sayın hocalarım Prof. Dr. Şahin ASLAN'a, Prof. Dr. Ebru KARADAĞ SARI'ya, Doç. Dr. Serap KORAL TAŞÇI'ya, Doç. Dr. Seyit Ali BİNGÖL'e, Doç. Dr. Sevda ELİŞ YILDIZ'a, ayrıca projeye maddi destek sağlayan Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Geçmişimden geleceğime, bugünümden yarınıma, her koşulda yanımda olan ve olacak canım AİLEM'e, hayatımın bu döneminde bana anlam ve değer katan eşim Tarık AKSU ve oğlum Yiğit Kemal AKSU'ya sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER	III
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER ve RESİMLER DİZİNİ	V
TABLolar DİZİNİ	VII
ÖZET	VIII
SUMMARY	I
1. GİRİŞ	1
1.1 DİYABETES MELLİTUS.....	1
1.1.1 Diyabetes Mellitus Tipleri.....	2
1.2 BİYOPOLİMERLER.....	4
1.2.1 KİTİN ve KİTOSAN.....	4
1.3 SİNDİRİM SİSTEMİ.....	7
1.3.1 İNCE BAĞIRSAKLAR.....	7
1.3.1.1 İnce Bağırsak Embriyolojisi ve Anatomisi	7
1.3.1.2 İnce Bağırsak Histolojisi	8
1.4 PROLİFERATİF HÜCRE NÜKLEER ANTİJENİ (PCNA).....	12
1.5 PEPTİT-YY (PYY).....	14
1.6 KOLESİSTOKİNİN (CCK).....	15
1.7 DİYABETES MELLİTUS - KİTOSAN OLİGOSAKKARİT - İNCE BAĞIRSAK.....	17
2. MATERYAL VE YÖNTEM	20
3. BULGULAR	26
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	53
5. KAYNAKLAR	61
6. EKLER	70
ÖZGEÇMİŞ	71

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DM	: Diyabetes Mellitus
CCK	: Kolesistokinin
CCKAR	: Kolesistokinin A reseptörü
PCNA	: Prolifere Hücre Nükleer Antijeni
PYY	: Peptit-YY
KOS	: Kitosan Oligosakkarit
DKA	: Diyabetik Ketoasidoz
IDDM	: İnsüline bağımlı diyabetes mellitus
NIDDM	: İnsüline bağımlı olmayan diyabetes mellitus
ROS	: Reaktif oksijen molekülleri
ADA	: Amerikan Diyabet Cemiyeti
GDM	: Gestasyonel Diyabetes Mellitus
NPY	: Nöropeptid Y
GİP	: Gastrik İnhibitör Polipeptid
VİP	: Vazoaktif İntestinal Polipeptid
DE	: Diyanetik Enteropati
STZ	: Streptozotosin
PAS	: Periyodik asit Schiff
PBS	: Fosfar buffer solüsyonu
H&E	: Hematoksilen-Eozin
DAB	: Diaminobenzidin-Hidrojen-Peroksidaz
GLP-1	: Glukagon benzeri peptid-1

ŞEKİLLER ve RESİMLER DİZİNİ

		Sayfa
Resim 1.	Histometrik olarak hesaplanan alanlar	24
Resim 2.	Kontrol grubu İnce bağırsak (duodenum) genel histolojik görünümü	31
Resim 3.	Diyabet grubu İnce bağırsak (duodenum) genel histolojik görünümü	31
Resim 4.	Diyabet+KOS grubu duodenum genel görünüm.	32
Resim 5.	Diyabet grubu duodenum dokusu	32
Resim 6.	Kontrol grubu jejunum dokusu.	33
Resim 7.	Diyabet grubu jejunum dokusu.	33
Resim 8.	KOS grubu ileum dokusu.	34
Resim 9.	Diyabet+KOS grubu ileum dokusu.	34
Resim 10.	Kontrol grubu jejunum dokusu PAS boyaması genel görünümü.	35
Resim 11.	Diyabet grubu jejunum dokusu PAS boyaması genel görünümü.	36
Resim 12.	Kontrol grubu ileum dokusu PAS boyaması.	36
Resim 13.	Diyabet grubu ileum dokusu PAS boyaması.	37
Resim 14.	Duodenum Kontrol grubu PCNA immunoreaktivitesi genel görünümü.	38
Resim 15.	Duodenum Diyabet grubu PCNA immunoreaktivitesi genel görünümü	39
Resim 16.	Duodenum Diyabet+KOS grubu PCNA immunoreaktivitesi.	49
Resim 17.	Jejunum sham grubu PCNA immunoreaktivitesi genel görünümü.	40
Resim 18.	Jejunum diyabet grubu PCNA immunoreaktivitesi genel görünümü.	40
Resim 19.	İleum Diyabet grubu PCNA immunoreaktivitesi.	41
Resim 20.	Duodenum Diyabet grubu PYY immunoreaktivitesi genel görünümü.	42
Resim 21.	Duodenum Diyabet+KOS grubu PYY immunoreaktivitesi.	43
Resim 22.	Duodenum Kontrol grubu PYY immunoreaktivitesi.	43

Resim 23.	Jejenum Diyabet grubu PYY immunoreaktivitesi.	44
Resim 24.	İleum Diyabet+KOS grubu PYY immunoreaktivitesi genel görünümü.	44
Resim 25.	İleum Diyabet+KOS grubu PYY immunoreaktivitesi.	45
Resim 26.	Duodenum Diyabet grubu CCKAR immunoreaktivitesi genel görünümü.	46
Resim 27.	Duodenum Kontrol grubu CCKAR immunoreaktivitesi genel görünümü.	47
Resim 28.	Duodenum Diyabet+KOS grubu CCKAR immunoreaktivitesi genel görünümü.	47
Resim 29.	Duodenum Diyabet grubu CCKAR immunoreaktivitesi.	48
Resim 30.	Duodenum Kontrol grubu CCKAR immunoreaktivitesi.	48
Resim 31.	Jejenum Diyabet grubu CCKAR immunoreaktivitesi genel görünümü.	49
Resim 32.	İleum Kontrol grubu CCKAR immunoreaktivitesi genel görünümü.	49
Resim 33.	İleum Diyabet+KOS grubu CCKAR immunoreaktivitesi genel görünümü.	50
Resim 34.	İleum Diyabet+KOS grubu CCKAR immunoreaktivitesi.	50
Resim 35.	Negatif Kontrol boyaması.	51

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1. Kitinin biyosferdeki kaynakları	4
Tablo 2. Gruplar arası ve günler arası canlı ağırlık bulgularının karşılaştırılması	25
Tablo 3. Gruplar arası ve günler arası kan-glikoz bulgularının karşılaştırılması	26
Tablo 4. Duodenum villus uzunluğu, villus genişliği ve kript derinliği verilerinin karşılaştırılması	27
Tablo 5. Jejenum villus uzunluğu, villus genişliği ve kript derinliği verilerinin karşılaştırılması	27
Tablo 6. İleum villus uzunluğu, villus genişliği ve kript derinliği verilerinin karşılaştırılması	28
Tablo 7. İnce bağırsak bölümlerinde Goblet hücre sayısının gruplar arası karşılaştırılması	29
Tablo 8. İnce bağırsak bölümlerinde Paneth hücre sayısının gruplar arası karşılaştırılması	29
Tablo 9. İnce bağırsak dokusunda genel olarak PCNA immunoreaktivitesinin skollama tablosu	41
Tablo 10. İnce bağırsak dokusunda genel olarak PYY immunoreaktivitesinin skollama tablosu	45
Tablo 11. İnce bağırsak dokusunda genel olarak CCKAR immunoreaktivitesinin skollama tablosu	51

ÖZET

Bu çalışmada Kitosan oligosakkarit uygulanan diyabetik ve non-diyabetik ratların bağırsaklarında PCNA, PYY ve CCKAR dağılımının immunohistkimyasal olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada 30 adet Spraque Dawley rat, kontrol, sham, diyabet, KOS ve diyabet+KOS olarak 6'şarlı gruplara ayrıldı. Deneme gruplarındaki 12 rata 50 mg/kg STZ uygulandı. Kan-glikoz düzeyi 250 mg/dl olan ratlar diyabetik kabul edildi. Diyabet olduğu teyit edilen 6 rata 500 mg/kg KOS 14 gün boyunca oral gavajla verildi. İnce bağırsak dokusunun histolojisini incelemek için H&E, PAS ve Crossman'ın üçlü boyamaları yapıldı. Ayrıca gruplardaki hayvanların İnce bağırsaklarında PCNA, PYY ve CCKAR seviyeleri immunohistokimyasal yöntemle İncelendi.

Çalışmada diyabetik ratların canlı ağırlığının azaldığı tespit edildi. Diyabet ve diyabet+KOS gruplarının duodenum dokusunda villus uzunluklarını arttığı belirlendi. PCNA immunoreaktivitesinin tüm doku ve gruplarda kript epitellerinde yoğun olduğu gözlemlendi. PYY immunoreaktivitesinin lamina epitelyalis hücrelerinde ve lamina propriya ile submukoza bağ doku hücrelerinde olduğu bulundu. CCKAR immunoreaktivitesinin lamina propriya ve submukoza bağ doku hücrelerinde, bazı kas doku hücrelerinde olduğu tespit edildi.

Yapılan bu çalışmada diyabetik canlılarda KOS uygulanması ile ince bağırsak dokusunda histolojik olarak oluşan değişiklikler incelendi. Aynı zamanda diyabetin, ratların ince bağırsak dokusundaki PCNA immunoreaktivitesi ve gastrointestinal hormonlar olan PYY ile CCKAR'nin immunoreaktivitesinde oluşturduğu değişiklikler incelendi. Günümüzde hala en çok çalışılan hastalıklardan biri olan diyabetes mellitus ile ilgili yaptığımız bu çalışmada elde edilen verilerin, diyabetin ince bağırsaktaki etkileri ve bu etkileri azaltmak için KOS kullanımını etkisinin daha fazla incelenmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: CCKAR, Diyabet, KOS, PCNA, PYY

SUMMARY

The aim of this study was to investigate the distribution of PCNA, PYY and CCKAR in the intestines of diabetic and non-diabetic rats treated with Chitosan oligosaccharide.

In the study, 30 Sprague Dawley rats were divided into 6 groups as rat, control, sham, diabetes, COS and diabetes + KOS. 50 mg/kg STZ was applied to 12 rats in the experimental groups. Rats with blood-glucose levels higher than 250 mg/dl have been deemed diabetic. 500 mg/kg COS was given for 6 rats throughout 14 days with oral gavage. To examine the histology of the small intestine tissue, H&E, PAS and Crossman triple staining was performed. In addition, PCNA, PYY and CCKAR levels in small intestines of animals in groups were examined by immunohistochemical method.

In this study, it has been found that live weight decreased in the diabetic group. It was determined that the length of the villus was increased in the duodenum tissue of diabetes and diabetes + KOS groups. PCNA immunoreactivity was observed in crypt epithelium in all tissues and groups. PYY immunoreactivity was found in lamina epithelial cells and lamina propria and submucosa connective tissue cells. CCKAR immunoreactivity was found in lamina propria and submucosa connective tissue cells and some muscle tissue cells.

In this study, histological changes in small intestine tissue were examined by application of KOS in diabetic organisms. In addition, PCNA immunoreactivity in the small intestine of rats and changes in the immunoreactivity of CCKAR and PYY, which are gastrointestinal hormones, were investigated. We believe that the data obtained in this study about diabetes mellitus, which is still one of the most studied diseases, needs to be further studied the effects of diabetes on the small intestine and the effect of using KOS to reduce these effects.

Keywords: CCKAR, COS, Diabetes, PCNA, PYY

1. GİRİŞ

Diyabet metabolizmada hasara yol açmakta ve bu hasardan dolayı da doku ve organlarda biyokimyasal ve fonksiyonel değişiklikler oluşmaktadır (Palmer 1993). Diyabet (DM) sonucunda gözlenen karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki anormalliklerin altında insülinin hedef dokulardaki etkilerinin eksikliği bulunmaktadır (Ada, 2011).

Kitosan oligosakkarit (KOS), bağırsak hareketlerinin ve sindirim faaliyetlerinin düzenlenmesi, bağırsak mikroflorasının (bifidobakterilerin) desteklenmesi, karaciğer fonksiyonlarının düzenlenmesi gibi fonksiyonel etkilerinin yanı sıra sindirim yoluyla alındığında yağ emilimini azaltarak kilo kaybını desteklemesi bakımından önem taşımaktadır. Kitosanın, toksik özellikte olmaması, çevreye zarar vermeden biyolojik olarak parçalanabilir özellikte olması ve vücut içerisinde, tamamen zararsız ürünlere (amino şekeri) parçalanmasından ötürü herhangi bir yan etkisi de bulunmamaktadır (Kumar 2000, Guang 2002).

Bu araştırmanın amacı kitosan oligosakkarit uygulamasının diyabetik ve non-diyabetik ratların bağırsaklarında hücre proliferasyon hızının belirlenmesi amacıyla, proliferasyon evresindeki hücrelere özgü Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) ve bağırsaklarda salgılanan sindirim enzimlerinin salgılanmasında rolü olan PYY ve kolesistokinin reseptörü A'nın düzeyini immunohistokimyasal olarak incelemektir. Ayrıca diyabetin ince bağırsak dokusunda oluşturabileceği hasarlar ve bunun üzerine kitosan oligosakkaritin etkilerinin histolojik olarak incelenmeside amaçlanmıştır.

1.1 DİYABETES MELLİTUS

Diyabetes mellitus (DM), pankreastan salgılanan insülin sekresyonundaki yetersizlik ve/veya dokuların insüline cevabındaki bozukluklarla oluşan, yağ, protein ve karbonhidrat metabolizmasını etkileyen bir hastalıktır (Oztürk ve ark. 1996). Günümüzde çok önemli bir sağlık problemi haline gelen ve yaşam boyunca devam

eden DM, akut ve kronik komplikasyonları sebebiyle hastanın yaşam kalitesini oldukça düşüren, ekonomik açıdan önemli olan kronik bir hastalıktır (Yeğin ve Mert 2013). DM uzun dönemde çeşitli organlarda hasar, fonksiyon bozuklukları ve yetersizliklere neden olarak akut ve kronik komplikasyonlarla seyrini devam ettiren hastalıktır (Saito ve ark. 2006, Çambay 2011).

Diyabetes mellitus, hiperglisemik hiperozmalar durum (HHD), diyabetik ketoasidoz (DKA) gibi akut olan komplikasyonlarla birlikte kronik mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlar sebebiyle de ciddi sağlık problemlerine ve ölümlere neden olabilmektedir (Kharroubi ve Darwish 2015). Diyabet hastalığının klinik bulguları polifaji (fazla yeme), poliüri (çok idrar yapma), polidipsi (çok su içme), pruritis (kaşıntı), kilo kaybı gibi belirtilerdir. Kronik hiperglisemi birçok organda, özellikle sinirler, gözler, kalp, böbrekler ve kan damarlarında uzun zamanlı işlev bozuklukları, hasar, görevini yapmada sorunlar ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (Hilton ve ark. 2002, ADA 2012).

1.1.1 Diyabetes Mellitus Tipleri

Diyabetes Mellitus'un çok farklı tipleri olup, sınıflandırılması, etiyojisi ve patogenezi araştırmaların ışığı altında sürekli yenilenmektedir. DM'un başlıca dört tipi bildirilmiştir, bunlar; Tip 1 diyabetes mellitus, Tip 2 diyabetes mellitus, Gestasyonel diyabetes mellitus ve spesifik diyabetes mellitus tipleridir (ADA 2012).

Tip 1 Diyabetes Mellitus

Tip 1 diyabetes mellitus, pankreasta bulunan ve β -hücrelerinin (T-hücrelerinin aracılık ettiği insülin üretiminden sorumlu) otoimmün veya otoimmün dışı sebeplerle zedelenmesi sonucu meydana gelen hiperglisemi ve insülinopeni ile karakterize olan kronik ve metabolik bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (Akçay ve ark. 2000, Raz ve ark. 2005, Abacı ve ark. 2007).

Tip 1 diyabet eskiden, "insüline bağımlı diyabet", "juvenil diyabet" ve "çocukluk çağında başlayan diyabet" olarak adlandırılmaktaydı (Alberti ve Zimmet

1998). Tip 1 diyabet genellikle çocuklar ve gençlerde görüldüğü gibi, son zamanlarda yetişkin yaşlardaki insanlarda da saptanan tip 1 diyabet olguları da artmaktadır (King 2012).

Tip 2 Diyabetes Mellitus

Daha önceki zamanlarda ‘insüline bağımlı olmayan diyabet’ ya da ‘erişkin diyabet’ olarak adlandırılan tip 2 diyabetes mellitus tüm diyabet vakalarının %90–95’ini oluşturmaktadır. Bu tip diyabet en yaygın görülen formdur (ADA 2012). Tip 2 diyabetes mellitus hastalarında hiperglisemi kademeli bir şekilde artış gösterdiğinden, diyabetin oluşturduğu semptomlar hastalar başlangıçta fark edemez ve bu tip diyabet hastaları yaşamları yıllarca tanı almadan devam ettirmektedir (Association, 2004).

Gestasyonel Diyabetes Mellitus (Gebelik Diyabeti)

Gebelikte, insülin direncindeki gelişme etkisiyle paralel olarak hiperinsülineminin görüldüğü diyabetojenik olarak meydana gelen bir kondisyon olarak tanımlanmaktadır (Setji ve ark. 2015). GDM’in risk faktörleri arasında bulunan obezite, ailede diyabetli olması, hastanın önceki gebeliklerinde gestasyonel diyabet geçirmiş olması, annenin yaşı, polikistik over sendromu bulunup bulunmaması, hareketsiz bir yaşam olarak sayılmaktadır (Gilmartin ve ark. 2008).

Spesifik Nedenlere Bağlı Diyabetes Mellitus

En çok bilinen Tip 1 diyabetes mellitus, tip 2 diyabetes mellitus ve Gestasyonel diyabetes mellitus dışında, bazı durumlar da diyabetin oluşabileceği, bazı nadir hastalıkların da diyabet ile seyrinin devam edebileceği bildirilmektedir. (Alberti ve Zimmet 1998). Spesifik nedenlere bağlı diyabetes mellitus genellikle, B hücrelerindeki genetik kusurlar, insülin etkisinde genetik kusurlar, ekzokrin pankreasta hasar, endokrinopati, ilaç ve kimyasal aracılı, enfeksiyon aracılı, bağıışıklık aracılı formun

yaygın olmayan hali ve diyabetle ilişkilendirilen diğer genetik faktörlerden kaynaklanan diyabetes mellitus olarak sınıflandırılmaktadır (Association, 2004).

1.2 BİYOPOLİMERLER

Biyopolimerler, canlı kaynakların doğrudan kendilerinden, canlı yapıların metabolizmalarının ara ya da ana ürünlerinin sentetik olarak polimerizasyonundan veya canlı organizmaların doğrudan polimerize olarak üretimleri sonucunda elde edilebilen çok önemli bir polimer sınıfıdır. Biyopolimerler; mantarlar, kabuklu canlılar ve odun gibi doğal malzemelerden türevlendirilmektedirler. Özellikleri geri dönüştürülebilir olmaları, biyobozunur ve biyouyumlu olmalarıdır. Yapılarının doğal olmasından dolayı antibakteriyel özellik gösterirler (Schiffman ve Schauer 2008).

1.2.1 KİTİN ve KİTOSAN

Selülozdan sonra biyosferde yaygın olarak bulunan ikinci biyopolimer olan kitin, yengeç, karides gibi kabuklu su ürünlerinin ana bileşenidir ve böceklerin iskeletleri ile mantarların hücre duvarlarında bulunmaktadır (Guang 2002). Kitinin biyosferde bulunduğu yerler Tablo 1’de listelenmiştir.

Tablo 1: Kitinin biyosferdeki kaynakları (Kırubagaran 2005)

Deniz Canlıları	Böcekler	Mikroorganizmalar
Halkalı solucanlar	Akrepler	Yeşil alg
Yumuşakçalar	Örümcekler	Kahverengi alg
Deniz omurgasızları	Kolsu ayaklılar	Maya
Kabuklular	Brachiopods	Penicillium miselleri
Yengeç	Karıncalar	Ascomydes
Karides	Hamam böceği	Chytridiaceae
İstakoz	Arılar	Blastocladiaceae

Kitinin birçok türevi bulunmaktadır. Bunlar arasında en çok kullanılanı ve en önemli türevi kitosandır. Kitosan, 1811'de Henri Bracannot tarafından keşfedilmiştir. 1894 yılında Hoppe-Seyler, kitini 180°C'de potasyum hidroksit içerisinde işlemiş (deasetilasyon) "kitosan"ı elde etmiştir (Guang 2002). 1977 yılında Muzarelli kitin ve kitosan hakkındaki ilk kapsamlı yayını yapmıştır (Guang 2002, El-Tahlawy ve ark. 2005).

Kitosanın Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Kitosanın deasetilasyon derecesi ve moleküler ağırlığı, en önemli özelliklerindedir ve özellikle deasetilasyon koşullarına ve elde edildiği kaynağa (zaman, sıcaklık, NaOH konsantrasyonu) bağlı olarak değişmektedir. Molekül ağırlığı (25-2000 KD) ve deasetilasyon derecesi (%40-98) üretim koşullarına bağlı olarak değişkenlik gösterir (Cardoso 2012).

Kitosan; kitinin deasetile edilmesi sonucunda β -1,4-2-deoksi-2-aminoD-glikopiranoz ve β -1,4-2-deoksi-2-asetamidoD-glikopiranoz birimlerinden oluşan linear bir polisakkarittir (Vernazza ve ark. 2005).

Kitosan, non-toksik, biyouyumlu ve biyobozunurdur. Selülozdan farklı olarak, amino polisakkaritler ilginç biyolojik, fizyolojik ve farmakolojik özellikler gösterir. Yara iyileşmesinde, hemostatik aktivitede, immün yanıt artırımında, hipolipidemik aktivitede, mukoadezyonda ve antimikrobiyal aktivitede önemli uygulamaları vardır. Kitosan aynı zamanda, gen aktarımında, hücre ve doku kültürü çalışmalarında destek materyal olarak kullanılmaktadır (Kurita 2001, Kumar 2000).

Kitinin uygulamaları kitosan ile kıyaslandığında oldukça sınırlı olduğu bilinmektedir. Bunun nedeni ise kitin yapısal olarak selüloza benzemesine rağmen kimyasal olarak inert bir biyopolimerdir (Agnihotri ve ark. 2004). Çözünürlüğü oldukça sınırlı olan kitin ancak lityum klorür, hegzaflo-2-propanol, hegzafloaseton ve dimetilasetamit gibi yüksek toksik özeliği olan çözücülerde çözünebilmektedir. Bu farklılık kitinin endüstriyel uygulamalarda kullanımını kısıtlamaktadır. Kitin ve kitosan arasındaki ayrım için kriter, kitosanın seyreltik asit içerisindeki çözünürlüğüdür (Peter 1995).

Kitosanın kolesterol düşürücü etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Polikatyonik yapısı sayesinde (-) yüklü lipidlerle etkileşime girerek kolesterolü düşürdüğü düşünülmektedir. Kitosan bilinen herhangi bir yan etkisi bulunmamaktadır. Çünkü biyolojik olarak parçalanabilen kitosan çevreye zarar vermez, toksik özelliği bulunmaz ve vücut içerisinde tamamen zararsız ürünlere (amino şekeri) parçalanır (Berger ve ark. 2004).

Kitosan ve türevleri, biyoyumlu ve biyoparçalanabilir olmalarından dolayı, doku rejenerasyonunu hızlandırıcı özellikleri sayesinde kemik ve kıkırdak iyileşmesinde kullanılmaktadır (Kawakami ve ark. 1992, Muzarelli ve ark. 1994). Ratlarda yapılan çalışmalarda, eklem kıkırdağının iyileşmesi ve epifizel kıkırdağın büyümesinin incelenmiş ve kitosan çözeltisi sıçan diz eklem boşluğuna enjekte edilmiştir. Kitosanın, kıkırdak kalınlığında oluşan azalmayı büyük ölçüde yavaşlatmış ve eklem kıkırdak kondrosit dansitesini de belirgin olarak arttırdığı gösterilmiştir. Kitosanın eklem içindeki fibroblast, fibrosit ve monositler ile fibröz dokunun proliferasyonunu düzenlediği belirtilmektedir (Lu ve ark. 1999).

Kitosanın gıdalarda antioksidan olarak kullanılabilmesi ileri sürülmektedir. Bu durum lipid oksidasyonunda prooksidan olarak rol oynayan demir ve bakır gibi metal iyonlarını, pH<6,0 altındaki organik asit solüsyonunda çözündürülen ve katyonik polielektrolit özellik kazanan kitosanın bağlaması ile izah edilmektedir. Böylece kitosanın gıdalardaki oksidasyona neden olan metal iyonlarını bağlaması lipid oksidasyonunu engellemektedir (Kamil ve ark. 2002, Hammond 2004).

Yin ve ark. (2002) düşük molekül ağırlığına sahip kitosan oligosakkarit (KOS)'in 0,5 mg/ml düzeyindeki konsantrasyonlarında %80'den daha yüksek süperoksit radikal tutucu fonksiyona sahip olduğunu belirtmişlerdir. Molekül ağırlığının yanısıra KOS'un %90 gibi yüksek derecede deasetile edilmiş şeklinin süperoksit, karbon ve hidroksil merkezli radikal tutulumu için daha kullanılabilir olduğu ileri sürülmektedir (Je ve ark. 2004).

Kitosan, doğada yaygın şekilde bulunması ve toksik özellikte olmamasından dolayı derivatlarının antioksidan olarak kullanılmasına olan ilgi günümüzde gitgide artmaktadır (Sun ve ark. 2008). Kitosanın biyoyumluluk özelliği sayesinde, antifungal, antibakteriyal ve antitumoral özellikleri sıklıkla araştırılmaktadır. Ayrıca hemostatik olması, ağır metal, biyodegradasyon, yağ ve protein absorpsiyonu gibi

özellikleri sayesinde birçok alanda yaygın kullanılmaktadır. Buna ilaveten günümüzde en çok kullanıldığı alanlarının başında hücre kültürü, biyosensör uygulamaları, kontrollü ilaç salımı, gıda ve su arıtım sistemleri yer almaktadır (Majeti ve Kumar 2000).

1.3 SİNDİRİM SİSTEMİ

Besin, oral kavitede (ağız boşluğu) yapılar ve tükürük bezleri yardımıyla ön maserasyon, nemlendirme ve bolus oluşumundan sonra hızlı bir şekilde farinksten özofagusa geçer. Besin gastrointestinal kanaldan daha yavaş geçer ve mideden ve ince bağırsaklardan geçişte, sindirim, çözünüme hale getirme ve emilim ile ilişkili ana değişiklikler meydana gelir. Absorbsiyon, esas olarak ince bağırsak duvarında gerçekleşmektedir (Tanyolaç 1999, Ross ve Pawlina 2014).

1.3.1 İNCE BAĞIRSAKLAR

Midede mekanik ve kimyasal olarak parçalanan besin maddelerinin en önemli enzimatik değişimlere uğradığı yer bağırsaklardır. Karbonhidratlar ve proteinlerin ilkel unsurlarına ayrılması bağırsaklarda gerçekleşir. Polisakkaritler monosakkaritlere, polipeptitlerde aminositlere parçalanır. Aynı zamanda yağlarda bağırsaklarda yağ asitleri ve monogliseridlere dönüşürler. Bağırsaklarda enzim faaliyetleri, özellikle bağırsakların proksimal bölümlerinde olur. Yine bu bölümlerde ilkel unsurlarına ayrılan besin maddelerinin emilmesi söz konusudur (Tanyolaç 1999).

1.3.1.1 İnce Bağırsak Embriyolojisi ve Anatomisi

Bağırsaklar, embriyolojik gelişimin dördüncü haftanın başında, embriyonun baş ve kuyruk ile lateral yönde katlanmasıyla başlar. Endoderm ile döşeli vitellus kesesinin bir bölümünün embriyonun içinde kalarak tüp şeklindeki ilkel bağırsak kanalının oluşturmasıyla gelişir. İlkel bağırsağın kranial kısmı ön ve ara bölümü,

orta-kaudal kısmı ise arka bağırsak olarak isimlendirilir (Sadler 2005, Moore ve Persaud 2002).

Sindirim kanalının en uzun bölümü olan ince bağırsaklar, piloris'ten başlayarak valva ileocaecalis'e kadar uzanır. sekum ve piloris arasındaki İnce bağırsak; pelvis ve karın boşluğunun alt ve orta kısmında kıvrımlar şeklinde bulunur. İnce bağırsağın başlangıç kısmından bitiş kısmına doğru gidildikçe çapı daralır. İnce bağırsak, yaklaşık olarak 6-8 m uzunluğundadır. Karın ve pelvis boşluğunda kıvrımlar halinde bulunur (Hatiboğlu 2003, Arıncı ve Elhan 2006).

1.3.1.2 İnce Bağırsak Histolojisi

İnce bağırsaklar genel olarak sindirimin tamamlandığı ve emilim olaylarının en üst düzeyde gerçekleştiği yerdir (Yörük 2016). Sindirim kanalının en uzun komponentidir ve üç anatomic bölüme ayrılır. Bu bölümler duodenum, jejenum ve ileumdur olarak 3 bölüme ayrılır (Ross ve Pawlina 2014). Histolojik olarak bu üç bölümün farklılıkları olmasına karşın ortak birçok yapısal özellikleri vardır (Ross ve Pawlina 2014, Yörük 2016).

Duodenum ince bağırsağın birinci, en kısa ve en geniş kısmıdır. Midenin pilorsinde başlar ve duodenojejunal bileşkede sonlanır (Ross ve Pawlina 2014). Duodenum, mideden gelen kısmen sindirilmiş kimusun yanında mideden pankreastan, karaciğerden ve safra kesesinden gelen, ayrıca sindirim enzimlerini, enzim prekürsörlerini ve sindirim ile absorpsiyona yardımcı olan diğer ürünleri içeren salgıları alır. Duodenum 4 tabakadan oluşur: Tunika mukoza ve alt kısımları lamina epitelyalis, lamina propriya, lamina muskularis, duodenum (Brunner) bezleri ile birlikte alt kısım bağ dokusu tabakası olan Submukoza, içte sirküler dışta longitudinal seyirli kas tabakası Tunika Muskularis ve visseral periton tabakası olan Tunika Serozadır (Ross ve Pawlina 2014, Yörük 2016).

Jejenum duodenojejunal bileşkede başlar ve ince bağırsağın beşte ikilik kısmını oluşturur. Morfolojik özellikleri ileuma benzemek üzere kademe kademe

değişir. Jejenum ince bağırsakta besinlerin emiliminin gerçekleştiği asıl kısımdır (Ross ve Pawlina 2014).

İleum ince bağırsakta su ve elektrolitlerin geri emildiği başlıca kısımdır. Temelde jejenum ile aynı histolojik özelliklere sahiptir. Ancak ileumdaki villuslar sıklıkla yaprak benzeridir ve lamina propriyadaki lenfoid doku, ileumun antimezenterik tarafında çok sayıda bulunan küçük ve büyük lenf nodülleri halinde organize olmuştur. Nodüller Peyer plakları olarak adlandırılan geniş lenfoid doku kümelerini oluşturmak üzere kaynaşır (Ross ve Pawlina 2014).

İnce bağırsakta emilim yüzeyini genişletmek için çeşitli yüzey farklılaşmaları; dairesel katlantılar (Kerkring valfleri/valvulae conniventes, plika sirkularis), bağırsak villusları ve mikrovilluslar vardır. İnce bağırsak yüzeyini villuslar 10, mikrovilluslar 20, dairesel katlantılar 3 kat büyütür. Hepsi birden yüzeyi 600 kat arttırarak 200 m²'lik alan oluştururlar (Erdoğan ve ark. 1996, Junquera ve ark. 1998, Gartner ve Hiatt 2001).

Dairesel katlantılar tunika mukoza ve submukozanın birlikte yaptığı sirküler, spiral yada yarım ay şeklinde katlanmalardır. Duodenum'un ilk 5 cm'lik bölümü dışında çok sayıda ve uzun katlantılar gözlenir. Jejenum'da sıktır ve iyi gelişmişlerdir (Junquera ve ark. 1998, Gartner ve Hiatt 2001, Gökmen 2003). İleum'un orta kısımlarına kadar olan bölüme doğru sayıları giderek azalarak küçülürler ve ileum'un distal bölümüne gidildikçe de kaybolurlar. Bağırsak villusları damardan zengin küçük parmak şeklinde çıkıntılar (1 mm² de 40-50 adet) olur ve ince bağırsağın bütün yüzeyinde bulunurlar. Villuslar, duodenum ve jejeunumda çok sayıda yassı ve geniş, ileumda bölümünde az sayıda ve silindir şekillidir (Erdoğan ve ark. 1996, Gartner ve Hiatt 2001, Arıncı ve Elhan2006).

Mikrovilluslar, bağırsak villuslarının üzerini saran epitel hücrelerinin apikal yüzündeki yüzeysel farklılıklardır. Bir kısım sitoplazmayla beraber hücre zarının lümenine doğru yaptığı parmağımsı çıkıntılardır. Uzunlukları 1 µm; çapları ise 0,5 µm'dir. yüzeylerinde glikokaliks örtüsü bulunur. Hücre yüzeyine dik ve birbirlerine koşut yerleşmişlerdir ve eşit boydadırlar. Bu nedenle çizgili kenar olarak isimlendirilirler. Bağırsak örtü epitelinde 1mm² de yaklaşık 3000-4000 adet

mikrovillus bulunur (Erdoğan ve ark. 1996, Gartner ve Hiatt 2001, Akay 2004, Ross ve Pawlina 2014).

Glanduler mukoza özelliğinde olan ince bağırsakların duvar yapısı lumenden itibaren tunika mukoza, submukoza, tunika muskularis ve tunika seroza katmanlarından oluşmaktadır (Ross ve Pawlina 2014).

Tunika mukoza

Alt katmanları lamina epitelyalis, lamina propriya ve lamina muskularis olan bu katmanın en karakteristik özelliği mukozal uzantılar olan villus intestinalislerdir. İnce bağırsağın yüzey epiteli kendini her 5-6 günde bir yenilemektedir. Kök hücreler mukozal bezlerin tabanına sınırlandırılmıştır ve hücre replikasyon zonu bezin alt yarısına sınırlandırılmıştır. Hücreler villusun üzerine doğru göç ederler ve villusun ucundan dökülürler. Tüm epitelyal hücreler, absorbtif hücreler, goblet hücreleri, enteroendokrin hücreler ve Paneth hücreleri aynı kök hücre popülasyonundan köken almaktadır. Enteroendokrin hücreler diğerlerine göre yavaş göç ederler (Gartner ve Hiatt 2001, Ross ve Pawlina 2014).

Lamina epitelyalis Çizgili tek katlı yüksek prizmatik hücrelerden oluşmaktadır. Bağırsağın tunika mukozasının epitel hücreleri, absorbtif hücreler (enterositler) ve bu hücrelerin arasında bulunan enteroendokrin hücreler, Goblet hücreleri, M-hücreleri, kök hücreler, ve Paneth hücreleri olmak üzere 6 tür hücre vardır (Erdoğan ve ark. 1996, Ross ve Pawlina 2014).

Bu hücrelerin kısaca görevleri şöyledir;

Enterositler, epiteldeki hücrelerin çoğunluğunu oluşturan primaztik şekilli ve çekirdekleri bazalde yerleşik, primer fonksiyonları absorpsiyon olan hücrelerdir. Enterositler aynı zamanda son sindirim ve absorpsiyonun yanında, suyun ve elektrolitlerin salgılanması için gerekli enzimleri üreten salgılayıcı hücrelerdir (Ross ve Pawlina 2014).

Goblet hücreleri, uniselüler (tek hücreli) müsin salgılayan endoepitelyal bezlerdir. Sayıları duodenumdan İleuma gidildikçe artar (Junquera ve ark. 1998, Ross ve Pawlina 2014).

Enteroendokrin hücreler, çeşitli parakrin ve endokrin hormonları üretirler. Bağırsak bezlerinin bazalinde bulunurlar. Sayıları duodenumdan ileuma gidildikçe azalır. Enteroendokrin hücreler, sitoplazmanın bazal kısmında yerleşmiş olan ince granüllü ve bu granül yapısının üst kısımlarında yer alan çekirdekleri ile epitel hücrelerinden ayrılırlar (Ross ve Pawlina 2014).

M hücreleri (mikrokatlantı hücreleri), lamina propriyadaki genişlemiş lenf nodüllerini kaplayan modifiye enterositlerdir. Bağırsak lümeninden lamina propriaya antijenleri taşıyan ve bu bölümde fagositoz yapan özelleşmiş epitel hücreleridir (Junquera ve ark. 1998, Ross ve Pawlina 2014).

Paneth hücreleri, ana fonksiyonları antimicrobial maddeler salgılayarak doğal mukozal bağışıklığı sürdürmektir (Erdoğan ve ark. 1998, Ross ve Pawlina 2014). Bağırsak bezlerinin tabanında yerleşiktirler. Sayılarının artması patolojik olgu göstergesidir. (Ross ve Pawlina 2014).

Lamina propriya: Epitelin altındaki gevşek bağ dokusu katıdır. Epitelin altında başlayarak lamina muskularis mukozaya kadar uzanır. Damar ağlarından ve retiküler liflerden zengindir. Lamina propriya'da; epitelin altındaki bağ dokusuna doğru yapmış olduğu girintilerden oluşan bağırsak bezleri (Lieberkühn bezleri-kriptler) bulunur. Burada ayrıca lenfatik ağa yönelen kör sonlu lenf damarlar (lakteal) bulunur. İleum lamina propria'sında diğer bölümlerden farklı olarak Peyer plakları (folliculi lymphatici agregati) görülür (Erdoğan ve ark. 1996, Junquera ve ark. 1998, Eroschenko 2001).

Lamina muskularis: İnce, düz kas hücreleri tabakasından oluşmaktadır. Villusların lamina propriyasına düz kas hücre kordonları uzanır (Junquera ve ark. 1998).

Submukoza

Sıkı bağ dokusundan ve adipoz hücreleri içeren alanlardan oluşmaktadır (Ross ve Pawlina 2014). Elastik liflerden zengin düzensiz sıkı bağ dokusudur. İçinde büyük kan ve lenf damarları ile sinirler; yer yer de yağ doku kümeleri bulunur. Epitel tabakasının yakınında ve düz kas tabakası içinde bulunan sinir sonlanmalarından, bağırsak içeriğinin bileşimine ve bağırsak duvarının genişleme derecesiyle ilgili

uyarıları alan nöron gruplarından oluşan submukozal pleksus'u (Meissner) içerir. Duodenum'a özgü olarak bu katmanda özel bezler (glandula submucosae, Brunner bezleri) bulunur (Erdoğan ve ark. 1996, Junquera ve ark. 1998, Gartner ve Hiatt 2001, Eroschenko 2001).

Tunika Muskularis

İçte sirküler olarak düzenlenmiş kas hücreleri, dışta longitudinal olarak düzenlenmiş düz kas hücreleri tabakasından oluşur. İki kas tabakası arasında miyenterik pleksusun (Auerbach pleksusu) ana komponentleri bulunur. İnce bağırsakta iki tip müküler kontraksiyon gerçekleşir. Segmentasyon kasılması içeriğin hem proksimale hemde distale doğru yer değiştirmesini sağlar. Bu tip kasılmada primer olarak sirküler kas tabakası görev alır. İkinci tip kasılma olan peristalsiste ise hem sirküler kas tabakası hem de longitudinal kas tabakalarının koordine hareketleri ile gerçekleşir ve intestinal içeriği distale doğru hareket ettirir (Ross ve Pawlina 2014).

Tunika Seroza

Duodenum'un ikinci ve üçüncü kısımları dışında İnce bağırsaklar periton ile sarılmışlardır. Tunika seroza tek katlı yası mezotel hücreleri ve altındaki ince gevşek bağ dokusu tabakası olan tela submukoza'dan oluşur. Bağ dokusunda kan ve lenf damarları ve damarlar yakınında mast hücreleri içerir (Erdoğan ve ark. 1996, Gartner ve Hiatt 2001, Kierszenbaum 2006).

1.4 PROLİFERATİF HÜCRE NÜKLEER ANTİJENİ (PCNA)

Proliferatif hücre nükleer antijeni (PCNA) başlangıçta siklin hücrelerinde yüksek seviyelerde eksprese olduğu tespit edildiği için bir siklin olarak tanımlanmıştır. PCNA ekspresyonu hücre döngüsünde, G1 fazının son %5'i ve S-fazının ilk %35'i sırasında meydana gelmektedir (Kelman 1997, Paunesku ve ark. 2001). Bundan dolayı hücrede bulunan PCNA seviyesi, proliferatif hücrelerin ayırt edilmesinde bir belirteç olarak kullanılmaktadır (Foley ve ark. 1991, Özyayın 2009). PCNA, DNA'yı çevreleyerek yüzük benzeri bir yapı oluşturur ve hücrede bulunan yuvarlak yapılı (ring-shaped) tek proteindir (Kelman 1997, Avunduk ve ark. 2000). PCNA, hücrelerde

DNA sentezini katalize eder ve DNA tamiriyle görevli olan DNA-polimeraz enzimlerinin kofaktörü olarak görev yapar (Kelman, 1997).

Çeşitli siklin genlerinin sekansları incelendiğinde, PCNA'nın proliferasyon için gerekli olmasına rağmen ne yapısal olarak ne de evrimsel olarak siklin proteinleri ile ilişkili olmadığı, bu nedenle proliferatif hücre nükleer antijeni ekspresyon modelinden esinlenen isim kullanılmaktadır (Krishna ve ark. 1994). Çekirdekte görevli olan PCNA'nın hücre çoğalmasındaki rolü kısmen anlaşılmış olmasına karşın, sitoplazmada görev yapan PCNA'nın fonksiyonu henüz yeterince anlaşılmamıştır (Karahana ve ark. 2008). Ayrıca PCNA'nın DNA sentezindeki direkt etkileri olduğu bilinmesine rağmen tüm etkileri henüz net olarak bilinmemektedir (Matsumoto ve ark. 1987). PCNA, hücrenin ana DNA replikasyonu ve tamir mekanizmalarında yer alan halka benzeri bir proteindir. DNA polimerazların kayan kıskaçı rolündeki PCNA, hem ökaryotların hem de prokaryotların benzer işlemlere sahiptir ve ökaryotik filogenetik ağaç boyunca benzer işlevleri korur (Krishna ve ark. 1994). PCNA, DNA replikasyonu için hayati bir enzim olan 36.000 moleküler ağırlıklı bir DNA polimeraz delta yardımcı proteindir. Aminoasit sayısı 261 olan PCNA, hem bitki hem de hayvan hücrelerinde bulunmaktadır (Foley ve ark. 1991, Essers ve ark. 2005). PCNA, 1985'teki keşfinden itibaren yoğun olarak çalışılmış, ancak birçok işlevi ve çeşitli ekspresyon kalıpları, PCNA ile ilişkili her yolu keşfetmeyi zorlaştırmıştır (Paunesku ve ark. 2001).

PCNA proteini, hücrelerin hem yaşamında hemde ölümü sırasında üç çeşit işleve sahiptir. DNA replikasyonu ile meşgul olmadığına, PCNA (en sık olarak p53'ün kontrolü altında), hücrenin zarar gördüğü durumlarda DNA hasarı durdurma ve onarıma gönderme, ya da hücrenin tamiri mümkün olmadığına, hücrelerin apoptozuna uğramalarına neden olmaktadır (Paunesku ve ark. 2001). Ayrıca PCNA'nın hücre bölünmesinde rol alan diğer proteinleri koordine etme ve onların görevlerini düzenleme fonksiyonları bulunmaktadır (Maga ve Hubscher 2003).

İmmünohistokimyasal yöntemlerle yapılan boyamalarda düşük düzeyde sitoplazmada ve yüksek oranda çekirdekte lokalize olduğu tespit edilen PCNA'nın, osteosarkoma ve lenfoma hücrelerinde, yüksek oranda farklılaşma yeteneği bulunan fetal hücrelerde ve plasentadaki sitotrofoblastlarda bulunduğu bildirilmektedir (Karahana ve ark. 2008). PCNA'nın bir hücrede yaşam veya ölümden sorumlu olan temel moleküllerden biri olduğu düşünülmektedir (Paunesku ve ark. 2001).

1.5 PEPTİT-YY (PYY)

PYY, güçlü bir santral oreksijenik hormon olan nöropeptid Y (NPY) ve pankreatik endokrin hücrelerinden salınan pankreatik polipeptid, peptidlerin polipeptid kıvrım ailesine aittir. PYY, NPY ve polipeptidin amino asit dizinlerinde önemli ölçüde homoloji bulunmaktadır ve bu yapılar, polipeptid kıvrım olarak bilinen, U şeklinde tersiyer bir yapıya sahip olma şeklinde ortak bir özellik gösterirler (Tatemoto ve ark. 1982, Conlon 2002). PYY, dokularda ve dolaşımında iki şekilde bulunur; PYY₁₋₃₆ ve PYY₃₋₃₆ (Ekblad ve Sundler 2002). PYY distal ince bağırsak ve kolonun enteroendokrin L hücrelerinde salınır (Huda ve ark. 2006).

İnsanlarda PYY, gastrointestinal sistem boyunca yerleşmiş endokrin L hücrelerinde bulunur; en çok ifade edildiği yerlerin başında rektum gelir; bunu ileum ve kolon izler (Adrian ve ark. 1985). Salınımı intraluminal besin maddeleri, glikoz, safra asitleri, lipidler, kısa zincirli yağ asitleri ve amino asitlerce uyarılır. Salınımı aynı zamanda diğer bağırsak peptidlerine de modüle edilir: vazoaktif intestinal peptid (VIP), kolesistokinin (CCK), gastrin ve glukagon-like peptide 1 (GLP-1) (Ballantyne 2006).

PYY sadece mukozada bulunur ve içeriği proksimalden distal gastrointestinal kanala doğru artar. Sigmoid kolonda midedekinden 400 kat daha çok mukozada bulunur (Adrian ve ark. 1985, Ferri ve ark. 1988). Salınım DPP-IV ile metabolize olunca PYY (3-36) kan-beyin bariyerini geçer ve hipotalamusun arkuat nükleusunda nöropeptid Y (NPY) nöronlarındaki Y2 reseptörlerine bağlanır ve burada komşu proopiomelanokortin (POMC) nöronları üzerindeki tonik inhibisyonu kaldırarak tokluğa neden olur (Batterham ve ark. 2002).

PYY'nin intraserebroventriküler uygulanması ratlarda gıda alımını artırır (Stanley ve ark. 1985, Clark ve ark. 1987). Ratlarda dördüncü ventriküle PYY infüzyonu artmış gıda alımı ile sonuçlanır ve etki, üçüncü ventrikül ve lateral ventriküle PYY infüzyonları ile gözleneneye benzer (Corp ve ark. 2001). PYY direkt olarak ratların hipotalamik arkuat nükleusuna enjekte edildiğinde NPY yi azaltır ve POMC'yi artırır ve azalmış gıda alımına yol açar (Broberger 2005). PYYnin santral

uygulanması azalmış pankreatik sekresyon ve gecikmiş gastrik boşalmaya da neden olur. Ratlarda beyinkökünün postrema alanına direkt infüzyon CCK'e bağlı pankreatik salgıyı inhibe eder (Deng ve ark. 2001). PYY ve diğer Y2 reseptör agonistleri beynin arka tarafındaki dorsal vagal komplekse enjekte edildiğinde tiroid releasing hormone (TRH) stimülasyonuna bağlı gastrik boşalmada azalma ile sonuçlanır (Chen ve ark. 1997).

1.6 KOLESİSTOKİNİN (CCK)

Mide, ince bağırsak, kalın bağırsak ve pankreas gibi sindirim organlarında bulunan endokrin hücrelerden bir dizi hormon üretilir. Salgılanan bu hormonların bazıları sindirim kanalı duvarında, karaciğerde ve pankreastaki salgı hücreleri üzerine etki gösterirken, bir kısmı sindirim kanalındaki düz kas hücreleri üzerinde etkilerini gösterirler (Koeppen ve Stanton 2009). CCK, duodenumdaki endokrin hücreler tarafından lipid ve polipeptidlerin varlığında salgılanan bir hormondur (Liman 2010).

Kolesistokinin (CCK) peptid hormonların 'bağırsak-beyin' ailesinin bir üyesidir. Duodenum, jejunum, proksimal ileum mukozasında lokalize enteroendokrin hücrelerden (I hücreler) ve miyenterik plexus ile beyindeki özelleşmiş nöronlardan da salınır. CCK, bağırsak ve beyinde birçok regülatör fonksiyonlar gösterir. Gastrointestinal sistemde CCK; gastrik boşalma ve distansiyon, safra kesesi kontraksiyonu, pankreatik sekresyon ve intestinal motiliteyle ilişkilidir (Liddle 1997,2003). CCK, sekretin ve gastrin ile birlikte klasik üçlü bağırsak hormonları olarak adlandırılırlar (Rehfeld 2004). Sindirim sisteminde bağırsaklardan salgılanan hormon ve peptidlerin yapısı homolog iki aileden oluşur. İlk grup gastrin ve CCK, ikinci grup VIP, GIP ve sekretindir (Johnson 1991). Gastrin ve CCK karboksi terminalinde ortak beş aminoasit dizisine sahiptirler. Ortak olarak sahip oldukları bu karboksi terminali sayesinde benzer etki göstermektedirler ve bu özelliklerinden dolayı bu iki hormona kardeş hormonlarda denilmektedir (Johnson 1991, Cummings 2007).

Gastrointestinal sistem içerisinde CCK, hem salgısal hemde nöral dokularda bulunur. Özellikle duodenal ve jejunal mukozalarda lokalize olan enteroendokrin hücrelerden yüksek konsantrasyonlarda salgılanır (Buchan ve ark. 1978). Bunun yanı sıra CCK, enterik sinirlerde de bulunmaktadır. CCK içeren nöronların en bol bulunduğu bölgeler kolon ve ileumdur (Larsson ve Rehfeld 1989). CCK içeren nöronlar mezenterik ve submukozal pleksusların yanı sıra dairesel kaslarda da bulunur (Moran ve Kinzig 2004).

CCK daha önceleri safra kesesi kasılmasının, pankreas enziminin salgılanmasının, pankreas bezinin büyümesinin ve bağırsak hareketliliğinin kontrolünden sorumlu olan gastrointestinal hormon olarak kabul edilmekteydi ve pankreozimin olarak adlandırıldı. Daha sonra ilk belirtilen etkisi safra kesesi üzerine olduğundan bu hormona Kolesistokinin adı verildi (Liddle ve ark. 1985, Morisset 2005).

CCK'nın birçok moleküler formu bulunmaktadır. Canlı türlerinde kanda, bağırsaklarda ve beyinde CCK'nın aktif formları CCK-58, CCK-33 ve CCK-8 aktif bulunan formlarıdır (Reeve ve ark. 1994).

CCK birçok fonksiyonunu, hedef organlarda yerleşmiş G-birleşik CCK reseptörlerine bağlanarak gösterir. Şimdiye kadar iki farklı reseptör tanımlandı: CCK-1 ve CCK-2 (daha önceden sırasıyla CCK-A ve CCK-B diye biliniyorlardı). CCK-1 reseptörleri başlıca gastrointestinal kanalda, myenterik plexus ve vagal afferentlerde bulunur. CCK-A reseptörü safra kesesi kontraksiyonu, pankreatik enzim sekresyonu, gastrik boşalmayı ve beslenmeyi inhibe etme ve dopamine etkilerini güçlendirme üzerine fonksiyonları vardır (Kachur ve ark. 1991, Jacqueline ve ark. 1994). CCK-2 reseptörleri ağırlıklı olarak beyinde eksprese edilir. CCK-1, sulfatlanmış CCK'yı bağlamak için oldukça spesifiktir, CCK-2 gastrin ve CCK'yı eşit afiniteyle bağlar (Smith ve ark. 2002).

1.7 DİYABETES MELLİTUS - KİTOSAN OLİGOSAKKARİT - İNCE BAĞIRSAK

Diyabetli hastalarda gastrointestinal semptomlar olan diyabetik enteropati (DE), diyare, dışkı inkontinansı, kabızlık, dispepsi, bulantı ve kusma veya bu semptomların bir kombinasyonu şeklinde kendini gösterir ve diyabetli hasta popülasyonunun %75'inde görülür. DE genellikle diğer diyabetik komplikasyonların oluşumunda ortaya çıkar (Bytzer ve ark. 2001, D'Addio ve Fiorina 2016).

Diyabet organizmalarda serbest radikal ve plazma yağ asidi düzeyini artışa, antioksidan düzeyinde de azalmaya neden olarak endotel hücrelerde hasara yol açabilmektedir. Bozulmuş glikoz, lipid ve antioksidan seviyelerinin iyileştirilmesi ile diyabete bağlı komplikasyonların engellenmesinde faydalı olabileceği yönündeki gelişmeler dikkate alındığında KOS'un bu yönden dolaylı olarak etki edebileceği düşünülmektedir (Lee ve ark. 2003). Bununla ilgili Miura ve ark. (1995) yaptıkları çalışmalarında, polimerik kitosanın neonatal diyabetik farelerde kan glikoz ve lipid düzeyini düşürücü etkisinin olduğunu bildirmişlerdir.

Kim ve ark. (2009)'nın yaptıkları STZ ile oluşturulmuş diyabetik ratlarda kitosan oligosakkaritin (KOS) uzun dönemli etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, KOS'un β hücrelerinin proliferasyonunu ve adacıkların neogenezisini hızlandırdığını ve diyabetik sıçanlarda insülin ile immuno-işaretleme gösteren hücrelerde insülin sekresyonunun arttığını belirtmişlerdir. Bu sonuçlar ışığında KOS'un glikoz metabolizmasının düzenlenmesinde önemli bir rol oynayabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca pankreatik β hücrelerinin yenilenmesi sınırlı bir potansiyele sahip olduğu için KOS ile tedavinin önemli olabileceği belirtilmiştir (Kim ve ark. 2009, Liu ve ark. 2007). Lee ve ark. (2003)'nin STZ kullanarak yapay olarak oluşturdukları diyabetli ratlara %0.3 KOS'u dört hafta boyunca uygulamışlar ve deney sonucunda KOS uygulanan diyabetik ratlarda kontrol grubuna göre açlık glikoz düzeyinin %19 azaldığını, glikoz toleransının önemli düzeyde arttığını ve serum tokluk-triglisert düzeylerinin %49 azaldığını belirtmişlerdir.

Sonuç olarak araştırmacılar, KOS'un diyabet oluşturulan ratlarda trigliseriti azaltıcı, glikoz toleransını ve insülin sekresyonunu yükseltici etkilerinin olduğunu ve buna ek olarak mitokondriyalardaki vakuolleşme ve miyofibrillerdeki ayrılma ile

dejenerasyona uğrama gibi diyabetik kardiyomiyopati olgularını azaltabileceğini vurgulayarak KOS'un antidiyabetik ajan olarak faydalı olabileceğini belirtmişlerdir (Kondo ve ark. 2000, Lee ve ark. 2003).

Kitosan kullanımının ince bağırsak dokusu duodenumunda villus boyunu uzattığını belirten çalışmalar vardır (Xu ve ark. 2013, Wan ve ark. 2017, Hu ve ark. 2018). Aynı zamanda kitosanın bağırsak büyüme performansını, bağırsak morfolojisini, bağırsak epitel hücrelerindeki bariyer fonksiyonlarını, bağırsak sitokin ekspresyonlarını ve antioksidan sistemlerini etkilediği bilinmektedir (Hu ve ark. 2018)

Pankreasta gelişen değişimlerle birlikte kendini gösterebilen diyabetes mellitus gibi, diyabet oluşumunda pankreas dokusunda oluşturduğu zararlı etkileri bulunmaktadır (Bjelakovic ve ark. 2005). Buna ek olarak diyabetes mellitus'un bütün doku, organ ve sistemleri etkileyebildiği gibi gastrointestinal sistem organlarını da etkilediği düşünülmektedir. Diyabetli hastalarda gastrointestinal sistem hastalıklarına oldukça sık rastlanmaktadır (Zhao ve ark. 2003, Bjelakovic ve ark. 2005, Bragg 2008). Diyabet şikayeti ile kliniğine başvuran hastaların %75'i ciddi bir şekilde gastrointestinal problemler yaşadıklarını belirtmektedirler (Zhao ve ark. 2003).

Wolosin ve Edelman (2000), oral kaviteden başlayıp (özofagus, mide, ince ve kalın bağırsaklar) anorektal bölgeye kadar olan bütün gastrointestinal sistemin de diyabetten etkilendiğini bildirmişlerdir. Bundan dolayı diyabetli hastalarda görülen gastrointestinal semptomlar kompleks bir yapı oluşturur. Bu şikayetler arasında reflü, disfaji, erken doyma, kusma, abdominal ağrı, bulantı, kabızlık veya ishal diyabetli hastalarda sık rastlanılanlardır (Zhao ve ark. 2003). Bütün gastrointesitinal sistem dokularının (özofagus, mide, ince bağırsaklar, kalın bağırsaklar, pankreas, karaciğer, safra kesesi) DM'den etkilendiği kabul edilmektedir (Bjelakovic ve ark. 2005).

Diyabet ve komplikasyonları gastrointestinal sistem hastalıkları ile henüz ilişkilendirilemediği için birçok diyabetli hastanın gastrointestinal şikayetlerine tanı koyulamadığı için tedavi edilemediği bildirilmektedir (Bragg 2008).

DM'li hastalarda gözlemlenen bağırsak sorunlarının ana nedeni DE sisteminde bulunan sinir hücrelerinin (nöronların) disfonksiyonu şeklinde tanımlanmakta ve enterik nöropati olarak adlandırılmaktadır (Bjelakovic ve ark. 2005, Bragg 2008). Bu şekilde istemsiz ya da otonomik olarak isimlendirilebilecek nöropati, intestinal motiliteyi ve fonksiyonlarının inhibisyonunu etkileyebilir. Dolayısıyla da gelişen bu

nöropati, intestinal sistem fonksiyonlarında yavaşlama ya da hızlanma oluşturarak karmaşık semptomlar şeklinde hastalarda ortaya çıkmaktadır. İnce bağırsaktaki içerik geçişi sırasındaki motilitede oluşan bozukluk sebebi ile bağırsak hareketliliğinin yavaşlaması sonucunda, içerikte abdominal ağrıya ve diyareye neden olan bakteri artışı gözlenmektedir (Wolosin ve Edelman 2000). Diyabetik hastalarda genellikle mide rahatsızlıkları asemptomatik seyrederken bunun aksine ince bağırsak dokusunda meydana gelen rahatsızlıklar semptomatik bir şekilde kendini gösterir ve bu durum hastalarda diğer durumlardan daha fazla rahatsızlık verici hale gelmektedir. İnce bağırsak dokusunda meydana gelen bu rahatsızlıkların başlıcaları diyare, malabsorpsiyon olarak gösterilmektedir (Bjelakovic ve ark. 2005).



2. MATERİYAL VE YÖNTEM

2.1. MATERİYAL

2.1.1. Deney Hayvanlarının Temini

Deney hayvanları Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi, Erzurum'dan 30 adet erkek Spraque Dawley rat temin edilmiştir. Deneyde ratlarda yapılan uygulamalar için Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi KAÜ-HADYEK/2017-085 kodlu Etik Kurulu onayı alındı. 30 adet yeni nesil erkek Spraque Dawley rat (ortalama 8-12 haftalık) 1 hafta boyunca standart rat yemi (Erzurum Bayramoğlu Yem Fabrikası A.Ş'den temin edilen) ile beslendi ve su alımı serbest bırakıldı. Deney hayvanları gruplara ayrılarak standart rat kafeslerinde, $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ ısı ve $\%50\pm 5$ nem oranı olan ve 12 saat ışık ile 12 saat karanlık olan standart bir ortamda tutuldu.

2.2. METOT

Deney hayvanları 6'şarlı olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır.

Kontrol grubu n:6

Sham grubu n:6

Diyabet grubu n:6

Kitosan oligosakkarit grubu (KOS) n:6

Diyabet + KOS n:6

Çalışmada yapılacak olan uygulamalar ratların 1 haftalık ortama uyum sağlamanın ardından diyabet oluştuğu teyit edildiği gün 0. gün kabul edilerek 3., 7. ve 14. günlerde yapılmıştır.

2.2.1. Gruplara Yapılan Uygulamalar

Kontrol grubu

Kontrol grubuna 14 günlük süreç içerisinde herhangi bir uygulama yapılmamıştır.

Sham grubu

Sham grubundaki ratlara sitrat tamponu (pH 4.5'deki 0.1 M) intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Diyabet oluşumu sağlanmasından itibaren sham grubuna KOS grubu ile aynı anda 14 gün boyunca oral gavaj ile su verilmiştir.

Diyabet grubu

Diyabet grubunda bulunan ratlara deneysel olarak diyabet oluşturmak için kullanılan streptozotosin (STZ) (Sigma S0130-100 MG) soğuk zincir şartlarında temin edildi. -20 °C' de muhafaza edildi.

Diyabet grubuna 8 saat ağlık sonrası sitrat tamponu (pH 4,5 de 0.1M) iğerisinde eritilen streptozotosinden (STZ), her hayvana 50 mg/kg olacak şekilde tek doz canlı ağırlıklarına gře ayarlanarak intraperitoneal (i.p) uygulandı (Ar'Rajab ve Ahren 1993). Denekler enjeksiyon uygulamasından 4 saat sonra standart rat yemi ve iđe suyu ile beslendi. Diyabet grubuna STZ uygulamasından 72 saat sonra 8 saatlik ağlık sonrası ratlardan alınan kanda glukometre (Accu- Chek- Go, Roche) ile ۆlęölerek 250 mg/dl'nin ۆzerinde kan glikoz dűzeyi olanlar diyabetli olarak kabul edildi (Kanitkar ve Bhonde 2004).

KOS grubu

Diyabet oluřumu teyit edildiđi gűnden itibaren KOS grubundaki ratlara 14 gűn boyunca 500 mg/kg oranında kitosan oligosakkarit distile su ile ۆzđdűrűlerek oral gavaj ile verilmiřtir (Ju ve ark. 2010).

Diyabet + KOS grubu

Grupta bulunan ratlara ۆnce diyabet grubu ile birlikte sitrat tamponu STZ, her hayvana 50 mg/kg olacak şekilde tek doz canlı ağırlıklarına gře ayarlanarak intraperitoneal (i.p) olarak uygulanmıştır. Diyabet oluşumu teyit edildikten 72 saat sonra KOS grubu ile birlikte 500 mg/kg oranında kitosan oligosakkarit 14 gűn boyunca oral gavaj ile verilmiştir.

2.2.2. Canlı Ağırlık ۆlęölümü

Ratların canlı ađırlıkları, STZ enjeksiyonu yapıldıđı gűnden kesim gűnűne kadar, 0., 3., 7. ve 14. gűnlerde 8 saatlik ađlık sonrası hassas dijital terazi (Precisa-XB220A) ile tartıldı.

2.2.3. Kan-Glikoz Değerlerinin ۆlęölümü

Ratların kan-glikoz değerleri 8 saatlik ağlık sonrası 0., 3, 7. ve 14. gűnlerde ۆlęölđű. Kullanılan STZ uygulamasından 72 saat sonra 8 saat ađ bırakılan ratların kuyruk uğlarından alınan kanda el glukometresi (Accu- Chek- Go, Roche) kullanılarak

kan- glikoz değerleri ölçüldü. Kan glikoz değeri 250 mg/dl ve üzerinde olanlar diyabetli kabul edildi.

2.2.4. Dokuların Alınması ve Preparasyon Aşaması

14 günlük deney aşaması tamamlandıktan sonra eter anestezisi altında ratlara servikal dislokasyon uygulanarak bağırsak dokuları alındı. Daha sonra ince bağırsak kısımları duodenum, jejenum ve ileum ayrı ayrı %10'luk formaldehit solüsyonuna alındı. Ardından dokular rutin histolojik işlemlerden (takip, parafine gömme) geçirilerek kesit alınmak üzere hazırlandı. Bütün grupların duodenum, jejenum ve ileum olmak üzere her birinden 5µm kalınlığında kesitler alındı.

2.2.5. Histokimyasal İnceleme

Histolojik incelemeler için alınan kesitlere Crossman üçlü boyaması (triple boyama), Periodic Acid Schiff (PAS) ve Hematoksilen&Eosin (H&E) boyamaları uygulandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda (Olympus Bx51, Japan) histolojik ve histopatolojik bulgular değerlendirilerek gerekli görülen olgular fotoğraflandırıldı.

2.2.6. İmmunohistokimyasal İnceleme

PCNA, PYY ve CCKAR antikorlarının ince bağırsak dokusundaki immunolokalizasyonunu incelemek için Avidin-Biotin-Peroksidaz kompleks (ABC) tekniği (Hsu 1981) uygulandı. Kesitler deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden geçirilerek fosfat buffer solüsyonunda (Fosfat buffer salin (PBS)) çalkalandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesinin inhibe edilmesi için %3'lük H₂O₂'de (0.1 M'lik PBS'de hazırlanmış) 10 dakika inkübe edildi. PBS ile yıkandıktan sonra (3x5 dk) antijenleri açığa çıkarmak için 10 dk mikrodalgada ısı (800 watt) uygulandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra (3x5 dk) spesifik olmayan bağlanmaları engellemek için kesitler, 10 dakika süreyle UV Blok serumda (%10) inkübe edildi. Kesitler oda sıcaklığında anti-PCNA antibody (ab18197, Rabbit Polyclonal) (1:500), PYY antibody (ab131246, Rabbit Polyclonal) (1:400) ve CCK-AR Antibody (sc514303, Mouse Monoclonal) (1:400) ile 1'er saat inkübasyona bırakıldı.

Primer antikor uygulaması sonrası PBS ile yıkamanın ardından kesitler üzerine sekonder antikor (Biontynylated Goat Anti-Rabbit (Lab. Vision, 510.991.2800)) ilave edilerek 30dk oda ısısında bekletildi. Fosfat buffer salinde yıkanan (3x5 dk) kesitlere streptavidin horse radish peroksidaz ilave edilerek oda 15 dk tutuldu. Tekrar PBS ile yıkanan (3x5 dk) kesitlere bu defa kromojen uygulaması için Diaminobenzidin-hidrojen peroksidaz (DAB- H₂O₂) tekniği (Shu, S. 1988) kullanıldı. Kesitlere kromojen solüsyonu eklendikten immunoreaktivitenin olma durumuna göre reaksiyon distile su ile durduruldu. Çekirdek boyaması için hematoksilin kullanıldı. Ardından rutin işlemlerden (dehidrasyon, saydamlaştırma) geçirilen kesitler preparat haline getirilerek ışık mikroskobunda (Olympus Bx51, Japan) incelendi. Dokulardaki PCNA, PYY ve CCKAR immunreaktivitesi, reaksiyon yoğunluğunun derecesine (+++, ++, +) göre, gruplar arasında karşılaştırılarak belirlendi (Okihiro ve Hinton 2000).

Hazırlanan preparatlara PCNA, PYY ve CCKAR immunreaktivitesinin spesifik olduğunu belirlemek amacıyla, primer antikor ilave etmeden boyama prosedürü uygulanarak negatif kontrol preparatları değerlendirildi.

2.2.7. Histometrik Verilerin Toplanması

2.2.7.1. Villus Uzunluğu (VU)-Villus Genişliği Ölçümü (VG)

Duodenum, jejunum ve ileum kesitlerinden, kesit alma ve boyama işlemleri sırasında zarar görmemiş, iyi durumda bulunan her bir hayvan dokusundan 10'ar adet villus seçildi. Villus uzunluğu ölçümü, villusların lumene bakan apikal uçlarından bazalde villus – kripta birleşim yerine kadar olan mesafeyi ifade etmektedir (Ekinci ve ark. 2004). Her bir hayvandan 10'ar adet olmak koşulu ile ince bağırsağın 3 bölümü için bir bölümde 300 adet olacak şekilde toplamda 900 adet villus uzunluğu ölçülmüştür. İyi yapıda bulunan bu villusların orta kısmına denk gelen alan villus genişliğini ifade etmektedir. Tüm doku ve gruplarda toplam 900 adet villus genişliği ölçülmüştür (Ekinci ve ark. 2004). Tüm ölçümler ImageJ (1.52a/Java 1.8.0-112) programında µm cinsinden hesaplanmıştır.

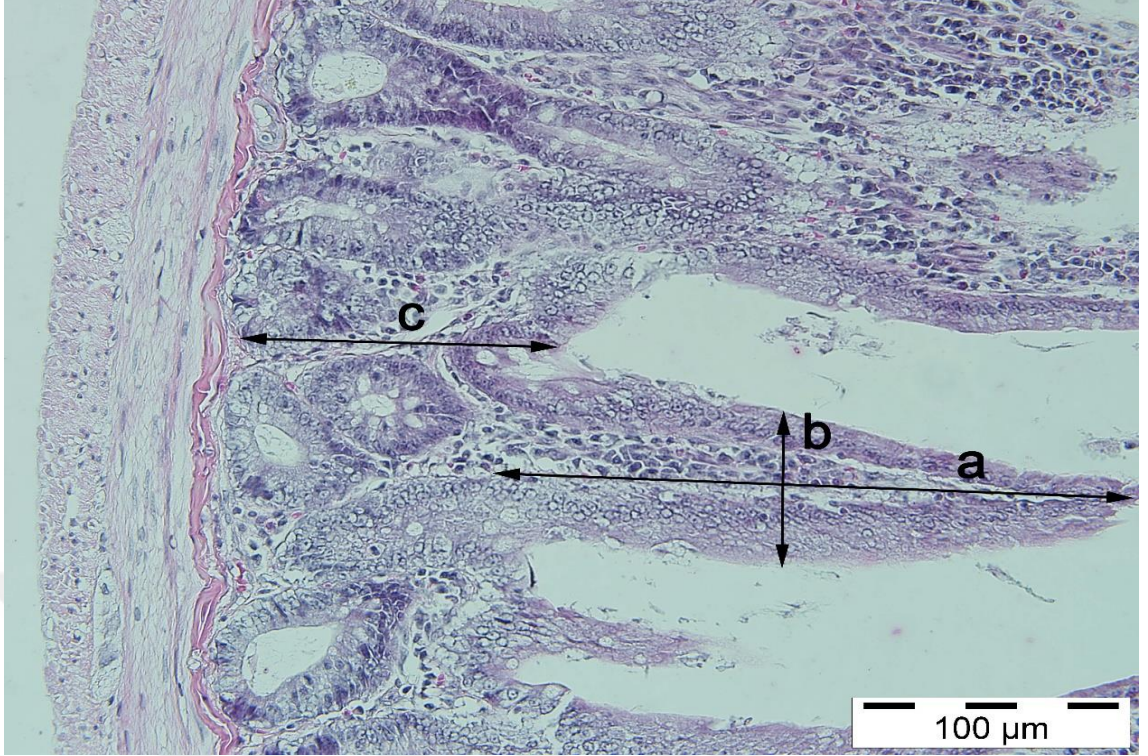
2.2.7.2. Kript Derinliği (KD) Ölçümü

Kript derinliği ölçümü, villus-kripta birleşim yerinden submukoza başlangıcına kadar olan alanı ifade etmektedir (Xu ve ark. 2003). Duodenum, jejenum ve ileum bölümleri için bütün gruptaki kesitlerden seçilen kript derinliği ImageJ (1.52a/Java 1.8.0-112) programında μm cinsinden hesaplanarak tüm gruptan toplam 900 adet ölçülmüştür.

2.2.7.3. Goblet Hücre Sayısı ve Paneth Hücre Sayısının Belirlenmesi

Goblet hücre sayısı, villusların başlangıç bölgesinden itibaren belirlenen 200 μm 'lik birim uzunluk boyunca sayılan toplam goblet hücre sayısını ifade etmektedir (Bozkurt ve ark 2008). Goblet hücrelerinin PAS ile boyanan kesitlerden 200 μm 'lik birimlerden fotoğraflanan resimlerden ImageJ (1.52a/Java 1.8.0-112) programında sayımı yapılmıştır. Duodenum, jejenum ve ileumda bütün gruptaki her bir hayvandan olmak üzere toplam 30 hayvandan sayıldı.

Paneth hücrelerinin sayımı için H&E ile boyanan kesitlerin tunika mukozanın bazalinde bulunan kriptlerin 200 μm 'lik resimleri kullanılarak toplam 30 hayvanın duodenum, jejenum ve ileumlarında ImageJ (1.52a/Java 1.8.0-112) programında sayıldı.



Resim 1: Histometrik olarak hesaplanan alanlar. a) villus uzunluğu, b) villus genişliği, c) kript derinliği

İstatistiksel Verilerin Hesaplanması

Toplanan veriler SPSS 16.0 programında One-Way ANOVA testi ve ardından çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey ve Duncan testleriyle analiz edilerek, grupların ortalama değerleri arasındaki farkların önem dereceleri $p < 0,05$ değeri önemli kabul edilerek belirlendi.

3. BULGULAR

Çalışmamızda ratlara ait canlı ağırlık ve kan-glikoz verileri, villus uzunlukları, villus genişliği, kript derinliği, goblet ve Paneth hücre sayıları istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Histolojik olarak her gruba ait duodenum, jejunum ve ileum dokuları Hematoksilen-Eozin (H&E), Periodic Asit Schiff (PAS) ve Crossman üçlü (Triple boyama) boyamaları yapılarak incelenmiştir. Ayrıca immunohistokimyasal olarak PCNA, PYY ve CCKAR antikorlarının immunoreaktivitelerinin yoğunlukları puanlama yöntemiyle değerlendirilmiştir.

Canlı Ağırlık Bulguları

Ratların canlı ağırlıkları grupların kendi içerisinde olmak üzere 0., 3., 7. ve 14. günler arası karşılaştırılarak değerlendirilmesi yapılmıştır.

Yapılan istatistiki değerlendirme sonucunda kontrol, sham ve KOS gruplarının kendi içerisinde günlere göre önemli bir fark olmadığı tespit edildi. Diyabet ve Diyabet+KOS grupları incelendiğinde ise bu grupların kendi içerisinde canlı ağırlıkların istatistiksel anlamda önemli bir fark ($p<0,05$) olduğu görüldü. Bu verilere göre diyabet ile diyabet+KOS grubundaki ratların canlı ağırlıklarının kendi içlerinde önemli derecede ($p<0,05$) azaldığı belirlendi (Tablo 2).

Tablo 2. Gruplar arası ve günler arası canlı ağırlık bulgularının karşılaştırılması ($P<0,05$). N: Hayvan sayısı
a,b,c: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiki olarak önemlidir.

Gruplar	N	0.gün	3.gün	7.gün	14.gün
Kontrol	6	331,6±33,2 ^a	341,1±31,5 ^a	337,4±34,5 ^a	324,2±58,1 ^a
Sham	6	283±57,5 ^a	300,4±79,1 ^a	313,5±67,8 ^a	339,3±59,2 ^a
Diyabet	6	289,6±45,8 ^a	271,1±46,9 ^a	254,4±47,4 ^b	215,5±23,1 ^c
KOS	6	325±54,9 ^a	345,9±51,1 ^a	324,1±59,1 ^a	335,7±63,6 ^a
Dia+KOS	6	328±41,7 ^a	266,3±50,1 ^b	222±64,9 ^c	289,3±19,1 ^b

Kan-Glikoz Bulguları

Ratların kan-glikoz değerleri grupların kendi içerisinde ve gruplar arası olmak üzere 0., 3., 7. ve 14. günlerde istatistiki olarak değerlendirilmesi yapıldı.

Kan-glikoz yönü ile kontrol, sham ve KOS gruplarının hem kendi içlerinde hemde bu gruplar arasında istatistiksel düzeyde anlamlı bir fark görülmedi. Diyabet ve diyabet+KOS gruplarında diğer gruplara göre kan-glikoz düzeyinin yüksek ($p<0,05$) olduğu belirlendi. Ayrıca diyabet ve diyabet+KOS gruplarında zamana bağlı olarak kan-glikoz düzeyinin arttığı ($p<0,05$) gözlemlendi (Tablo 3).

Tablo 3. Gruplar arası ve günler arası kan-glikoz bulgularının karşılaştırılması ($P<0,05$). N: Hayvan sayısı
a,b,c: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiki olarak önemlidir.

Gruplar	N	0.gün	3.gün	7.gün	14.gün
Kontrol	6	90±9,61 ^a	92,8±12,5 ^a	90,8±11,7 ^a	96,5±9,3 ^a
Sham	6	88,3±14,7 ^a	91,5±19,3 ^a	92,1±12,2	94,6±13,7 ^a
Diyabet	6	89,6±13,1 ^a	317,1±48,1 ^b	451,5±78,1 ^c	462,1±70,8 ^c
KOS	6	93,3±11,6 ^a	93,5±9,3 ^a	92±11,1 ^a	86,5±18,4 ^a
Dia+KOS	6	92,1±11,4 ^a	316,3±43,3 ^b	433,3±72,8 ^c	488,1±99,1 ^c

Histometrik Bulguların Değerlendirilmesi

Duodenum dokusunda villus uzunluğu yönü ile yapılan değerlendirmede gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) bir fark olduğu gözlemlendi. Diyabet, KOS ve diyabet+KOS gruplarında hem kontrol ve sham gruplarına göre hemde kendi aralarında istatistiksel düzeyde anlamlı bir farklılık ($p<0,05$) olduğu tespit edildi. Ayrıca villus uzunluğunun en yüksek diyabet grubunda olduğu belirlendi. Villus genişliği bakımından diyabet ve KOS gruplarının hem kendi aralarında hemde diğer gruplar ile aralarında istatistiksel düzeyde önemli bir fark ($p<0,05$) olduğu görüldü. Villus genişliğinin en ince diyabet grubunda en kalın KOS grubunda olduğu belirlendi. Kript derinliği yönünden ise kontrol, sham ve KOS grupları arasında bir fark olmadığı, ancak diyabet grubunda diğer gruplara göre kript derinliğinin azaldığı saptandı.

Diyabet+KOS grubunda ise kript derinliğinin diğer gruplara göre arttığı tespit edildi (Tablo 4).

Tablo 4. Duodenum villus uzunluğu, villus genişliği ve kript derinliği verilerinin karşılaştırılması (P<0,05). N: Ölçülen villus intestinalis ve kript sayısı
a,b,c,d: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiki olarak önemlidir.

	N	Kontrol	Sham	Diyabet	KOS	Dia+KOS
V-U	300	316,6±52,7 ^a	301,9±57,5 ^a	618,9±102 ^b	369,7±59,4 ^c	509,9±75,2 ^d
V-G	300	75,6±17,9 ^a	82±14,8 ^a	48±12,8 ^b	96,5±29,6 ^c	77,9±21,4 ^a
K-D	300	167,9±23,6 ^a	183,4±28,8 ^a	103,1±33,3 ^b	171,7±27,3 ^a	196,6±43,6 ^c

Jejunum dokusunda villus uzunluğunun gruplar arası yapılan istatistiki değerlendirilmesinde anlamlı bir fark (p<0,05) gözlenmiştir. Diyabet ve KOS gruplarında kontrol ve shama göre daha düşük villus uzunluğunun olduğu, dia+KOS grubunda en yüksek villus uzunluğu olduğu tespit edildi. Duodenumdan farklı olarak diyabet grubunda villus uzunluğunun kontrole göre daha az olması dikkati çekti. Villus genişliği bakımından ise kontrol, sham, KOS ve diyabet gruplarında yakın değerler bulunmasına karşın diyabet grubunda belirgin bir azalma (p<0,05) gözlemlendi. Gruplar arası kript derinliği karşılaştırıldığında ise kontrol, sham ve dia+KOS grupları arasında anlamlı bir farkın olmadığı, diyabet ve KOS gruplarının ise hem kendileri arasında hemde diğer gruplara kıyasla aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark (p<0,05) sergilediği gözlemlendi. Diyabet grubunda kript derinliğinin diğer gruplara göre azalmış olduğu belirlendi (Tablo 5).

Tablo 5. Jejunum villus uzunluğu, villus genişliği ve kript derinliği verilerinin karşılaştırılması (P<0,05). N: Ölçülen villus intestinalis ve kript sayısı
a,b,c,d: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiki olarak önemlidir.

	N	Kontrol	Sham	Diyabet	KOS	Dia+KOS
V-U	300	297,3±48,2 ^a	292±41,5 ^a	264,3±60,6 ^b	269,2±39,8 ^b	322,9±55,5 ^c
V-G	300	81,1±17 ^a	73,9±15,7 ^a	48,6±14,9 ^b	71,8±17,2 ^c	71,1±17,8 ^c
K-D	300	135,6±19,2 ^a	134,7±21,1 ^a	96,8±23,6 ^b	117,4±22 ^c	140,8±25,4 ^a

İleumda villus uzunluğuna bakıldığında kontrol, sham ve diyabet grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü. KOS ve diyabet+KOS gruplarında ise villus uzunluğunun diğer gruplara göre yüksek olduğu, bununda istatistiki düzeyde anlamlı ($p<0,05$) olduğu gözlemlendi. Villus genişliği yönü ile kontrol, sham ve diyabet grupları arasında fark olmadığı, KOS ve diyabet+KOS gruplarında ise diğer üç gruba göre istatistiki düzeyde anlamlı bir fark ($p<0,05$) tespit edildi. Kript derinliği bakımından yapılan istatistiki değerlendirmede gruplar arası anlamlı bir fark ($p<0,05$) olduğu, ancak diyabet grubunda kript derinliğinin diğer gruplara oranla önemli derecede azaldığı belirlendi (Tablo 6).

Tablo 6. İleum villus uzunluğu, villus genişliği ve kript derinliği verilerinin karşılaştırılması ($P<0,05$).
N: Ölçülen villus intestinalis ve kript sayısı
a,b,c,: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiki olarak önemlidir.

	N	Kontrol	Sham	Diyabet	KOS	Dia+KOS
V-U	300	212,6±38,9 ^a	198,2±23,5 ^a	197,8±43,3 ^a	231,1±71,7 ^b	258,3±36,8 ^c
V-G	300	54,7±10,8 ^a	60±19,7 ^a	53,6±12,5 ^a	71,3±16,1 ^b	73,8±17 ^b
K-D	300	140,9±38,7 ^a	131,6±19,7 ^a	108,5±23,3 ^b	133,2±17,8 ^a	136,9±17,7 ^a

Goblet hücresi sayısı yönü ile yapılan istatistiki değerlendirmede tüm gruplar bakımından duodenumda anlamlı bir fark olmadığı ancak diyabetiklerin duodenumda diğer gruplara göre istatistiğe yansımayan bir azalma olduğu görüldü. Jejunumda, kontrol ve sham grupları ile diyabet, KOS ve diyabet+KOS grupları arasında istatistiksel anlamda fark olduğu, bu gruplardaki goblet hücre sayısının kontrol ve sham grubuna göre daha az olduğu belirlendi. İleumda ise duodenum ve jejunumdan farklı olarak diyabet grubundaki goblet hücre sayısının diğer gruplara oranla önemli derecede arttığı tespit edildi (Tablo 7).

Tablo 7. İnce bağırsak bölümlerinde Goblet hücre sayısının gruplar arası karşılaştırılması (P<0,05).
N: Hayvan sayısı
a,b,c,: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiki olarak önemlidir.

G-H	N	Kontrol	Sham	Diyabet	KOS	Dia+KOS
Duodenum	6	119,1±26,1 ^a	109,8±40 ^a	87,6±18,7 ^a	111,3±15,5 ^a	90,5±19,5 ^a
Jejenum	6	146,1±6,7 ^a	142,5±17,4 ^a	103,6±33,6 ^b	128,5±14,3 ^c	122,3±18,2 ^c
İleum	6	164,1±30,2 ^a	162,6±11,6 ^a	191,6±21,8 ^a	157±16,6 ^a	160,8±34,8 ^a

Paneth hücrelerinin sayısı gruplar arasında karşılaştırıldığında, duodenumda diyabet grubundaki Paneth hücre sayısının diğer gruplara oranla istatistiksel anlamda daha fazla olduğu görüldü. Jejenumda ise kontrol, sham ve KOS grupları ile diyabet ve diyabet+KOS grupları arasında fark olduğu tespit edildi. İleumda ise jejenumla benzer şekilde kontrol, sham ve KOS grupları ile diyabet ve diyabet+KOS grupları arasında fark olduğu tespit edildi. Paneth hücre sayısının duodenum, jejenum ve İleum dokularında diyabet gruplarında sayısının artmış olduğu belirlendi (Tablo 8).

Tablo 8. İnce bağırsak bölümlerinde Paneth hücre sayısının gruplar arası karşılaştırılması (P<0,05).
N: Hayvan sayısı
a,b,c,: Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalamalar arasında fark istatistiki olarak önemlidir.

P-H	N	Kontrol	Sham	Diyabet	KOS	Dia+KOS
Duodenum	6	6,16±2,85 ^a	5,66±3,01 ^a	12,3±4,03 ^b	3,83±1,94 ^a	7,33±4,63 ^a
Jejenum	6	7,16±3,31 ^a	5,66±2,50 ^a	15,8±4,75 ^b	9,16±5,23 ^a	14,3±3,32 ^b
İleum	6	12,5±2,73 ^a	12,1±4,30 ^a	20,3±4,54 ^b	13±4,56 ^a	16±5,21 ^b

Histolojik Değerlendirme

İnce bağırsak dokusunun duodenum, jejenum ve ileum bölümleri ışık mikroskopik düzeyde incelendi. Bağırsak bölümlerinde kontrol ve sham grupları yönü ile gerek histolojik gerek immunohistokimyasal olarak herhangi bir farklılık gözlenmediği için gruplardan birisi değerlendirmeye alınmıştır. Gruplar ince bağırsağın katmanları yönünden incelendiğinde tüm gruplarda tunika mukoza, lamina epitelyalis, lamina propriya, lamina muskularis, submukoza, tunika muskularis ve tunika seroza katmanlarından oluşmaktaydı (**Resim 2, Resim 3**).

Kontrol ve KOS gruplarında yapısal olarak herhangi bir farklılık gözlenmezken (**Resim 6, Resim 8**), diyabet (**Resim 7**) ve diyabet+KOS (**Resim 4**) gruplarının duodenumlarında villus yapılarının daha uzun ve ince olduğu, kript derinliğinin daha az olduğu gözlendi. İleumda ve jejenumda ise duodenumdan farklı olarak diyabetiklerde villus uzunluklarının daha kısa idi. İlaveten duodenumda olduğu gibi jejenum ve ileumda da villus eni ve kript derinliğinin azaldığı gözlendi.

Diyabet grubunda lamina propriya ve submukozada yer yer dağılmalar (**Resim 7**) ve hücre sel yapılarında değişiklikler olduğu (**Resim 5**), diyabet+KOS grubunda diyabet grubuna göre daha az olduğu görüldü.

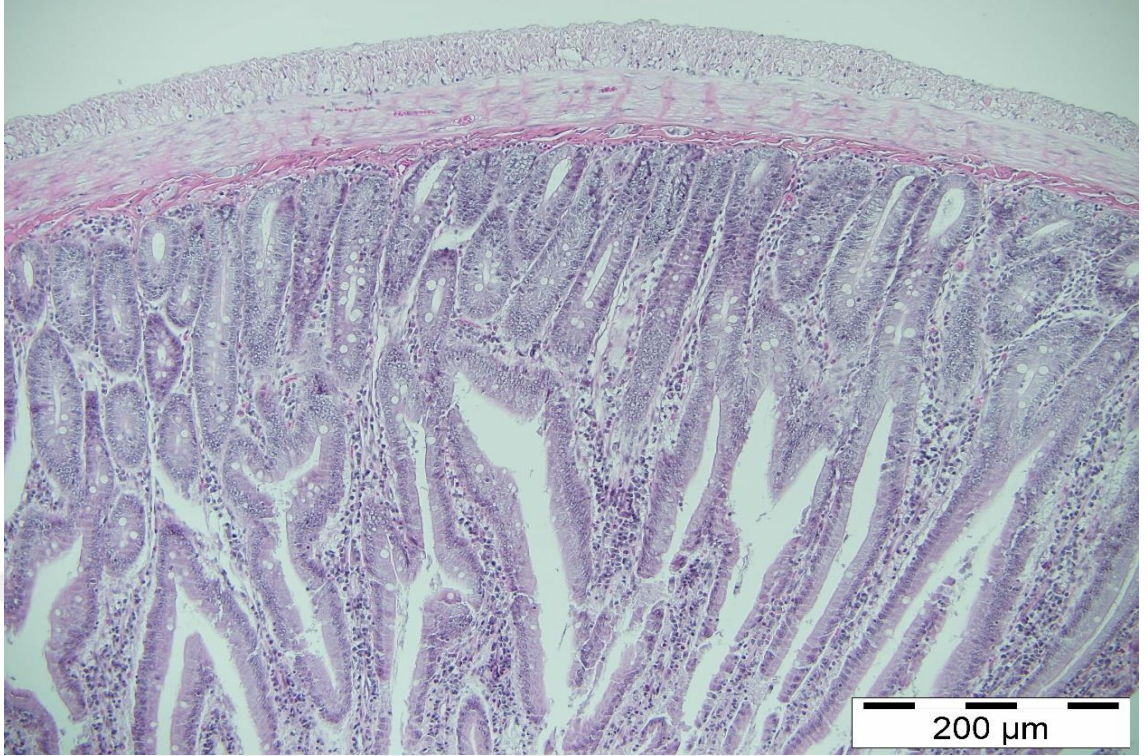
Paneth hücre sayılarının diyabet ve diyabet+KOS gruplarında diğer gruplara göre arttığı belirlendi (**Tablo 8, Resim 5, Resim 9**).



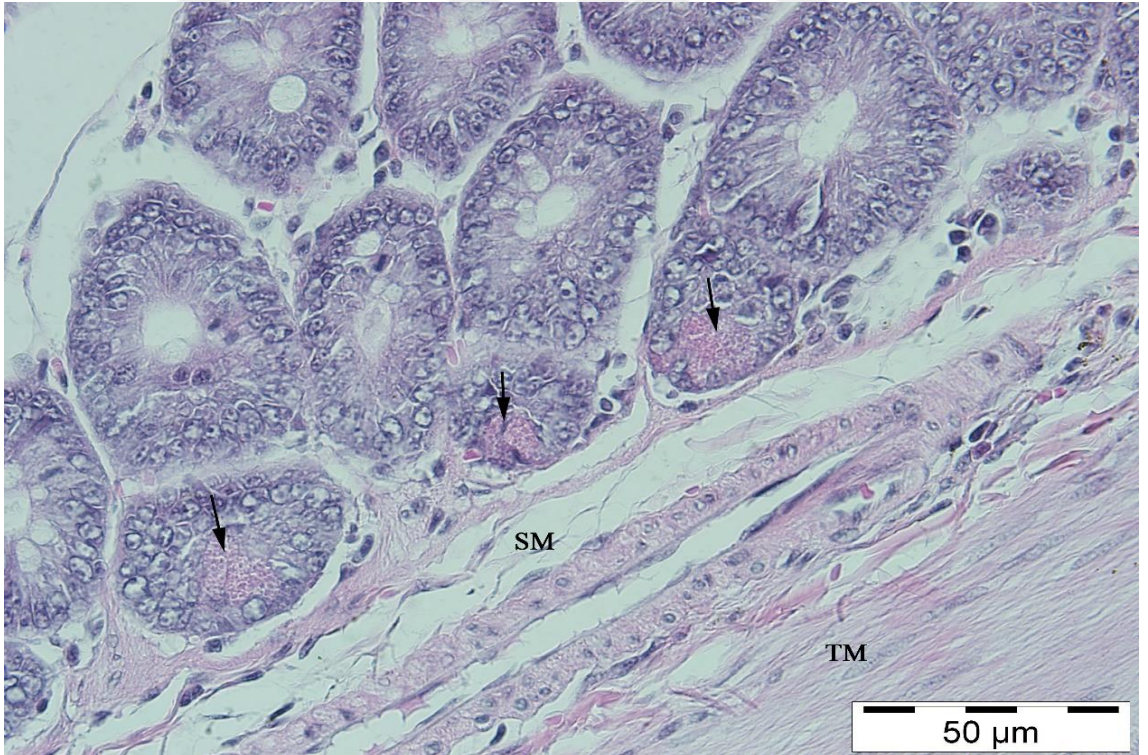
Resim 2: Kontrol grubu duodenum genel histolojik görünümü. a) Tunika Mukoza, b) Submukoza, c) Tunika Muskularis. H&E Bar:500 μm



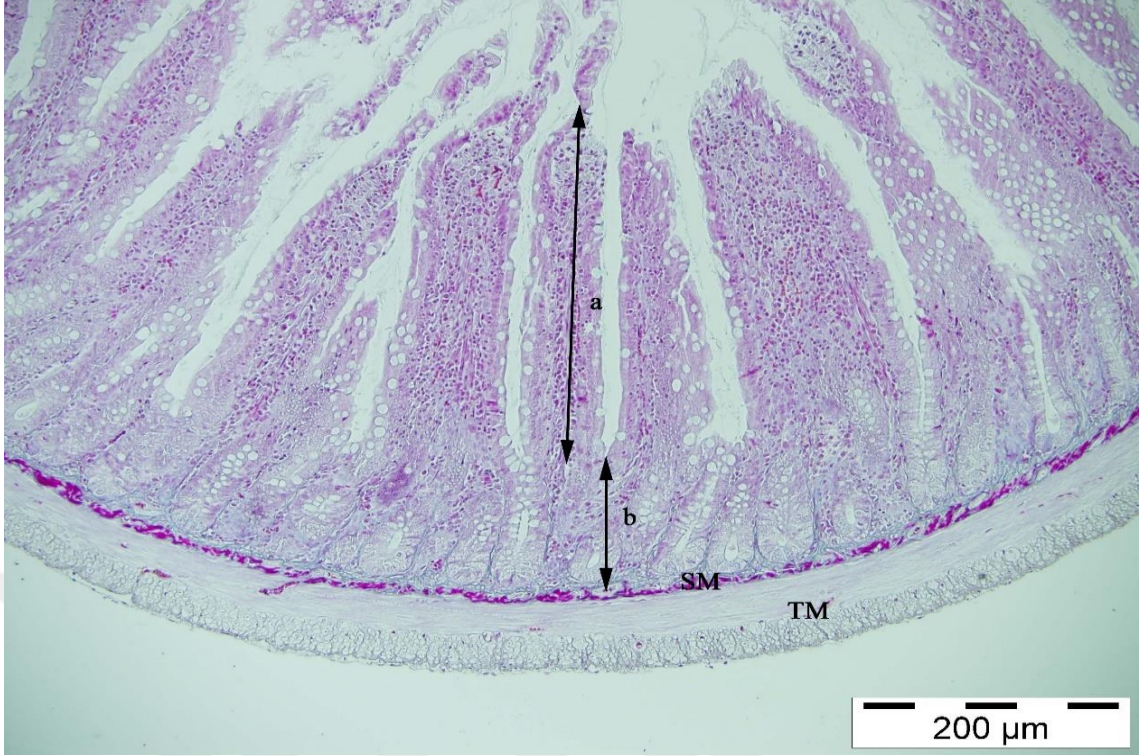
Resim 3: Diyabet grubu duodenum genel histolojik görünümü. Triple boyama Bar:500μm



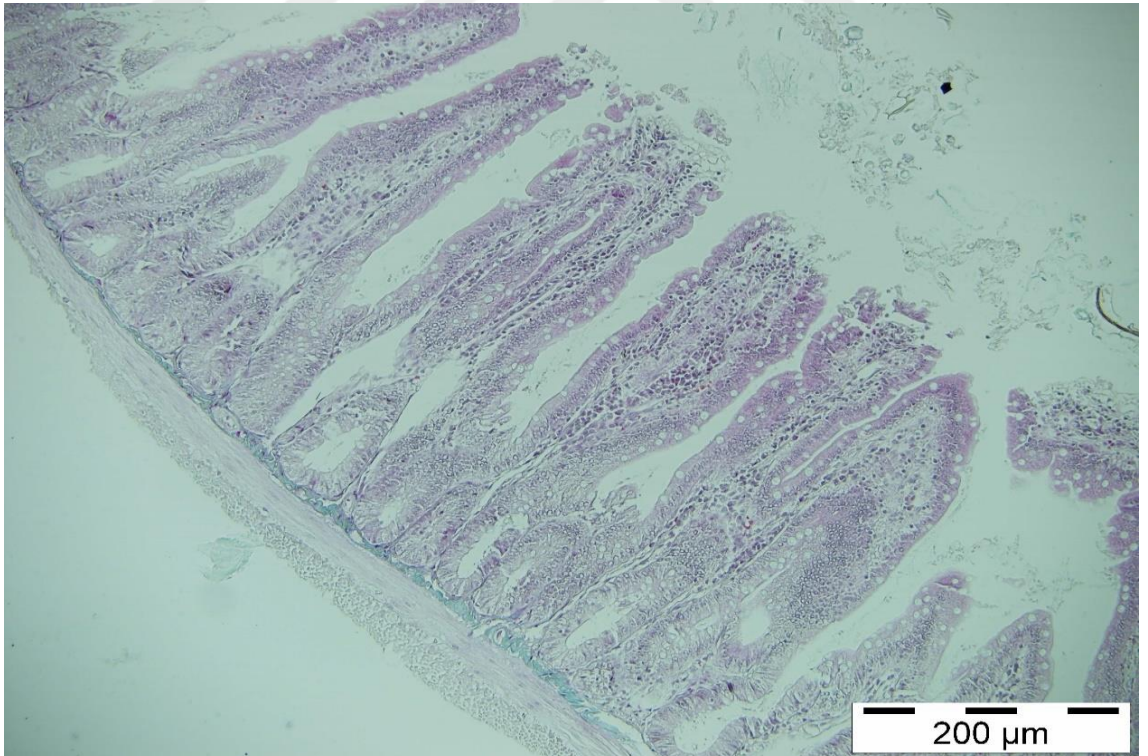
Resim 4: Diyabet+KOS grubu duodenum genel görünüm. H&E Bar:200μm



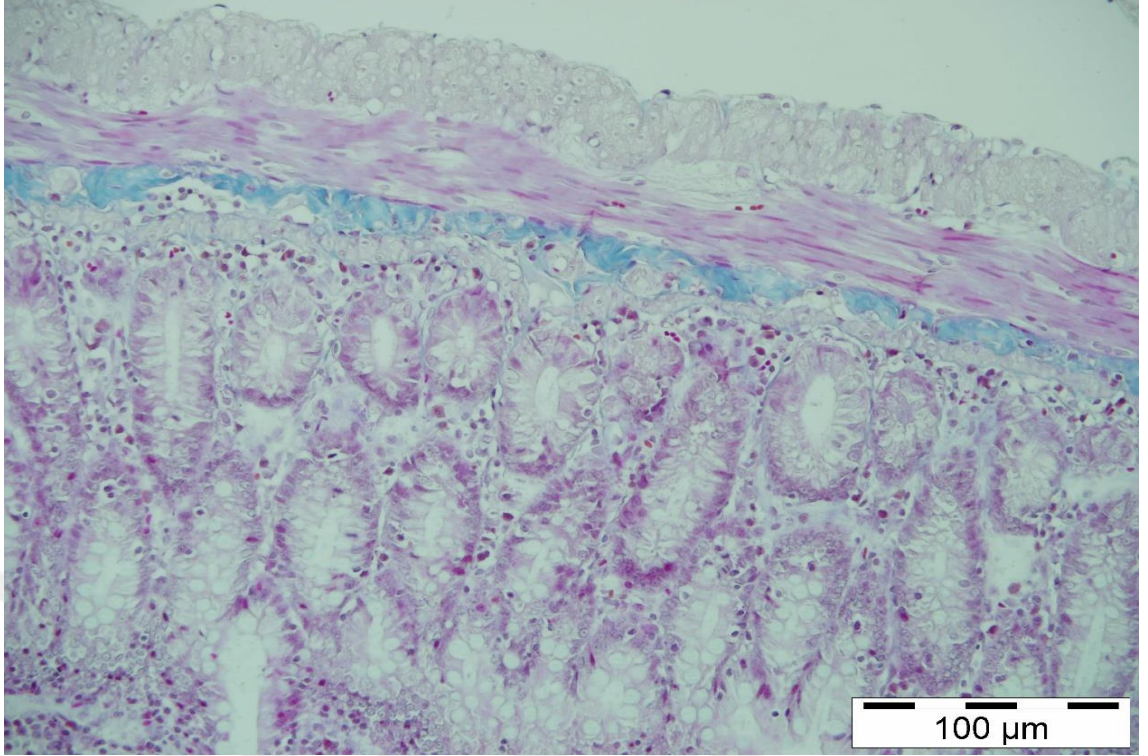
Resim 5: Diyabet grubu duodenum dokusu. **Oklar:** Paneth hücreleri, **SM:** Submukoza, **TM:** Tunika muskularis. H&E Bar:50μm.



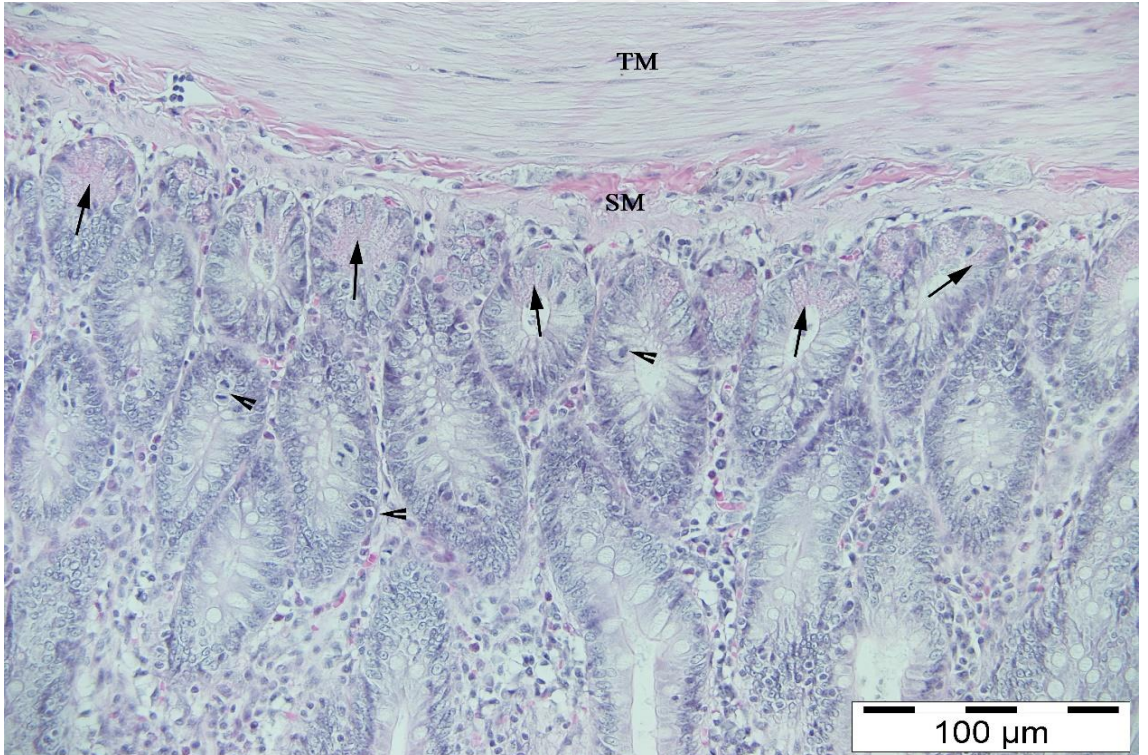
Resim 6: Kontrol grubu jejunum dokusu. a) Villus, b) Kript bölgesi, SM) Submukoza, TM) Tunika muskularis. Triple boyama Bar:200μm



Resim7: Diyabet grubu jejunum dokusu. Triple boyama Bar: 200μm



Resim 8: KOS grubu ileum dokusu. Triple boyama Bar:100



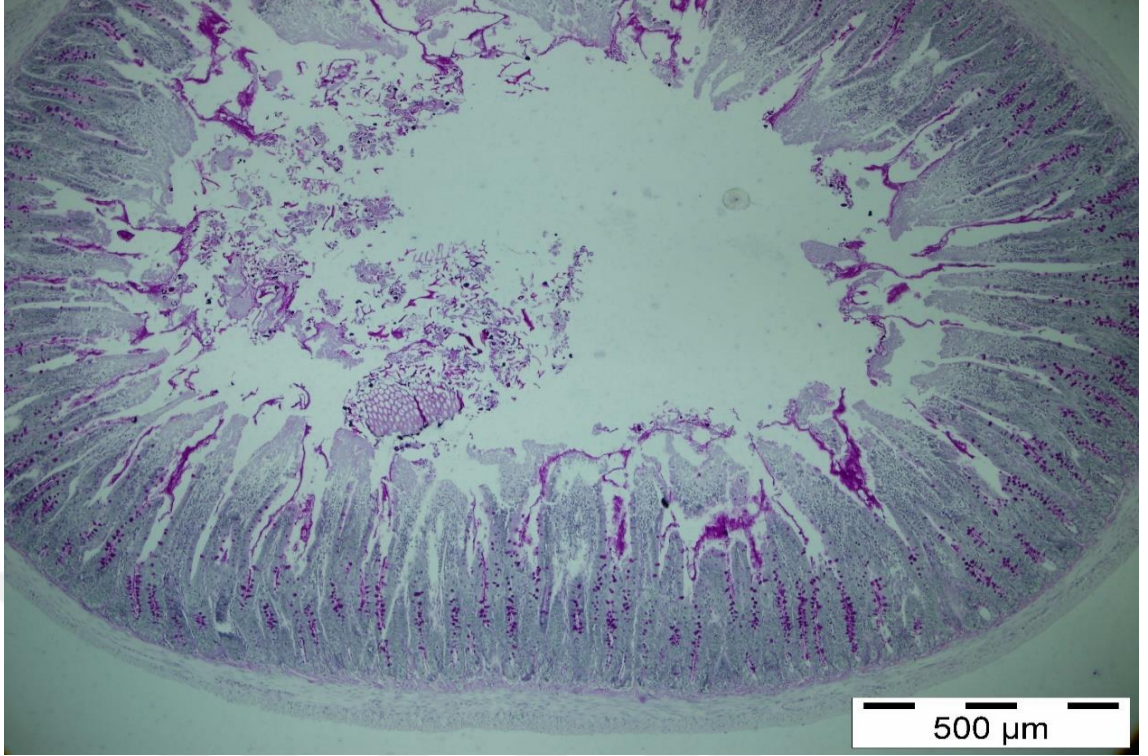
Resim 9: Diyabet+KOS grubu ileum dokusu. **Ok**lar: Paneth hücreleri, **Ok Başı:** Enteroendokrin hücreler, **SM:** Submukoza, **TM:** Tunika Muskularis. H&E Bar:100µm

Duodenum PAS+ hücrelerin diyabet ve dia+KOS gruplarında kontrol, sham ve KOS gruplarına göre daha az yoğun olduğu görüldü. Jejenumda ise gruplar arasında PAS+'liği yönünden sadece diyabet grubunun kontrol, sham, KOS ve dia+KOS gruplarına oranla daha az olduğu tespit edildi. İleum dokusunda da jejenum ile benzer şekilde diyabet grubundaki PAS yoğunluğunun diğer gruplara oranla daha az olduğu belirlendi (**Resim 10, Resim 11**).

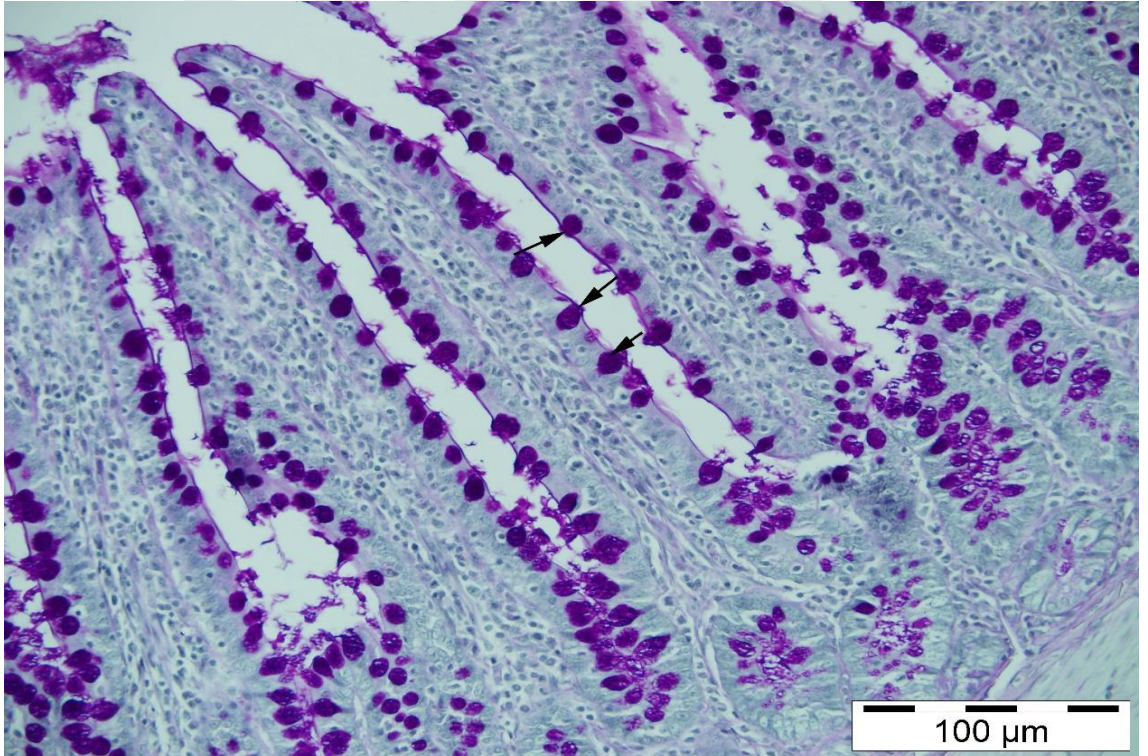
Tüm grup ve dokularda PAS+'lığının özellikle yoğun olarak goblet hücrelerinde, lamina epitelyalin çizgili kenarında, epitel hücreleri arasında bulunan uzun yapılı bazı hücrelerde, az yoğun şekilde Paneth hücrelerinde ve lamina propria ile submukozada olduğu belirlendi (**Resim 12, Resim 13**).



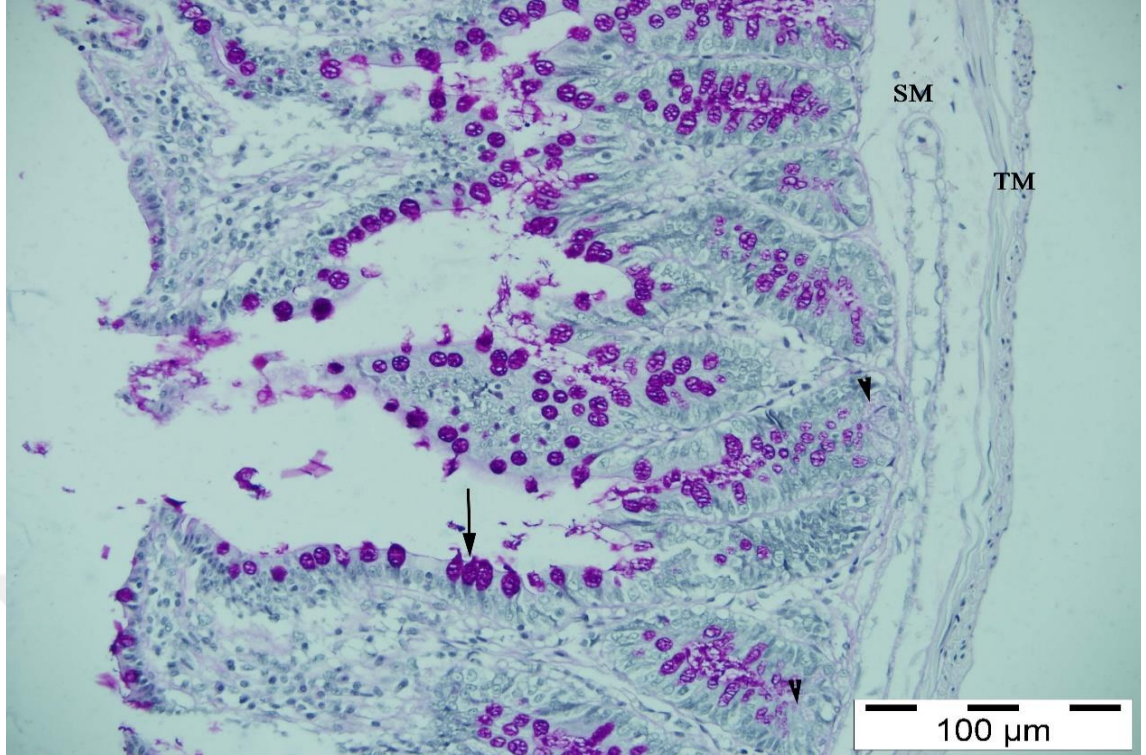
Resim 10: Kontrol grubu jejenum dokusu PAS boyaması genel görünümü.



Resim 11: Diyabet grubu jejunum dokusu PAS boyaması genel görünümü.



Resim 12: Kontrol grubu ileum dokusu PAS boyaması. **Oklar:** Goblet hücreleri. Bar: 100μm



Resim13: Diyabet grubu ileum dokusu PAS boyaması. **Ok:** Goblet hücreleri, **Ok Başı:** Paneth hücreleri. Bar: 100µm

İmmunohistokimyasal Değerlendirme

PCNA

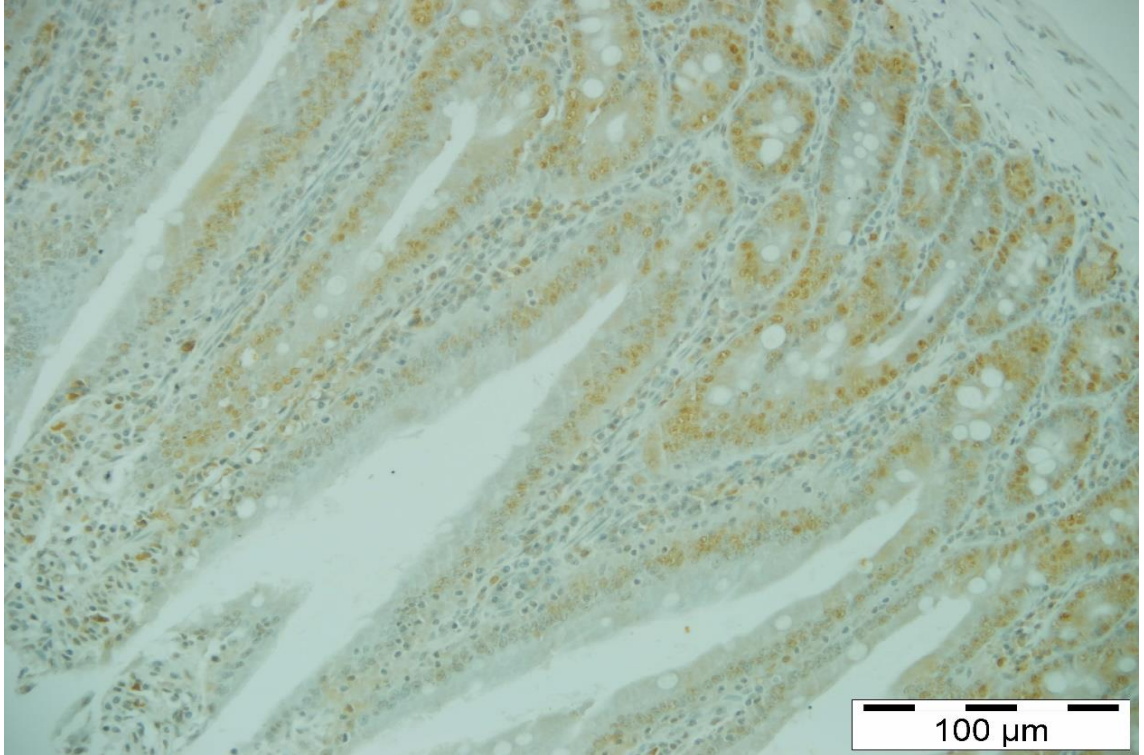
PCNA immunoreaktivitesinin tüm grupların duodenum, jejunum ve ileum kısımlarında tunika mukozanın bazalindeki kriptlerde yoğun olarak başlayıp, villusların uç kısımlarına doğru azaldığı görüldü (**Resim 14**). İmmunoreaktivitenin en yoğun kript epitel hücrelerinde, villusu kaplayan epitel hücrelerinde ise daha zayıf olduğu, villusların uç kısımlarına doğru ise PCNA immunoreaktivitesinin olmadığı tespit edildi (**Resim 14**). Lamina propriyada villusun uç kısımlarındaki bağ doku hücrelerinde kriptler arasındakilere göre daha yoğun olduğu gözlemlendi. Ayrıca kriptler arası hücrelerde ve submukozada bulunan tek tek hücrelerde PCNA immunoreaktivitesinin olduğu görüldü (**Resim 15**). Tunika muskularis katmanında ise PCNA immunoreaktivitesine rastlanmadı.

Tüm gruplarda kriptleri oluşturan epitel hücrelerinde immunoreaktivite yoğun olarak varken bu epitel hücreleri arasında bulunan goblet hücreleri ve uzun yapılı üçgenimsi hücrelerde reaktivitenin olmadığı belirlendi (**Resim 16**). Yine bazalde

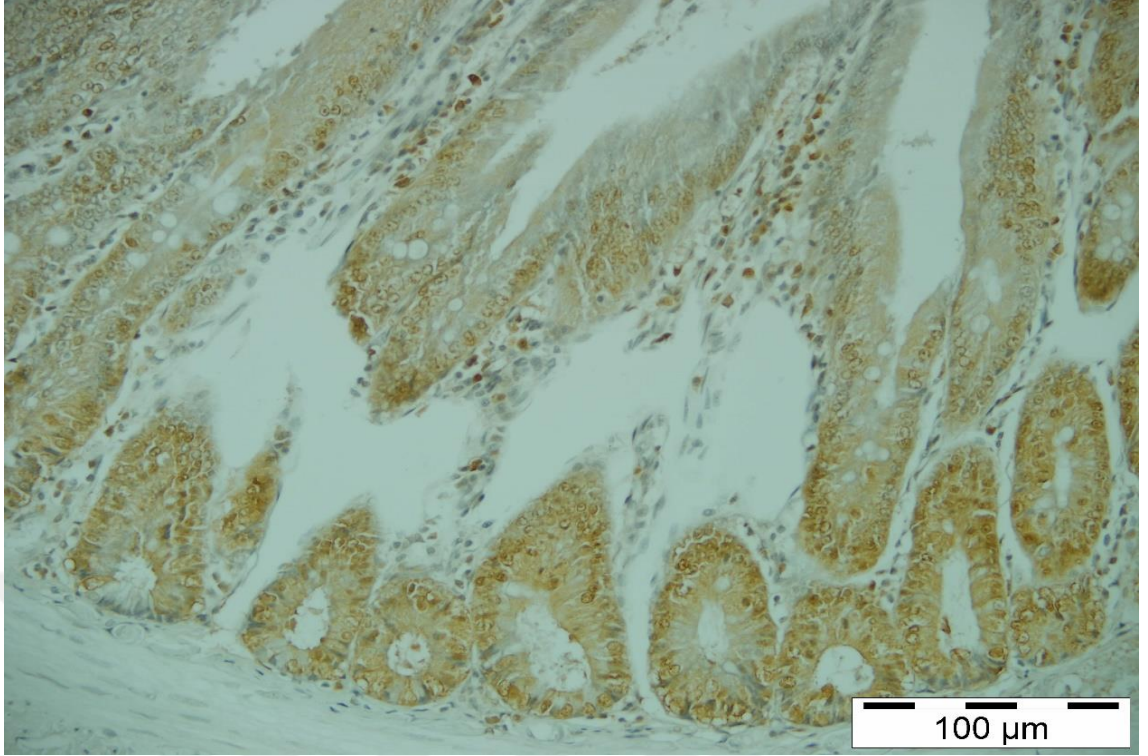
bulunan kript epitel hücreleri arasında bulunan Paneth hücreleri ve enteroendokrin hücrelerin genelinde PCNA immunoreaktivitesine rastlanmazken bu hücrelerin bazılarında nükleer immunoreaktivitenin olduğu bu hücrelerde bulunan reaktivitenin diyabet ve diyabet+KOS gruplarında bulunan hücrelerde daha fazla olduğu tespit edildi.

Gruplar arası PCNA immunoreaktivitesinin diyabet ve diyabet+KOS gruplarında (**Resim 15,16,18,19**), kontrol, sham ve KOS gruplarına göre daha yoğun ve tunika mukozada bulunan hücrelerin genelinde immunoreaktivite olduğu görüldü.

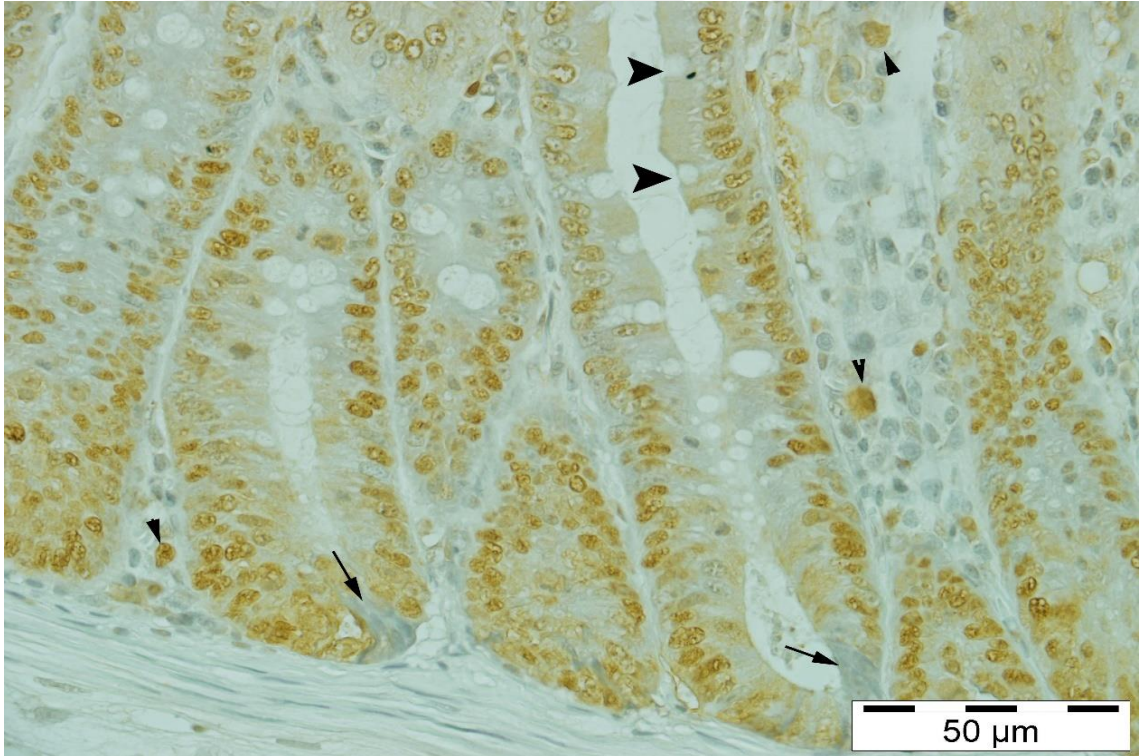
PCNA immunoreaktivitesinin İnce bağırsakta ileuma doğru gidildikçe azaldığı belirlendi (**Resim 16,17,19**). Bu durumun ileuma gidildikçe artan goblet hücre sayısından dolayı olduğu düşünülmektedir.



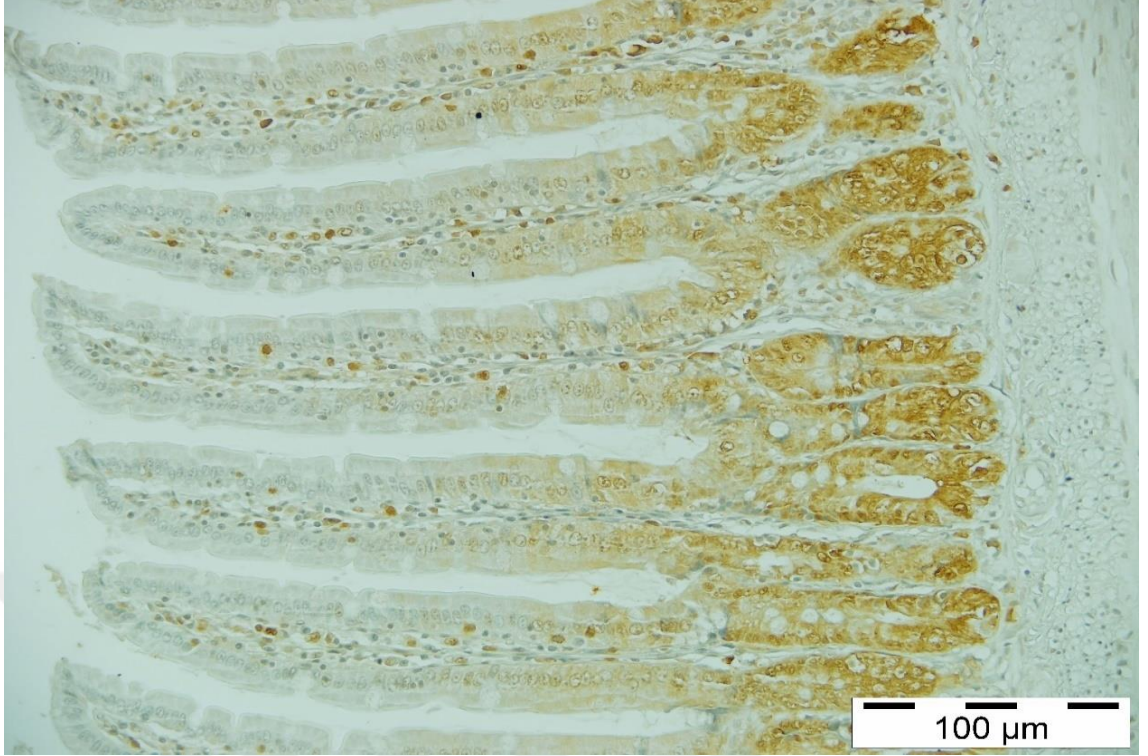
Resim 14: Duodenum Kontrol grubu PCNA immunoreaktivitesi genel görünümü. Bar: 100μm



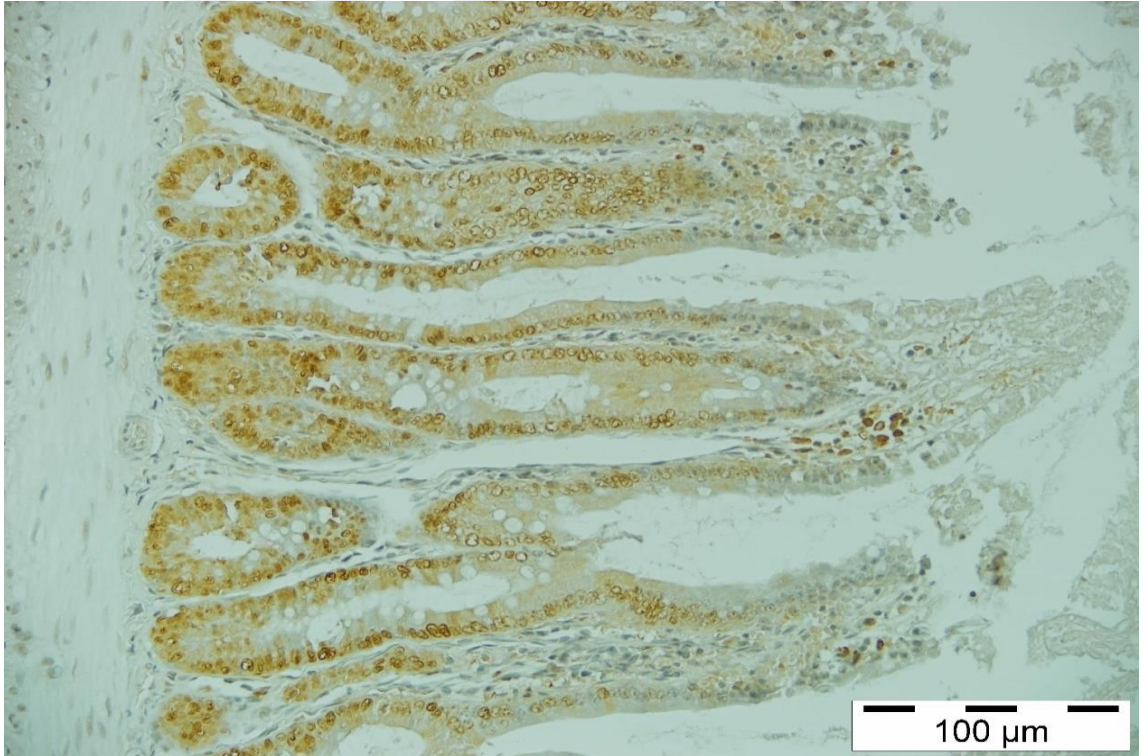
Resim 15: Duodenum Diyabet grubu PCNA immunoreaktivitesi genel görünümü. Bar: 100µm



Resim 16: Duodenum Diyabet+KOS grubu PCNA immunoreaktivitesi. **Oklar:** İmmunoreaktivite bulunmayan üçgenimsi hücreler, **İnce Ok Başı:** İmmunopozitif bağ doku hücreleri, **Kalın Ok Başı:** Goblet hücreleri. Bar:200µm



Resim 17: Jejunum sham grubu PCNA immunoreaktivitesi genel görünümü. Bar: 100μm



Resim 18: Jejunum diyabet grubu PCNA immunoreaktivitesi genel görünümü. Bar: 100μm



Resim 19: İleum Diyabet grubu PCNA immunoreaktivitesi. **Oklar:** Paneth hücreleri

Tablo 9. İnce bağısak dokusunda genel olarak PCNA immunoreaktivitesinin skorlama tablosu

	Kontrol	Sham	Diyabet	KOS	Dia+KOS
T. mukoza	++	++	+++	++	+++
L. epitelyalis	+	+	++	++	++
L. propriya	+	+	++	+	++
Kript	++	++	+++	++	+++
Submukoza	-	-	+	-	+

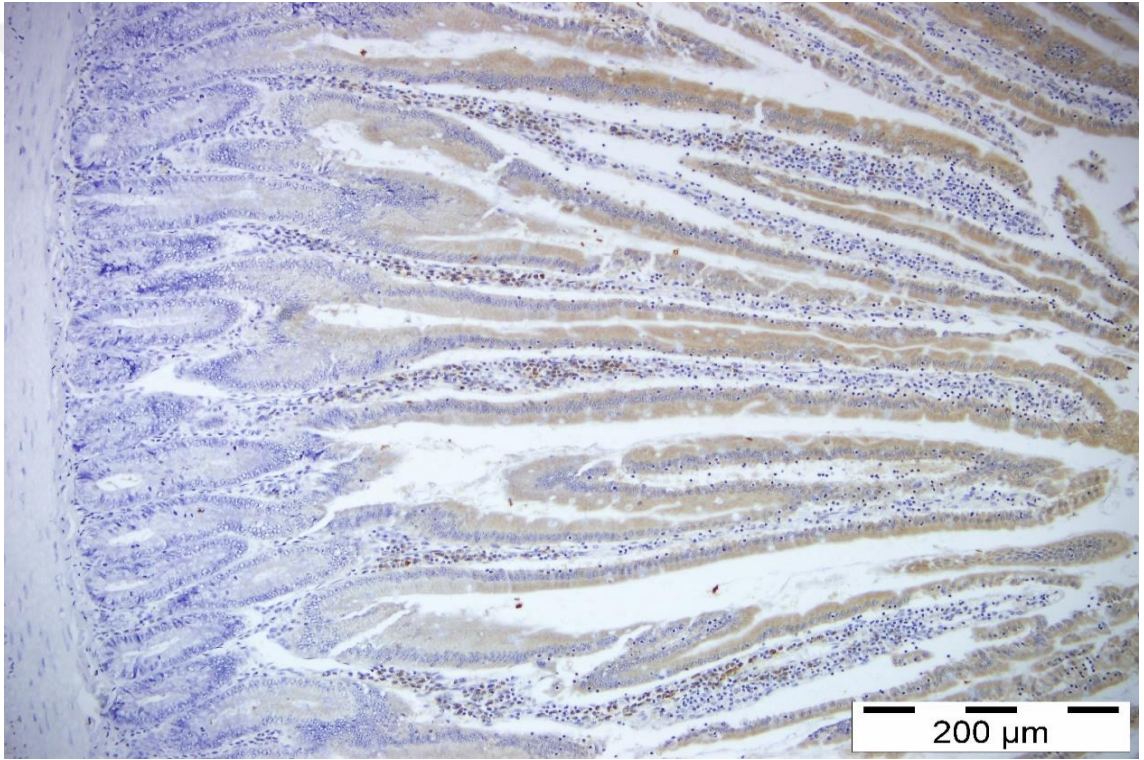
PYY

PYY immunoreaktivitesinin tüm gruplardaki duodenum, jejunum ve ileumda submukozada tek tek hücrelerde ve villus intestinalisin lamina propriyadaki bulunan bağ doku hücrelerinin bazılarında olduğu görüldü (**Resim 20,21**). Goblet hücreleri, enteroendokrin hücreler ve Paneth hücrelerinde PYY immunoreaktivitesi görülmedi (**Resim 25**).

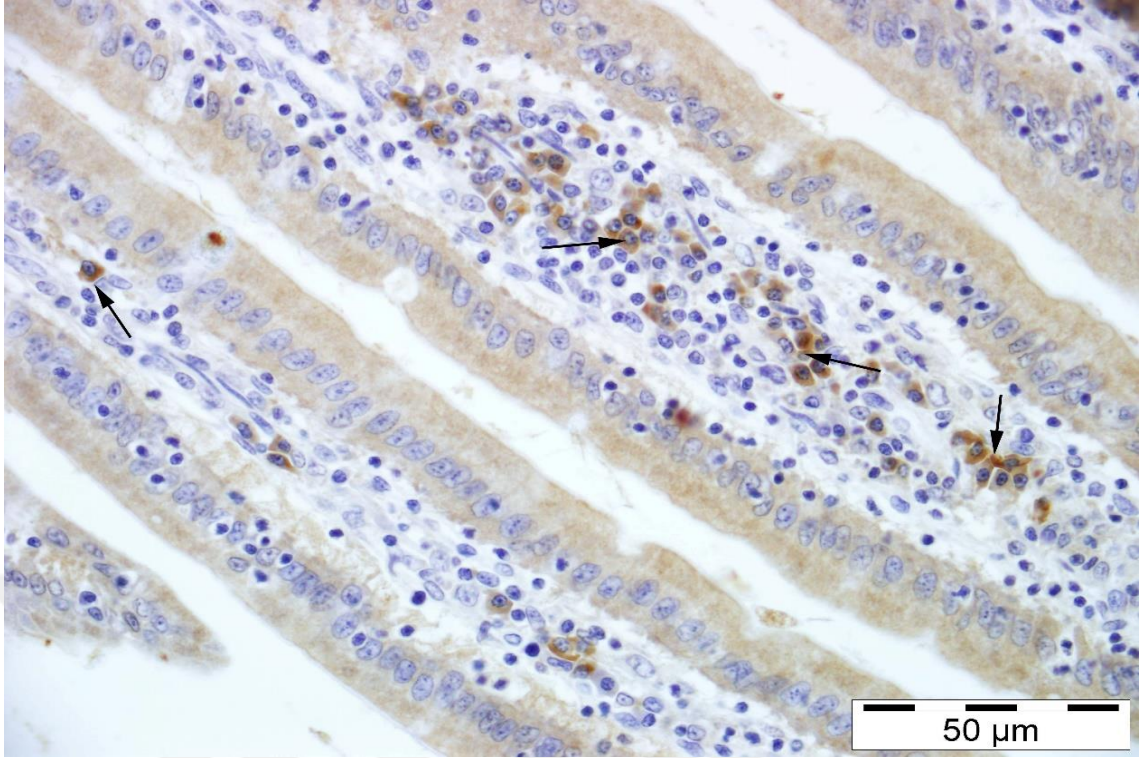
Duodenumda lamina epitelyalis ve lamina propriya hücrelerinde yoğun sitoplazmik PYY immunoreaktivitesi belirlendi (**Resim 20**). Jejunumda PYY immunoreaktivitesinin bazı villus intestinalislerin uç epitel hücrelerinde, lamina

propriya ve submukoza bağ doku hücrelerinde olduğu tespit edildi (**Resim 23**). İleumda ise immunoreaktivitenin bağ doku hücrelerinin yanısıra lamina epitelyalis ve kript epitellerinin bazılarında olduğu belirlendi (**Resim 25**).

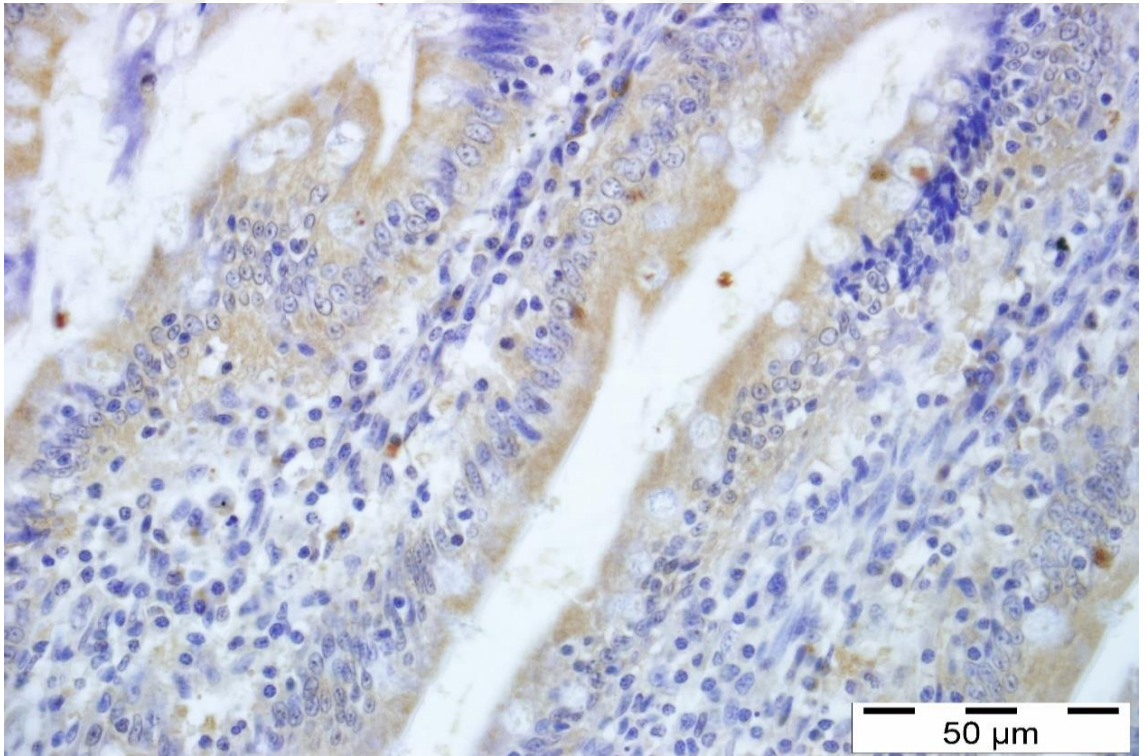
Duodenum, jejenum ve ileumda PYY immunoreaktivitesinin en yoğun diyabet+KOS grubunda olduğu (**Resim 21,24**), kontrol ve sham gruplarındaki immunoreaktivitenin diyabet ve KOS gruplarına göre daha az olduğu belirlendi (**Resim 22**). Ayrıca PYY immunoreaktivitesinin en yoğun duodenumda, en zayıf ileumda olduğu tespit edildi (**Resim 20,25**).



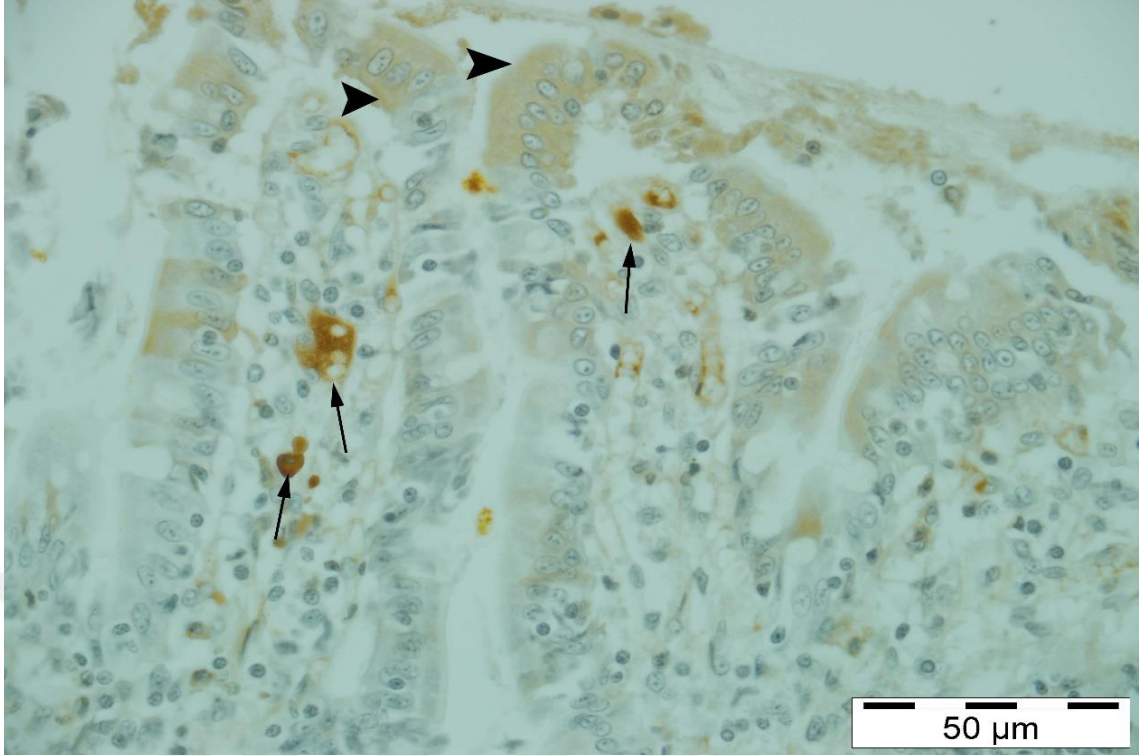
Resim 20: Duodenum Diyabet grubu PYY immunoreaktivitesi genel görünümü. Bar:200μm



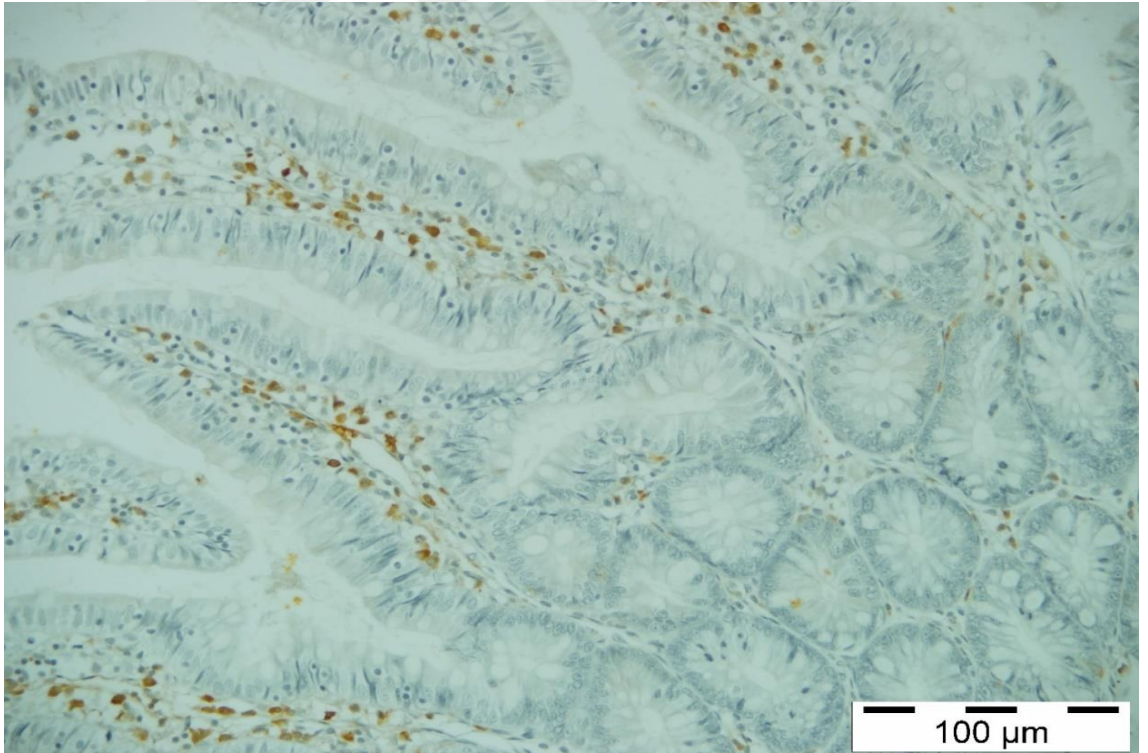
Resim 21: Duodenum Diyabet+KOS grubu PYY immunoreaktivitesi. **Oklar:** PYY immunopozitif bağ doku hücreleri. Bar: 50μm



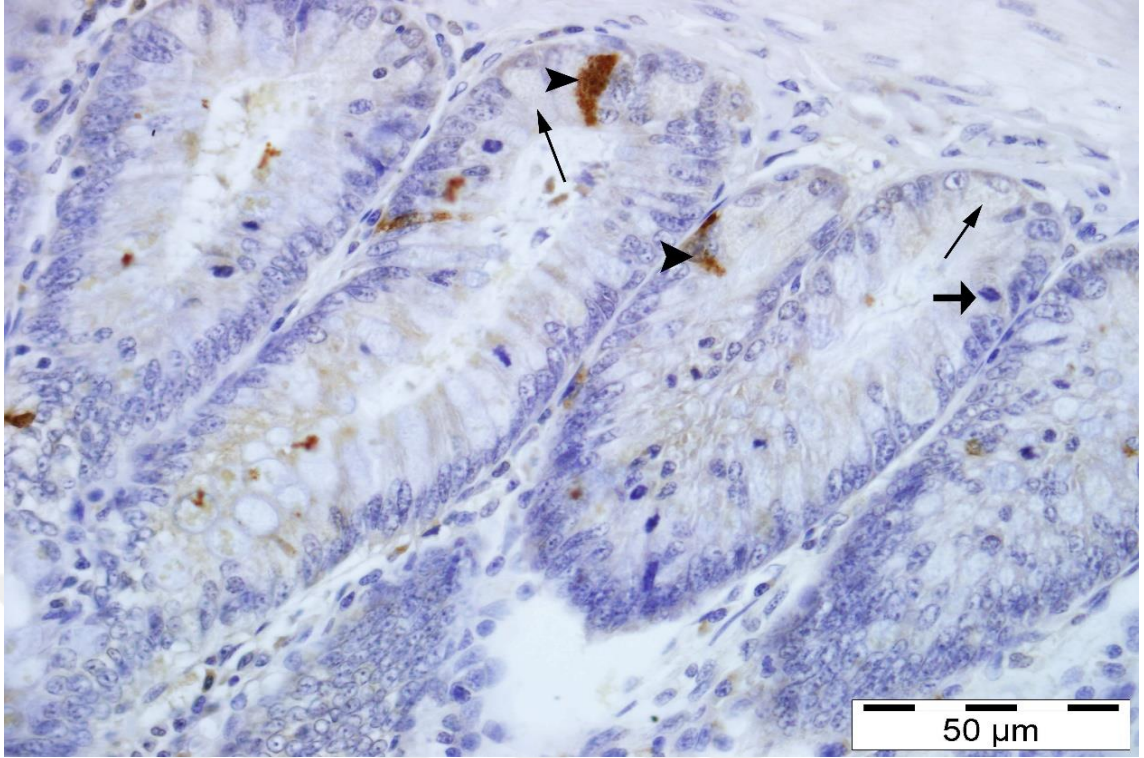
Resim 22: Duodenum Kontrol grubu PYY immunoreaktivitesi. Bar: 50μm



Resim 23: Jejunum Diyabet grubu PYY immunoreaktivitesi. **Oklar:** immunopozitif bağ doku hücreleri, **Ok Başları:** immunopozitif epitel hücreleri. Bar: 50µm



Resim 24: İleum Diyabet+KOS grubu PYY immunoreaktivitesi genel görünümü. Bar:100µm



Resim 25: İleum Diyabet+KOS grubu PYY immunoreaktivitesi. **İnce Oklar:** Paneth hücreleri, **Kalın Ok:** Enteroendokrin hücresi, **Ok başları:** İmmunopozitif kript epitel hücreleri. Bar: 50µm

Tablo 10. İnce bağısak dokusunda genel olarak PYY immunoreaktivitesinin skorlama tablosu

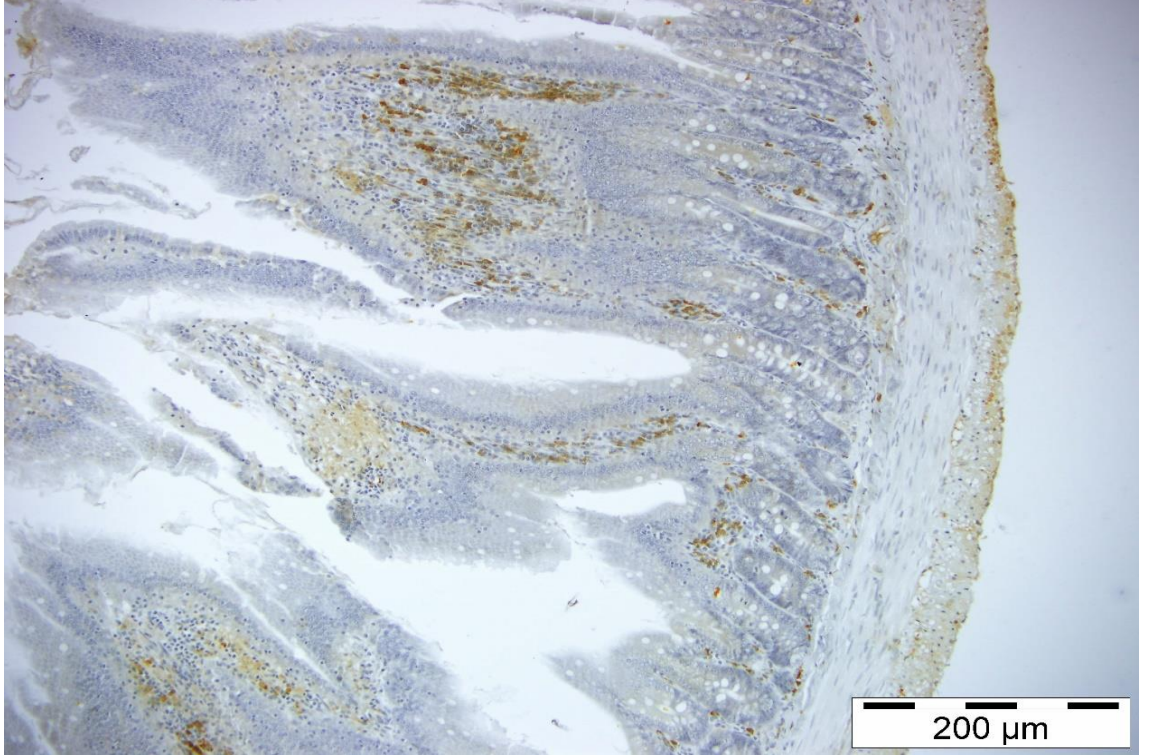
	Kontrol	Sham	Diyabet	KOS	Dia+KOS
T. mukoza	+	+	++	++	+++
L. epitelyalis	+	+	++	+	++
L. propriya	+	+	+	+++	+++
Submukoza	+	+	+	++	++

CCKAR

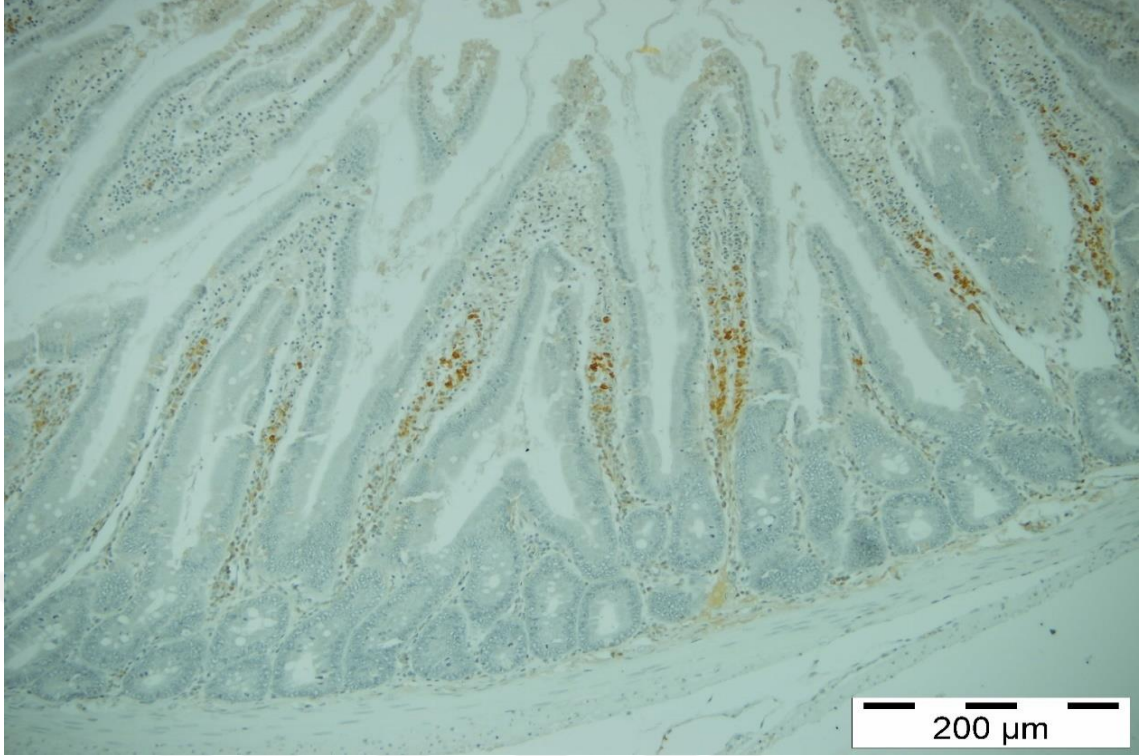
CCKAR immunoreaktivitesinin PYY ile benzer şekilde tüm dokular ve gruplarda lamina propriya ve submukoza hücrelerinde hem sitoplazmik hemde nükleer olduğu görüldü. Lamina epitelyalis hücreleri arasında bulunan uzun ve dar yapılı bazı hücrelerde zayıf sitoplazmik immunoreaktiviteye rastlandı. Tunika mukozanın kript epitel hücrelerinde, Paneth ve enteroendokrin hücrelerinde CCKAR immunoreaktivitesi olmadığı belirlendi. Ayrıca tunika muskulariste bulunan longitudinal seyirli kas tabakasındaki bazı hücrelerde de PYY immunoreaktivitesinin olduğu belirlendi.

Gruplar arasında CCKAR immunoreaktivitesi karşılaştırıldığında duodenumda kontrol ve sham gruplarında diyabet, KOS ve diyabet+KOS gruplarına göre daha az yoğun olduğu gözlemlendi. Jejunumda kontrol ve sham gruplarında çok az immunoreaktivite olduğu, KOS grubunda orta yoğunlukta, diyabet ve diyabet+KOS gruplarında diğer gruplara göre daha yoğun CCKAR immunoreaktivitesi olduğu belirlendi. İleumda en yoğun immunoreaktivitenin diyabet+KOS grubunda olduğu, duodenum ve jejunumdan farklı olarak ileum diyabet ve diyabet+KOS grubundaki villus intestinalislerin uç kısımlarındaki epitellerin bazılarında PYY immunoreaktivitesi olduğu gözlemlendi.

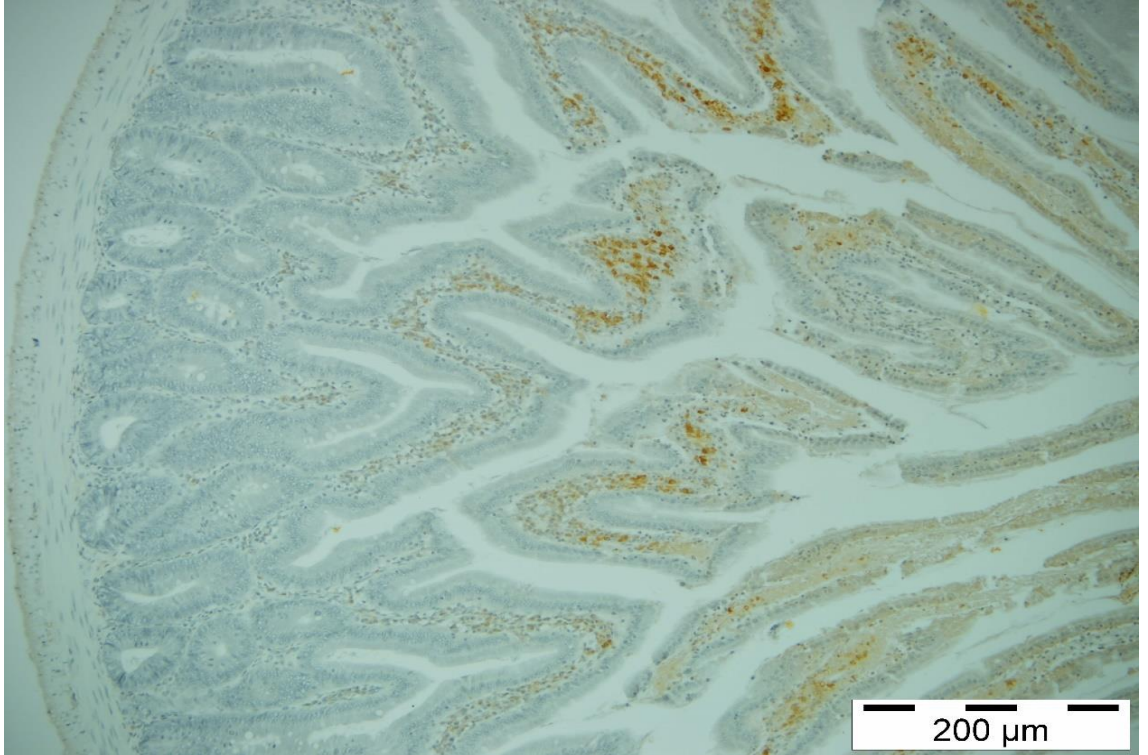
Dokular arasında CCKAR immunoreaktivitesinin en yoğun duodenumda olduğu, ileumda jejunumdan daha yoğun immunoreaktivite olduğu tespit edildi.



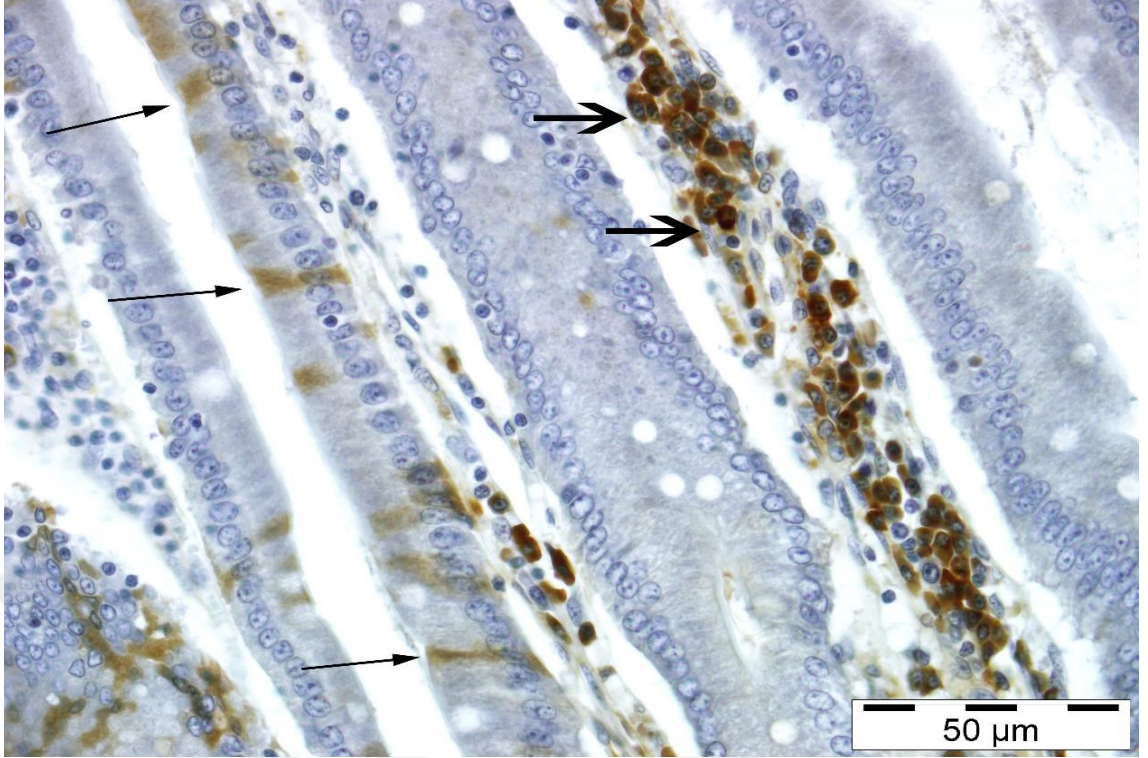
Resim 26: Duodenum Diyabet grubu CCKAR immunoreaktivitesi genel görünümü. Bar: 200μm



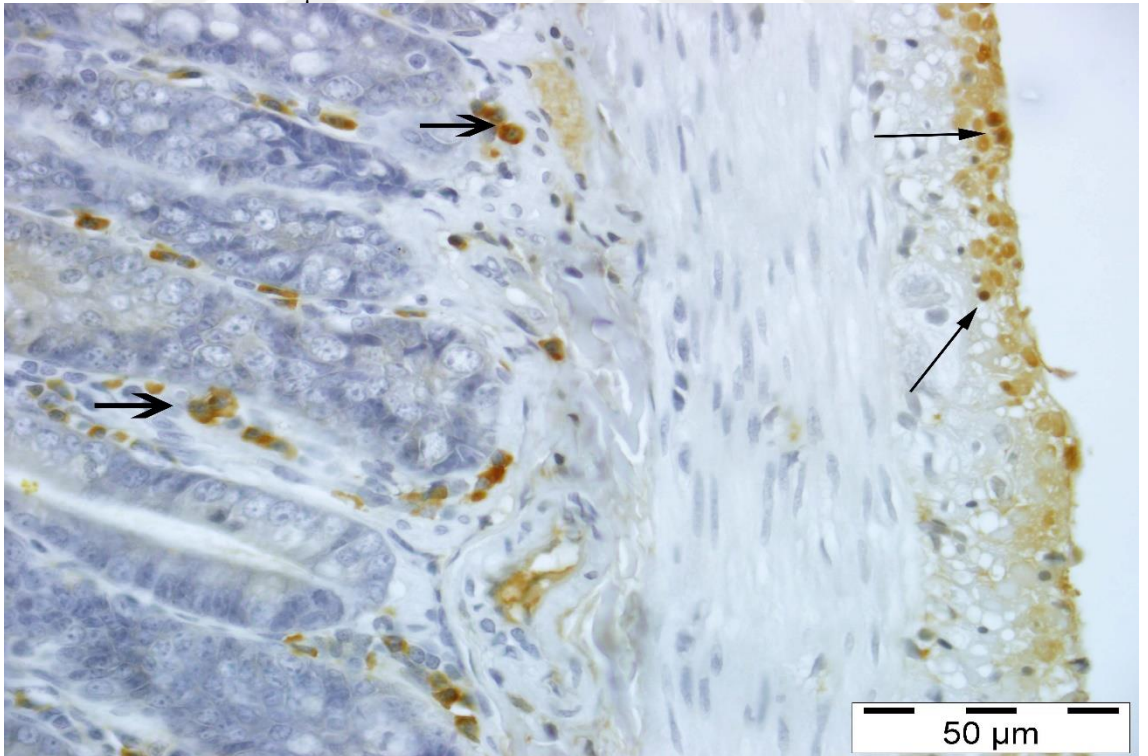
Resim 27: Duodenum Kontrol grubu CCKAR immunoreaktivitesi genel görünümü. Bar:200μm



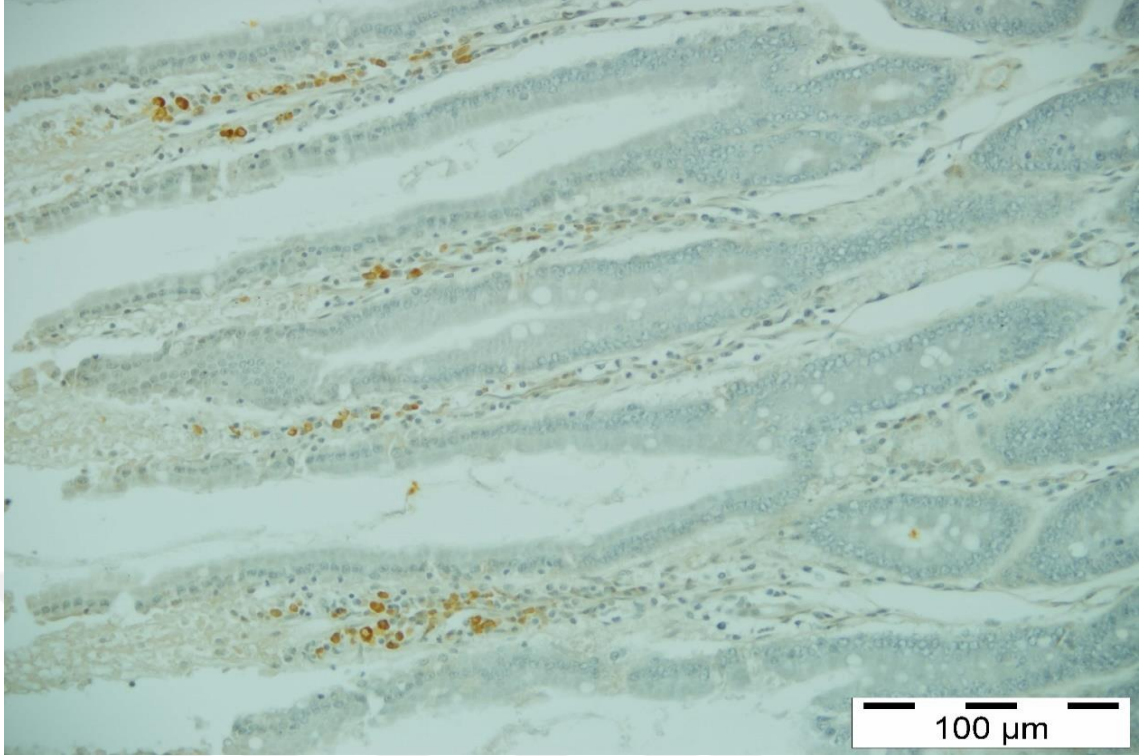
Resim 28: Duodenum Diyabet+KOS grubu CCKAR immunoreaktivitesi genel görünümü. Bar: 200μm



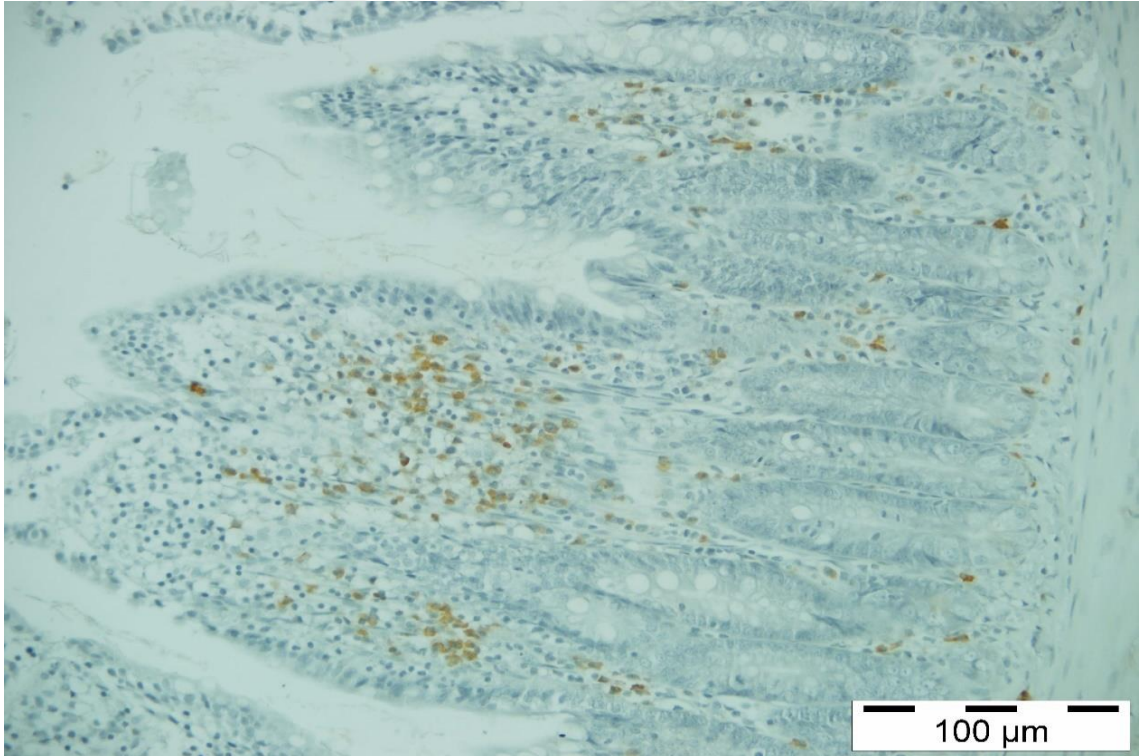
Resim 29: Duodenum Diyabet grubu. **İnce Oklar:** Uzun yapılı epitel hücrelerde CCKAR immunoreaktivitesi. **Kalın Oklar:** Lamina propriya bağ doku hücrelerinde CCKAR immunoreaktivitesi. Bar: 50µm



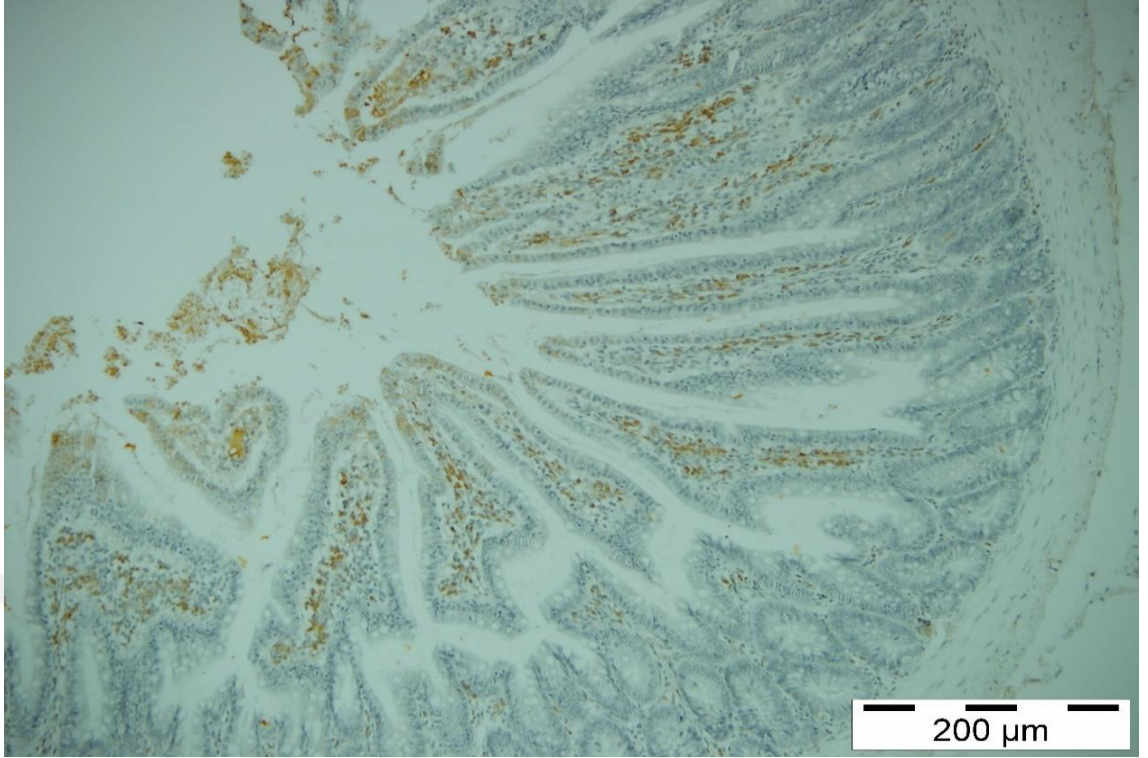
Resim 30: Duodenum Kontrol grubu. **İnce Oklar:** Tunika muskularis CCKAR pozitif hücreler, **Kalın Oklar:** Bağ doku CCKAR immunpozitif hücre. Bar: 50µm



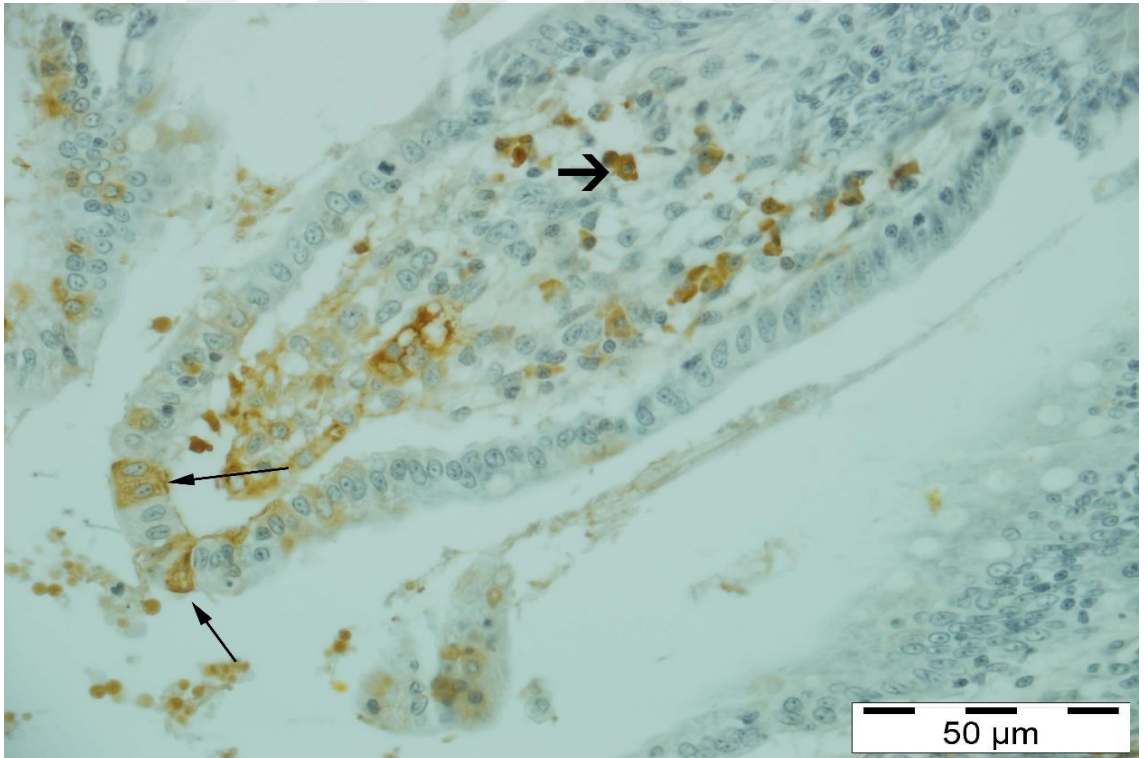
Resim 31: Jejunum Diyabet grubu CCKAR immunoreaktivitesi genel görünümü. Bar: 100µm



Resim 32: İleum Kontrol grubu CCKAR immunoreaktivitesi genel görünümü. Bar: 100µm



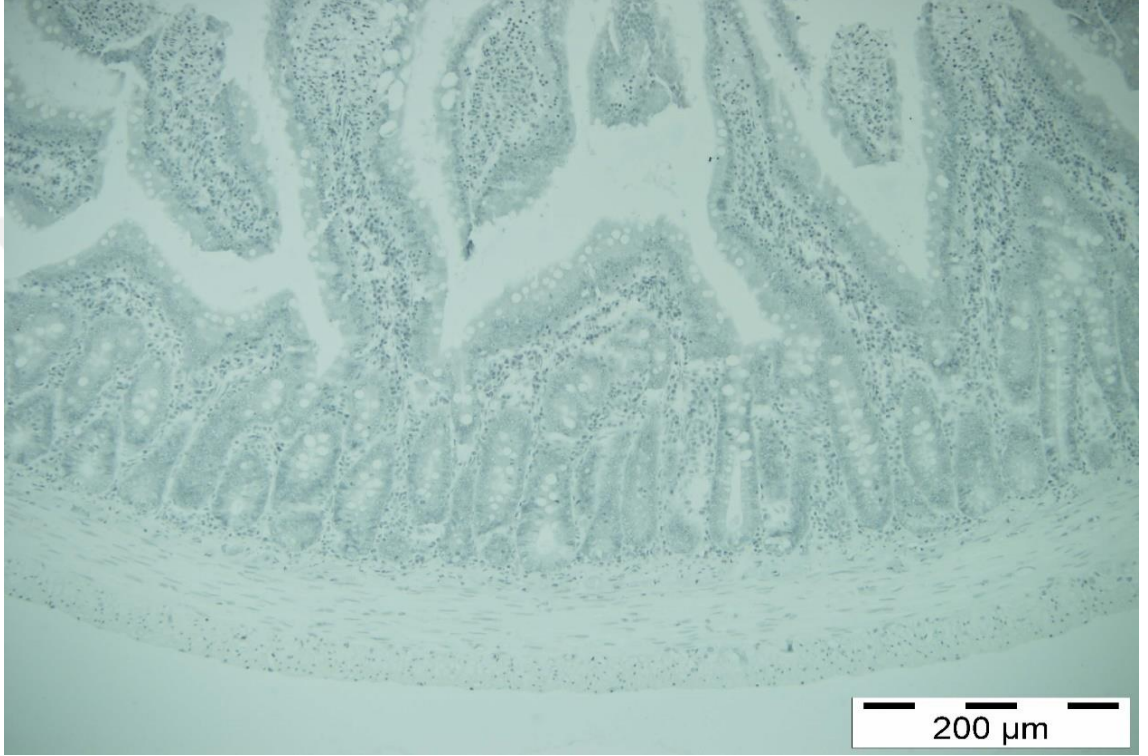
Resim 33: İleum Diyabet+KOS grubu CCKAR immunoreaktivitesi genel görünümü. Bar: 200µm



Resim 34: İleum Diyabet+KOS grubu. **İnce Oklar:** immunpozitif epitel hücreleri, **Kalın Ok:** immunpozitif bağ doku hücreleri. Bar: 50µm

Tablo 11. İnce bağırsak dokusunda genel olarak CCKAR immunoreaktivitesinin skorlama tablosu

	Kontrol	Sham	Diyabet	KOS	Dia+KOS
T. mukoza	+	+	++	++	+++
L. epitelyalis	-	-	+	-	+
L. propriya	+	+	++	+++	+++
Submukoza	-	-	+	++	++

**Resim 35:** Negatif Kontrol boyaması. Bar: 200μm

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Histolojik ve Histometrik Bulguların Değerlendirilmesi

Diyabetes mellitus, yol açtığı hasardan dolayı doku ve organlarda biyokimyasal, fonksiyonel değişiklikler oluşur (Palmer 1993). Çalışmamızda diyabet oluşturulmuş ratlara KOS'u uygulayarak duodenum, jejunum ve ileumda histolojik değişimlerin yanısıra, proliferatif hücrelerin tespit edilmesinde bir belirteç olan PCNA'nın, pankreas enziminin salgılanmasının, pankreas bezinin büyümesinin ve bağırsak hareketliliğinin kontrolünden sorumlu olan CCK'nın ve tokluk belirteci görevi olan PYY'nin immunoreaktivitesinin incelenmesi amaçlandı.

Zhao ve ark. (2003), Farokhi ve ark. (2012) ve Ramesh ve ark. (2007) yaptıkları çalışmalarında diyabetes mellitusun canlı ağırlığı azalttığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da bu bilgilerle paralel bir şekilde diyabet oluşturulan ratların canlı ağırlıklarında önemli derecede azalma olduğu tespit edildi. Diyabette kilo kaybı söz konusudur. Quinn (2002) diyabetteki kilo kaybının, pankreas β hücrelerinin harabiyetiyle hücrelerin glikozu kullanamaması ve hücrelerin ihtiyaç olan glikozu lipolizis ve glikoneogenesis yoluyla elde etmeye çalışmasından dolayı vücut ağırlığında azalma meydana geldiğini belirtmiştir.

Bağırsak, karmaşık bir sinirsel duyu ve eylem ağına sahiptir. Miyenterik kasılma ve gevşemeyi kontrol ederek motilite ile sindirim için gereken kuvvetleri oluşturur (Bhor ve ark. 2004). İnce bağırsak glikoz regülasyonunda ve diyabet patogeneziinde kilit bir rol oynayabilir. Bu nedenle diyabetik enteropati (DE) tedavisinin hedefleri, glisemik kontrole odaklanır ve akut hiperglisemik durumun gastrointestinal semptomlar üzerindeki etkilerini, ayrıca kronik semptomların yönetimi, ağırlıklı olarak bozulmuş sinir ağlarından kaynaklanan dismotilite üzerindeki etkilerini hafifletmeye yöneliktir (Gotfried ve ark. 2017). DM ilerledikçe sonraki aşamalarında meydana gelen düzensiz nöronal ağların gelişmesi diyabetin oluşturduğu hasarlarda görülen anormal motiliteye yol açan temel bir patolojik mekanizma olduğu belirtilmektedir (Chandrasekharan ve Srinivasan 2007, Furlan ve ark. 1999, Zanoni ve ark. 2003).

DM'in ince bağırsak üzerine zararlı etkileri hem insan hem de hayvan çalışmalarında, bağırsak mukozal bariyerinin, sinir ağlarının ve bozulan iyileşme ve

yeniden şekillenme mekanizmalarında hücrel hasar şeklinde kendini göstermektedir (Bhor ve ark. 2004, D'Addio ve Fiorina, 2016, Ordög 2008). Diyabetes mellitusun ince bağırsak üzerinde histolojik olarak etkilerini incelediğimiz bu çalışmada, diyabetin lamina epitelyalis katmanındaki epitel hücrelerinde düzensizlik, lamina propriya ve submukoza katmanlarında dağılımlar olduğunu belirledik. Ayrıca diyabetik grupta villus uzunluğu, villus genişliği ve kript derinliğinde farklılıkların olduğu tespit edildi. STZ ile diyabet oluşturulan ratların ince bağırsak morfolojisinin değiştirdiği bilinmektedir. Zhao ve ark. (2003) streptozotosin ile diyabet oluşturulan ratlarda duodenum, jejunum ve ileum dokularında villus uzunluğu, villus genişliği, kript derinliği, mukoza kalınlığı ile submukoza tabakalarının kalınlığının diyabetik grupta oldukça arttığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da Zhao ve ark. (2003)'nin çalışmalarıyla paralel olarak duodenumda villus uzunluğunun diyabet oluşturulan ratlarda önemli derecede arttığı tespit edildi. Diğer taraftan jejunum ve ileumda diyabetin villus uzunluğunu artırmadığı gözlemlendi. Villus genişliğinin duodenum ve jejunumdaki diyabetik grupta önemli derecede azaldığı, ileumda ise diyabet grubu villus genişliğinin kontrol ve sham grupları ile benzer olduğu görüldü. Yine Zhao ve ark. (2003)'nin yaptıkları çalışmada diyabetik ratların ince bağırsaklarında kript derinliğinin kontrol grubuna göre arttığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise kript derinliğinin duodenum, jejunum ve ileum dokularının hepsinde diyabet grubunda kontrol grubuna göre azaldığı belirlendi.

Ayrıca goblet hücre sayısının duodenumda diyabetik grupta istatistiğe yansımaya bir azalma olduğu, jejunumda diyabetik ratlarda anlamlı bir şekilde azaldığı, ileumda ise jejunumdan farklı olarak diyabetik gruptaki goblet hücre sayısının diğer gruplara oranla anlamlı derecede arttığı belirlendi. Buna ilaveten enfeksiyon ve hastalık durumlarında sayısı artabilen Paneth hücrelerinin (Ross ve Pawlina 2014) gruplar arası karşılaştırılmalarına bakıldığında, duodenum, jejunum ve ileumda diyabetik gruplarda Paneth hücre sayısının önemli derecede arttığı gözlemlendi.

Kitosan ve türevlerinin gerek hücre zarına gerekse hücrenin hayati olaylarına olumsuz etkisinin olmadığı ifade edilmiştir (Thanou ve ark. 2001).

Ito ve ark. (2000) çalışmalarında, kitosanın sıçanların midesinde sitoprotektif ve ülser iyileştirici etkilere sahip olduğunu belirtmişlerdir. Hayashi ve Ito (2002) obez

diyabetik farelerde kitosanın antidiyabetik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında kitosan verilen grupta 1. haftasından itibaren serum glikoz dzeyelerinin belirgin bir şekilde düştüğünü, günlük olarak içme suyu ile birlikte alınan kitosanın diyabetik obez farelerde hiperglisemi, hiperinsülinemi ve hipertrigliserideminin tedavisinde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Kondo ve ark. (2000) yaptıkları çalışmada farelere 22 hafta boyunca düşük molekül ağırlıklı kitosan uygulanmasının farelerde diyabetin yavaş ilerleyişini önlediğini ortaya koymuşlardır. Ancak bizim alışmamızda KOS uygulanan diyabetik ratlarda kan-glikoz dzeyelerinde herhangi bir düşüklüğe sebep olmadığı tespit edildi. Bu durumun uygulanan KOS'un dozuna ve deney süresinin uzunluğu ile bağlantılı olabileceğini düşünmekteyiz.

Hu ve ark. (2018)'nin domuz yavrularına düşük moleküllü kitosan içerikli diyet uyguladıkları çalışmalarında, yavru domuzların büyüme performansını, bağırsak morfolojisini, bağırsak epitel hücrelerindeki bariyer fonksiyonlarını, bağırsakta sitokin ekspresyonlarını ve antioksidan sistemdeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında, kontrol grubu ile kitosan içerikli diyet uygulanan grup arasında canlı ağırlık bakımından herhangi bir fark olmadığını belirtmişlerdir. Ayrıca kitosan diyeti uygulananlarda bağırsakta villus boyu, villus eni ve kript derinliğini kontrol grubu ile kıyaslamışlar ve istatistiksel anlamda önemli bir fark olmadığını tespit etmişler. Ayrıca kitosan içerikli takviye yapılan grupta kontrol grubuna kıyasla jejunal mukozada IL-1 ve TNF- α ekspresyonunda önemli derecede azalma olurken, TGF- β ve IL-10'un ekspresyonunda önemli bir fark olmadığını belirtmişlerdir. Antioksidan enzim aktiviteleri yönünden ise her iki grup arasında fark olmadığını bildirmişlerdir.

Wan ve ark. (2017) alışmalarında domuzlarda KOS uygulamasının ince bağırsağın duodenum bölümünde yapısal değişimlere neden olduğunu, jejenum ve ileumda ise herhangi bir değişimin olmadığını belirtmişlerdir. Villus boyu ve kript derinliği yönü ile yaptıkları incelemelerinde sadece KOS grubunun duodenum bölgesinde villus uzunluğunun arttığını bildirmişlerdir. Xu ve ark. (2013) yaptıkları çalışmalarında, 14 gün süresince kitosan alımının domuzlarda duodenum, jejenum ve ileumda villus uzunluğunu ve kript derinliğini arttırdığını tespit etmişlerdir. Bizim alışmamızda ise duodenumda villus uzunluğunun diyabet, KOS ve diyabet+KOS gruplarında sham ve kontrol gruplarına göre daha uzun olduğu, villus genişliğinin ve kript derinliğinin diyabetik grupta kontrole göre azaldığını ancak diyabet+KOS

grubunda kontrolle benzer olduğunu belirledik. Jejenum ve ileumda, diyabet grubunda villus uzunluğu kontrole göre azalırken, diyabet+KOS grubunun diğer tüm gruplara göre villus uzunluğunun daha fazla olduğu belirlendi. Villus genişliği ve kript derinliği bakımından duodenumla benzer şekilde jejenumda da diyabet grubunda anlamlı derecede azaldığı, diyabet+KOS grubunda kontrol grubuna göre bir fark olmadığı tespit edildi. Villus genişliği ve kript derinliğinde diyabetes mellitus sebebiyle oluşan azalmanın KOS uygulaması ile normal düzeylerine yaklaştığını düşünmekteyiz.

PCNA İmmunoreaktivitesinin Değerlendirilmesi

Wijsman ve ark. (1992) PCNA immunoreaktivitesini normal ve neoplastik sıçanların bağırsak dokusunda incelemişler ve normal sıçanlarda PCNA immunoreaktivitesinin tunika mukozada, kriptlerde çok yoğun olarak başlayıp, villuslara doğru azalan DNA replikasyonu nedeniyle az yoğunlukta ve villus uç kısımlarında tamamen durduğunu belirtmişlerdir. Carabajal ve ark. (2012) ratların ince bağırsaklarında PCNA immunoreaktivitesinin yoğun olarak kriptlerle sınırlı olduğunu bildirmişlerdir. Zhang ve ark. (2015)'da çalışmalarında rat ince bağırsağının jejenumunda PCNA immunoreaktivitesini incelemişler ve reaktivitenin yoğun olarak tunika mukozada kriptlerde olduğunu, diğer katmanlarda immunoreaktiviteye rastlamadıklarını belirtmişlerdir. Ezaki ve ark. (1995) rat dokularında PCNA immunoreaktivitesini inceledikleri çalışmalarında diğer çalışmalarda belirtildiği gibi ince bağırsaklarda tunika mukozada kriptlerde olduğunu, özellikle kriptlerin bazaldeki hücrelerin çekirdeklerinde çok yoğun olduğunu tespit etmişlerdir. Yaptığımız bu çalışmada belirtilen araştırmalarla benzer şekilde PCNA immunoreaktivitesinin ince bağırsak bölümlerinin tunika mukozasında, özellikle kriptlerde yoğun olarak başlayıp villuslara doğru azalan bir şekilde olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun ince bağırsağın yüzey epitelinin kendini 5-6 günde bir yenilemesinden ve hücre replikasyon zonunun bezin alt yarısına sınırlanmış (Ross ve Pawlina 2014) olmasından dolayı olduğu düşünülmektedir.

Leach ve ark. (2004) diyabetli ve normal plasenta dokusunda PCNA immunoreaktivitesini incelediklerinde diyabetik plasentada immunoreaktivitenin normal plasenta dokusuna göre daha yoğun olduğunu belirtmişlerdir. Dkhil ve ark. (2016) STZ ile diyabet oluşturdukları ratların testis dokularında PCNA

immunoreaktivitesinin kontrole göre azaldığını bildirmişlerdir. Tang ve ark. (2017) kitosan olisakkarit kullanarak oluşturdukları jeli diyabetik ülser yaralarında kullandıklarında kitosan oligosakkaritin fibroblast göçünü, granülasyon doku oluşumunu ve anjiyogenezi hızlandırarak PCNA ekspresyonunu arttırdığını bildirmişlerdir. Yapılan literatür taramalarında diyabetlilerin bağırsaklarında PCNA immunoreaktivitesi yönü ile herhangi bir çalışmaya rastlanmamış olup, bizim çalışmamızda ise diyabetli ratların ince bağırsaklarında PCNA immunoreaktivitesinin kontrol ve sham grubunda bulunan ratlara göre arttığı tespit edildi. KOS ve diyabet+KOS gruplarında PCNA immunoreaktivitesinin diyabet grubu ile benzer olduğu belirlendi.

PYY İmmunoreaktivitesinin Değerlendirilmesi

El-Salhy ve ark. (2016), kalın bağırsağın kolon kısmında enteroendokrin hücreler, kök hücreler ve farklılaşma progenitor hücreleri üzerine yaptıkları çalışmalarında PYY immunoreaktivitesinin özellikle liberkühn kriptlerinde yoğun olduğunu belirtmişlerdir.

Pyarokhil ve ark. (2012) gastrointestinal sistem üzerinde GLP-1, pankreatik polipeptid ve PYY'nin immunoreaktivitesini inceledikleri çalışmalarında, PYY immunoreaktif hücrelerin lamina epitelyaliste absorbtif hücreler arasındaki tek tek hücrelerde olduğunu, immunpozitif hücrelerin en yoğun kalın bağırsakta rektumda ve ince bağırsaktaki ileumda olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise PYY immunoreaktivitesinin tüm gruplardaki duodenum, jejunum ve ileumda submukozada tek tek hücrelerde ve villus intestinalisin lamina propriyadaki bulunan bağ doku hücrelerinin bazılarında olduğu belirlendi. Ayrıca duodenumda lamina epitelyalis hücrelerinde, jejunumda bazı villus intestinalislerin uç epitel hücrelerinde, ileumda ise lamina epitelyalis ve kript epitellerinin bazılarında PYY immunoreaktivitesi olduğu gözlemlendi. Ayrıca PYY immunoreaktivitesinin en yoğun duodenumda, en zayıf ileumda olduğu tespit edildi.

Jorsal ve ark. (2018) diyabetik bireyler ile sağlıklı bireylerde K ve L enteroendokrin hücrelerini incelediklerinde L hücrelerinde ekspre edilen PYY'nin duodenumdan ileuma doğru arttığını, diyabetik bireylerde sağlıklı bireylere oranla PYY ekspresyonunun daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. El-Salhy (1998,2002), El-

Salhy ve ark. (2013) yaptıkları çalışmalarda diyabetli canlılarda PYY seviyesinin azaldığını belirtmişlerdir. Bu çalışmada PYY'nin diyabet, KOS ve diyabet+KOS gruplarında kontrol ve sham gruplarında bulunan ratlara göre immunoreaktivitenin arttığı gözlemlenmiştir.

CCKAR İmmunoreaktivitesinin Değerlendirilmesi

CCK temel olarak ince bağırsak I hücrelerinden üretilir, esas olarak ince bağırsağın duodenumun bölümünde sentezlenmektedir, bununla birlikte az miktarda jejunumdan, korteks içeren beyin kısımları hipokampus, amigdala ve hipotalamusta üretilmektedir (Beinfeld ve Korchak 1985). Protein ve yağlar CCK salınımının güçlü uyarıcılarıdır, kan dolaşımındaki glikoz artışı ise CCK salınımında çok az etkiye sahiptir (Liddle ve ark. 1985). Besinlerin bağırsaklara girmesinin ardından gıda alımının düzenlenmesi için CCK, pankreas polipeptidi, PYY ve glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) gibi bağırsak peptid hormonlarının salınımının uyarıldığı bilinmektedir (Coll ve ark. 2007, Cummings ve Overduin 2007). CCK duodenum mukozasından serbest bırakılır ve biyolojik fonksiyonlarını yerine getirmesi için mukozanın lamina propriyasında innerve olan CCK-A reseptörleri aracılığıyla görevlerini yapar (Berthoud ve Patterson 1996, Moran ve ark. 1987).

Sternini ve ark. (1999) yaptıkları çalışmada CCK-A reseptörünün bağırsakta özellikle bazı miyenterik nöronlarda ve miyenterik pleksusta yoğun bir ağ oluşturan variköz fiberlerde olduğunu belirtmişlerdir.

El-Salhy ve ark. (1998) diyabetik farelerin ince bağırsaklarında endokrin hücreleri inceledikleri çalışmalarında, CCK immunoreaktivitesinin diyabetik hayvanlarda önemli derecede azaldığını, aynı zamanda hücre salgı endeksinin CCK salgılayan hücreler hariç tüm endokrin hücre tiplerinde yükseldiğini bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, insan diyabetinde gözlenen gastrointestinal fonksiyon bozukluklarının diyabetli hayvan modellerinin ince bağırsaklarının endokrin hücrelerinde görülen bu anormallikler ile ilgili olabileceğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda CCKAR immunoreaktivitesinin duodenumda diyabet ve diyabet+KOS gruplarında kontrol, sham ve KOS gruplarına göre daha yoğun olduğu, jejunum ve ileumda ise en yoğun immunoreaktivitenin diyabet+KOS grubunda olduğu belirlendi.

Dolaşımdaki CCK'nın fizyolojik fonksiyonlarından biri pilorik sfinkterin kontrolü ve ardından besin maddelerinin İnce bağırsaklara verilmesidir. Patterson ve ark. (2001)'nin rat piloris ve duodenumda enterik nöronlarda, düz kas hücrelerinde ve Cajal'ın intersitisyel hücrelerinde (ICC) CCKAR immunoreaktivitesini araştırdıkları çalışmalarında, yüksek antikor konsantrasyonlarında tüm dairesel kaslarda orta derecede immunoreaktivite olduğunu dairesel düz kas hücrelerinde de düşük CCKAR immunoreaktivitesi olduğunu bildirmişlerdir. CCKAR immunoreaktivitesi distal sfinkter kasında ve proksimal duodenumun dairesel kasında olduğu belirtilmektedir. Şenol ve ark. (2009) sazanların gastrointestinal kanal mukozası üzerinde salgılanan hormon ve peptidlerin lokalizasyonlarını inceledikleri çalışmalarında CCK immunoreaktivitesinin lamina epitelyalite, miyenterik sinir tellerinde ve submukozadaki bazı bağ doku hücrelerinde olduğunu belirtmişlerdir. Yaptığımız bu çalışmada CCKAR immunoreaktivitesine longitudinal seyirli kas katmanında bazı hücrelerde rastlandı. Ayrıca genel olarak CCK-AR immunoreaktivitesinin lamina propriya ve submukoza bağ doku hücrelerinde, lamina epitelyalis hücrelerinin sadece birkaçında olduğu belirlendi.

Sonuç olarak;

Çalışmamızda diyabetin ince bağırsak dokusunda oluşturabileceği hasarlar ve bunun üzerine kitosan oligosakkaritin etkilerinin histolojik olarak incelenmesi amaçlandı. Ayrıca diyabetik ve non-diyabetik ratların ince bağırsaklarında PCNA, PYY ve kolesistokinin dağılımının immunohistokimyasal olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızın sonucunda elde edilen bulgular göstermektedir ki diyabet ince bağırsak morfolojisinde bir takım değişikliklere sebep olmaktadır. Diyabetik ratların duodenumunda yapısal olarak villus uzunluklarının kontrol grubuna göre önemli derecede daha uzun olduğu, jejunum ve ileumda ise böyle bir farkın olmadığı görüldü. Villus genişliği ve kript derinliğinde ise duodenum, jejunum ve ileum dokularının hepsinde kontrol grubuna göre daha az olduğu tespit edildi. Diyabetik ratlarda oluşan bu farkların KOS uygulanan diyabetik ratlarda kontrol grubuna daha yakın sonuçlar olduğu belirlendi. KOS uygulaması sonucunda 14 gün gibi kısa bir sürede diyabetin ince bağırsaklarda morfolojik etkilerinde azalma olduğu belirlendi.

İmmunohistokimyasal olarak ince bağırsakta PCNA immunoreaktivitesinin kriptlerde yoğun olarak başlayıp villus intestinalis uç kısımlarına doğru azaldığı görüldü. En yoğun PCNA immunoreaktivitesinin diyabetik ratlarda olduğu tespit edildi. PYY ve CCK immunoreaktivitesinin ise ince bağırsak daha çok lamina propria ve submukoza bağ doku hücrelerinde olduğu, yer yer lamina epitelyalis ve kript epitel hücrelerinde olduğu belirlendi. PYY ve CCK immunoreaktivitelerinin her ikisinde de en yoğun reaksiyonun KOS ve Diyabet+KOS gruplarında olduğu tespit edildi.

DM prevalansının ve buna bağlı komplikasyonlarının artması ile birlikte, gastroenterologların diyabetle ilişkili İncelikli bulguların tanı ve tedavisinde dikkatli olmaları önemli hale gelmiştir. Diyabet giderek yaygın bir hastalık haline geldiğinden, oluşturduğu hasarları ilerleten karmaşık patofizyolojik mekanizmaları aydınlatmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Mevcut tedavilerimiz semptomları hafifletmeye yardımcı olurken, gelecekteki araştırmalar ileriki miyopati ve nöropati gelişmiş hastalarında rejeneratif kapasitesini arttırmaya yönelik tedaviler geliştirmeye odaklanmalıdır (Gotfried ve ark. 2017). Çalışmamızda bulunan sonuçların uygulama dozu ve deney süresinin değiştirilmesi ile daha etkili olabileceğini düşünmekteyiz. Yapılan bu çalışmadan elde edilen bulgularla günümüzde çok yaygın olan diyabette sindirim sistemi üzerine etkilerinin değerlendirilmesinin tıp ve ilaç sanayisinde kullanımına ayrıca bu konu ile ilgili yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

5. KAYNAKLAR

- Abacı A, Böber E, Büyükgebiz A, (2007). Tip1 diyabet. güncel pediatri, 5, 1-10.
- Adrian, T. E., Ferri, G.-L., Bacarese-Hamilton, A. J., Fuessl, H. S., Polak, J. M., Bloom, S. R. (1985). Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY. *Gastroenterology*, 89(5), 1070-1077
- Agnihotri, S.A., Mallikarjuna, N.N., Aminabhavi, T.M., (2004). Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery, *Journal of Controlled Release*, 100: 5–28.
- Akay MT . Sitoloji. 4. Baskı. Ankara. 2004.
- Akçay G, Akçay MN, Akarsu E, 2000. Endokrin ve metabolizma hastalıkları. 1.Baskı, Erzurum, Aktif Yayıncılık, s. 191-235.
- Alberti, K. g. m. m., Zimmet, P. z. (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO Consultation. *Diabetic Medicine*, 15(7), 539-553.
- American Diyabetes Association (ADA) (2011). Diagnosis and Classification of Diyabetes Mellitus (Position Statement). *Diyabetes Care*, 34, 62-9.
- American Diyabetes Association, (2012). Diagnosis and classification of diyabetes mellitus. *Diyabetes Care*, 35, S64-S71.
- Arıncı K, Elhan A. (2006). *Anatomi 1.Cilt*. Ankara. Güneş Kitapevi.
- Ar'Rajab A, Ahren B. (1993). Long-term diabetogenic effect of streptozotocin in rats. *Pancreas*. 8(1):50-1
- Association, A. D. (2004). Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 27(suppl 1), s88-s90.
- Avunduk, M. C., Tavli, Ş., Yol, S., Tavli, L., Yavuz, A. (2000). Mide Karsinomlarında Hücre Proliferasyon Belirleyicisi Olarak Pcn, Ki-67 Ve Agnor Kullanımı. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 53(01).
- Ballantyne, G. H. (2006). Peptide YY(1-36) and Peptide YY(3-36): Part I. Distribution, Release and Actions. *Obesity Surgery*, 16(5), 651-658.
- Batterham, R. L., Cowley, M. A., Small, C. J., Herzog, H., Cohen, M. A., Dakin, C. L., Bloom, S. R. (2002). Gut hormone PYY 3-36 physiologically inhibits food intake. *Nature*, 418(6898), 650.
- Beinfeld, M. C., Korchak, D. M. (1985). The regional distribution and the chemical, chromatographic, and immunologic characterization of motilin brain peptides: the evidence for a difference between brain and intestinal motilin-immunoreactive peptides. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 5(9), 2502-2509.
- Berger, J., Reist, M., Mayer, J.M., Fel, O., Peppas, N.A., Gurny, R., (2004). Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 57, p.19–34

Berthoud, H. R., Patterson, L. M. (1996). Anatomical relationship between vagal afferent fibers and CCK-immunoreactive entero-endocrine cells in the rat small intestinal mucosa. *Acta Anatomica*, 156(2), 123-131.

Bhor, V. M., Raghuram, N., Sivakami, S. (2004). Oxidative damage and altered antioxidant enzyme activities in the small intestine of streptozotocin-induced diabetic rats. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36(1), 89-97.

Bjelakovic G, Nagorni A, Stamenkovi I, Benedeto-Stojanov D, Bjelakovi M, Petrovi B, Anti S. (2005). Diabetes Mellitus and Digestive Disorders. *Acta Facultatis Medicae Naissensis*; 22(1): 43-50.

Bozkurt M, Sandıkçı M. (2008). Farklı yaşlardaki civcivlerin barsak villus boyu ve çapı ile kadeh hücresi ve mitotik hücre sayılarındaki değişimler. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(1):5-9.

Bragg JD. (2008). Understanding diabetes and its effects on the gastrointestinal tract. *DOs Against Diabetes*, 3:9-15.

Broberger, C. (2005). Brain regulation of food intake and appetite: molecules and networks. *Journal of Internal Medicine*, 258(4), 301-327.

Buchan AMJ, Polak JM, Solcia E, Capella C, Hudson D, Pears AGE. (1978). Electron immunohistochemical evidence for the human intestinal I cell as the source of CCK. *Gut*, 19, 403-407.

Bytzer, P., Talley, N. J., Leemon, M., Young, L. J., Jones, M. P., Horowitz, M. (2001). Prevalence of gastrointestinal symptoms associated with diabetes mellitus: a population-based survey of 15,000 adults. *Archives of Internal Medicine*, 161(16), 1989-1996.

Carabajal, E., Massari, N., Croci, M., Martinel Lamas, D. J., Prestifilippo, J. P., Bergoc, R. M., Medina, V. A. (2012). Radioprotective potential of histamine on rat small intestine and uterus. *European Journal of Histochemistry: EJH*, 56(4), e48.

Cardoso, A., Lins, C.I.M., Santos, E.R., Silva, M.C.F., and Campos, T.G.M., (2012). Microbial Enhance of Chitosan Production by *Rhizopus arrhizus* Using Agroindustrial Substrates. *Molecules*, 17, 4904-4914.

Chandrasekharan, B., Srinivasan, S. (2007). Diabetes and the enteric nervous system. *Neurogastroenterology and Motility: The Official Journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, 19(12), 951-960.

Chen, X., DiMaggio, D. A., Han, S. P., Westfall, T. C. (1997). Autoreceptor-induced inhibition of neuropeptide Y release from PC-12 cells is mediated by Y2 receptors. *The American Journal of Physiology*, 273(4 Pt 2), H1737-1744.

Clark, J. T., Sahu, A., Kalra, P. S., Balasubramaniam, A., Kalra, S. P. (1987). Neuropeptide Y (NPY)-induced feeding behavior in female rats: comparison with human NPY ([Met17]NPY), NPY analog ([norLeu4]NPY) and peptide YY. *Regulatory Peptides*, 17(1), 31-39

Coll, A. P., Farooqi, I. S., O'Rahilly, S. (2007). The Hormonal Control of Food Intake. *Cell*, 129(2), 251-262.

Conlon, J. M. (2002). The origin and evolution of peptide YY (PYY) and pancreatic polypeptide (PP). *Peptides*, 23(2), 269-278.

Corp, E. S., McQuade, J., Krasnicki, S., Conze, D. B. (2001). Feeding after fourth ventricular administration of neuropeptide Y receptor agonists in rats. *Peptides*, 22(3), 493-499.

Cummings, D. E., Overduin, J. (2007). Gastrointestinal regulation of food intake. *The Journal of Clinical Investigation*, 117(1), 13-23.

Çambay, Z. (2011). Diyabetik Sıçanlarda Nar (*Punica Granatum*) Çiçeğinin Serumdaki Aspartat Aminotransferaz ve Alanin Aminotransferaz Düzeylerine Etkilerinin Araştırılması. *Ecological Life Sciences*, 6(4), 124-133.

D'Addio, F., Fiorina, P. (2016). Type 1 Diabetes and Dysfunctional Intestinal Homeostasis. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 27(7), 493-503.

Deng, X., Guarita, D. R., Pedroso, M. R., Kreiss, C., Wood, P. G., Sved, A. F., Whitcomb, D. C. (2001). PYY inhibits CCK-stimulated pancreatic secretion through the area postrema in unanesthetized rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 281(2), R645-653.

Dkhil, M. A., Zrieq, R., Al-Quraishy, S., Abdel Moneim, A. E. (2016). Selenium Nanoparticles Attenuate Oxidative Stress and Testicular Damage in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Molecules*, 21(11), 1517.

Ekblad, E., Sundler, F. (2002). Distribution of pancreatic polypeptide and peptide YY. *Peptides*, 23(2), 251-261.

El-Tahlawy K.F., El-bendary M.A., Elhendawy A.G., Hudson S.M., (2005). The Antimicrobial Activity of Cotton Fabrics Treated with Different Crosslinking Agents and Chitosan, *Carbohydrate Polymers*, 60, p. 421-430.

Ekinci N, Kırkpınar K, Acer N. (2004). The Examination of Morphological Changes in Duodenum of Vagotomized and Sympathectomized Rats. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(3):8-17.

El-Salhy, M. (1998). Neuroendocrine peptides of the gastrointestinal tract of an animal model of human type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetologica*, 35(4), 194-198.

El-Salhy, M., Zachrisson, S., Spångéus, A. (1998). Abnormalities of small intestinal endocrine cells in non-obese diabetic mice. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 12(4), 215-223.

El-Salhy, M, Mazzawi, T., Gundersen, D., Hatlebakk, J. G., Hausken, T. (2013). The role of peptide YY in gastrointestinal diseases and disorders (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 31(2), 275-282.

El-Salhy, Magdy, Mazzawi, T., Umezawa, K., Gilja, O. H. (2016). Enteroendocrine cells, stem cells and differentiation progenitors in rats with TNBS-induced colitis. *International Journal of Molecular Medicine*, 38(6), 1743-1751.

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

Eroschenko VP. Di Fore Histoloji Atlası (Türkçe çeviri) 9.Baskı. Palme Yayıncılık. 2001.

Essers, J., Theil, A. F., Baldeyron, C., van Cappellen, W. A., Houtsmuller, A. B., Kanaar, R., Vermeulen, W. (2005). Nuclear dynamics of PCNA in DNA replication and repair. *Molecular and Cellular Biology*, 25(21), 9350-9359.

Ezaki, T., Yao, L., Matsuno, K. (1995). The identification of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) on rat tissue cryosections and its application to double immunostaining with other markers. *Archives of Histology and Cytology*, 58(1), 103-115

Farokhi, F., Kaffash Farkhad, N., Togmechi, A., Soltani Band, K. (2012). Preventive effects of *Prangos ferulacea* (L.) Lindl on liver damage of diabetic rats induced by alloxan. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 2(2), 63-71.

Ferri, G. L., Adrian, T. E., Allen, J. M., Soimero, L., Cancellieri, A., Yeats, J. C., Bloom, S. R. (1988). Intramural distribution of regulatory peptides in the sigmoid-recto-anal region of the human gut. *Gut*, 29(6), 762-768.

Foley, J. F., Dietrich, D. R., Swenberg, J. A., Maronpot, R. R. (1991). Detection and Evaluation of Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) in Rat Tissue by an Improved Immunohistochemical Procedure. *Journal of Histotechnology*, 14(4), 237-241.

Furlan, M. M., de Miranda Neto, M. H., Sant'ana, D. de M., Molinari, S. L. (1999). Number and size of myenteric neurons of the duodenum of adult rats with acute diabetes. *Arquivos De Neuro-Psiquiatria*, 57(3B), 740-745.

Gartner LP, Hiatt LJ. *Color Textbook of Histology*. Second edition. WB Saunder Co. 2001.

Gilmartin, A. B. H., Ural, S. H., Repke, J. T. (2008). Gestational diabetes mellitus. *Reviews in Obstetrics & Gynecology*, 1(3), 129-134.

Gotfried, J., Priest, S., Schey, R. (2017). Diabetes and the Small Intestine. *Current Treatment Options in Gastroenterology*, 15(4), 490-507.

Gökmen FG. *Sistematik Anatomi*. İzmir. İzmir Güven Kitapevi. 2003

Guang, W.Y. (2002). The Effect of Chitosan and Its Derivatives on the Dyeability of Silk, Ph.D. Thesis, Hong Kong Polytechnic University.

Hammond MD. The use of chitosan to preserve and extend atlantic salmon quality. The Graduate School the University of Maine Master of Science Thesis. 2004.

Hatiboğlu MT. (2003). *Anatomi ve Fizyoloji*. 14. Baskı. Ankara. Hatiboğlu Yayınları.

Hayashi, K., Ito, M. (2002). Antidiabetic action of low molecular weight chitosan in genetically obese diabetic KK-Ay mice. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 25(2), 188-192.

Hilton, D. J., Reid, C. M., O'Rourke, P. K., Welborn, T. A. (2002). Diabetes detection in Australian general practice: a comparison of diagnostic criteria. *The Medical Journal of Australia*, 176(3), 104-107.

Hu, S., Wang, Y., Wen, X., Wang, L., Jiang, Z., Zheng, C. (2018). Effects of low-molecular-weight chitosan on the growth performance, intestinal morphology, barrier function, cytokine expression and antioxidant system of weaned piglets. *BMC Veterinary Research*, 14(1), 215.

Huda, M. S. B., Wilding, J. P. H., Pinkney, J. H. (2006). Gut peptides and the regulation of appetite. *Obesity Reviews*, 7(2), 163-182.

Hsu SM, Raine L, Fanger H. (1981). Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *Journal of Histochemistry&Cytochemistry*, 29: 577-580.

- Ito, M., Ban, A., Ishihara, M. (2000). Anti-ulcer effects of chitin and chitosan, healthy foods, in rats. *Japanese Journal of Pharmacology*, 82(3), 218-225.
- Jacqueline N, Crawley JN, Corwin RL. (1994). Biological actions of cholecystokinin. *Peptides* 15: 731-755
- Je JY, Park PJ, Kim SK (2004). Free radical scavenging properties of hetero chitooligosaccharides using an ESR spectroscopy. *Food and Chemical Toxicology*, 42: 381-387.
- Johnson LR. (1991). Peptides of the gastrointestinal tract. In: Johnson LR (Ed). *Gastrointestinal Physiology* 1 edition. Missouri
- Jorsal, T., Rhee, N. A., Pedersen, J., Wahlgren, C. D., Mortensen, B., Jepsen, S. L., Knop, F. K. (2018). Enteroendocrine K and L cells in healthy and type 2 diabetic individuals. *Diabetologia*, 61(2), 284-294.
- Ju C, Yue W, Yang Z, Zhang Q, Yang X, Liu Z, Zhang F. (2010). Antidiabetic effect and mechanism of Chitooligoaccharides. *Biol. Pharm. Bull.* 33(9), 1511-1516
- Junquera LG, Carnerira J, Kelly RO. *Temel Histoloji (Türkçe Çeviri)* 8.Baskı. Barış Kitapevi 1998.
- Kachur JF, Wang SX, Gullkson GW. (1991). CCK- mediated ileal electrolyte transport in the guinea pig. *Gastroenterology*; 101: 1428-1431
- Kamil JYVA, Jeon YJ,(2002). Shahidi F. Antioxidative activity of chitosans of different viscosity in cooked comminuted flesh of herring (*Clupea harengus*). *Food Chemistry*. 79 (1): 6977
- Kanitkar M, Bhonde R. (2004). Existence of islet regenerating factors within the pancreas. *Rev. Diabet Stud.* 1: 185-92.
- Karahan S, Çavuşoğlu K, Atmaca HT, Yalçın E. (2008). Albino farelerde iyonlaştırıcı radyasyonun hepatosit morfolojisi ve proliferatif hücre çekirdek antijeni (PCNA) ekspresyonu üzerindeki etkileri. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Derg.* 5(2): 61-6.
- Kawakami, T., Antoh, M., Hasegawa, H., Yamagishi, T., Ito, M., Eda, S. (1992): Experimental study on osteoconductive properties of a chitosan-bonded hydroxyapatite self-hardening paste, *Biomaterials*, 13, 759-763.
- Kelman, Z. (1997). PCNA: structure, functions and interactions. *Oncogene*, 14(6), 629-640.
- Kharroubi, A. T., Darwish, H. M. (2015). Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World Journal of Diabetes*, 6(6), 850-867.
- Kierszenbaum AL. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*. Palme Yayıncılık. 2006.
- Kim JN, Chang IY, Kim HI, Yoon SP. (2009). Long-term effects of chitosan oligosaccharide in streptozotocin-induced diabetic rats. *Islets*, 1:2, 111-116
- King JFA. (2012). The use of animal models in diabetes research. *British Journal of Pharmacology*, 166:877-894.
- Koepfen BM, Stanton BA. (2009). *Berne & Levy physiology*. Updated 6th ed., St Louis, MO: Elsevier/Mosby,

- Kondo Y, Nakatani A, Ito M, Hayashi K (2000). Low molecular weight chitosan prevents the progression of low dose streptozotocin induced slowly progressive diabetes mellitus in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 23(12): 1458-1464.
- Krishna, T. S., Kong, X. P., Gary, S., Burgers, P. M., Kuriyan, J. (1994). Crystal structure of the eukaryotic DNA polymerase processivity factor PCNA. *Cell*, 79(7), 1233-1243.
- Kumar, R., (2000). A review of chitin and chitosan applications. *Journal of Reactive and Functional Polymers*, 46, 1-27.
- Kurita, K., (2001). Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. *Prog. Journal of Polym. Sci.*, 26,1921-1971.
- Larsson L, Rehfeld J. (1989). Distribution of Gastrin and CCK cells in the rat gastrointestinal tract. *Histochemistry* 58:23-31
- Leach, L., Gray, C., Staton, S., Babawale, M. O., Gruchy, A., Foster, C., James, D. K. (2004). Vascular endothelial cadherin and β -catenin in human fetoplacental vessels of pregnancies complicated by Type 1 diabetes: associations with angiogenesis and perturbed barrier function. *Diabetologia*, 47(4), 695-709.
- Lee HW, Park YS, Choi JW, Yi SY, Shin WS (2003). Antidiabetic effects of chitosan oligosaccharides in neonatal streptozotocin induced noninsulin-dependent diabetes mellitus in rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26(8): 1100-1103
- Liddle, R. A., Goldfine, I. D., Rosen, M. S., Taplitz, R. A., Williams, J. A. (1985). Cholecystokinin bioactivity in human plasma. Molecular forms, responses to feeding, and relationship to gallbladder contraction. *The Journal of Clinical Investigation*, 75(4), 1144-1152
- Liddle, Rodger A. (1997). Cholecystokinin Cells. *Annual Review of Physiology*, 59(1), 221-242.
- Liddle, Rodger A. (2003). Cholecystokinin: its role in health and disease. 5.
- Liman N. Endokrin sistem. İçinde: ÖZER A. (Ed): *Veteriner Özel Histoloji*. 2. Baskı syf:67-116. Nobel Yayın Dağıtım, Ankara 2010
- Liu B, Liu WS, Han BQ, Sun YY. (2007). Antidiabetic effects of chitoooligosaccharides on pancreatic islet cells in streptozotocin-induced diabetic rats. *World J Gastroenterol*; 13:725-31.
- Lu J.X., Prudhommeaux, F., Meunier, A., Sedel, L., Guillemin, G., (1999): Effects of chitosan on rat knee cartilages, *Biomaterials*, 20, 1937-1944.
- Maga, G., Hubscher, U. (2003). Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): a dancer with many partners. *Journal of Cell Science*, 116(Pt 15), 3051-3060.
- Majeti, N.V., Kumar, R., (2000). A review of chitin and chitosan applications, *Reactive & Functional Polymers*, 46, 1-27.
- Matsumoto, K., Moriuchi, T., Koji, T., Nakane, P. K. (1987). Molecular cloning of cDNA coding for rat proliferating cell nuclear antigen (PCNA)/cyclin. *The EMBO Journal*, 6(3), 637-642.
- Miura T, Usami M, Tsuura Y, Ishida H, Seino Y (1995). Hypoglycemic and hypolipidemic effect of chitosan in normal and neonatal streptozotocin-induced diabetic mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 18(11): 1623-1625.

Moore KL, Persaud TVN. (2002). İnsan Embriyolojisi (Türkçe Çeviri) 6.Baskı.

Moran TH, Kinzig KP. (2004). Gastrointestinal satiety signals II. Cholecystikinin. *Ann J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 286: G183-G188

Moran TH., Smith GP., Hostetler AM., McHugh, PR. (1987). Transport of cholecystikinin (CCK) binding sites in subdiaphragmatic vagal branches. *Brain Research*, 415(1), 149-152.

Morisset, J. (2005). The gastrointestinal cholecystikinin receptors in health and diseases. *Roczniki Akademii Medycznej W Białymstoku* (1995), 50, 21-36.

Muzzarelli, R.A.A., Mattioli-Belmonte, M., Tietz, C., Biagini, R., Ferioli, G., Brunelli, M.A., Fini, M., Giardino, R., Ilari, P., Biagini, G., (1994): Stimulatory effect on bone formation exerted by a modified chitosan, *Biomaterials*, 15, 1075-1081. 60

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

Ordög, T. (2008). Interstitial cells of Cajal in diabetic gastroenteropathy. *Neurogastroenterology and Motility: The Official Journal of the European Gastrointestinal Motility Society*, 20(1), 8-18.

Oztürk, Y., Altan, V. M., Yildizoğlu-Ari, N. (1996). Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions. *Pharmacological Reviews*, 48(1), 69-112.

Özaydın T. Kuluçkada deneysel olarak oluşturulan ısı stresinin boylerlerde İnce bağırsağın embriyonik gelişimi üzerindeki etkilerinin histokimyasal, immünohistokimyasal ve histometrik metotlarla belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı, Doktora Tezi. 2009.

Palmer, J. P. (1993). Predicting IDDM- 1991. *Diabetes Reviews*, 104-115.

Patterson, L. M., Zheng, H., Ward, S. M., Berthoud, H. R. (2001). Immunohistochemical identification of cholecystikinin A receptors on interstitial cells of Cajal, smooth muscle, and enteric neurons in rat pylorus. *Cell and Tissue Research*, 305(1), 11-23.

Paunesku, T., Mittal, S., Protić, M., Oryhon, J., Korolev, S. V., Joachimiak, A., Woloschak, G. E. (2001). Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): ringmaster of the genome. *International Journal of Radiation Biology*, 77(10), 1007-1021

Peter, M.G., (1995). "Application and Environmental Aspects of Chitin and Chitosan", *J.M.S.- Pure Appl. Chem.* 32: 629-640

Pyarokhil, A. H., Ishihara, M., Sasaki, M., Kitamura, N. (2012). Immunohistochemical study on the ontogenetic development of the regional distribution of peptide YY, pancreatic polypeptide, and glucagon-like peptide 1 endocrine cells in bovine gastrointestinal tract. *Regulatory Peptides*, 175(1), 15-20.

Quinn, L. (2002). Mechanisms in the development of type 2 diabetes mellitus. *The Journal of Cardiovascular Nursing*, 16(2), 1-16.

Ramesh, B., Viswanathan, P., Pugalendi, K. V. (2007). Protective effect of Umbelliferone on membranous fatty acid composition in streptozotocin-induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology*, 566(1), 231-239.

Raz, I., Eldor, R., Naparstek, Y. (2005). Immune modulation for prevention of type 1 diabetes mellitus. *Trends in Biotechnology*, 23(3), 128-134.

Reeve JR, Eysselein VE, Ho FJ, Chew P, Vigna SR, Liddle RA, Evans C. (1994). Natural and synthetic CCK-58. Novel reagents for studying cholecystokinin physiology. *Ann NY Acad. Sci.* 713: 11-21.

Rehfeld JF. (2004). Cholecystokinin Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism. Vol. 18, No:4, pp: 569-586

Ross MH., Pawlina W. (2014). *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas (Türkçe çeviri)*. 6. Baskı, PalmeYayıncılık

Sadler TW. (2005). *Medikal Embriyoloji (Türkçe Çeviri)* 9. Baskı. Ankara. Palme Yayıncılık.

Saito, M., Kuratsune, H., Nitta, H., Kawahara, K., Hamano, M., Matsuda, M., Eto, M. (2006). Plasma lipid levels and nutritional intake in childhood- and adolescence-onset young type 1 diabetic patients in Japan. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 73(1), 29-34.

Salhy, M. E. (2002). The possible role of the gut neuroendocrine system in diabetes gastroenteropathy. *Histology and Histopathology: Cellular and Molecular Biology*, 17(4), 1153-1161.

Schiffman, J. D. ve Schauer, C. L. (2008). A Review: Electrospinning of Biopolymer Nanofibers and their Applications. *Polymer Reviews*, 48, 317-352.

Setji TL, Brown AJ, Feinglos MN. (2015). Gestational Diyabetes Mellitus. *Clinical Diyabetes*, 23:17-24

Shu S, Ju G, Fan L. (1988). The glucose oxidase-dan-nickel in peroxidase histochemistry of the nervous system. *Neuroscience Lett.* 85: 169-171.

Smith, J. P., Verderame, M. F., McLaughlin, P., Martenis, M., Ballard, E., Zagon, I. S. (2002). Characterization of the CCK-C (cancer) receptor in human pancreatic cancer. *International Journal of Molecular Medicine*, 10(6), 689-694.

Stanley, B. G., Daniel, D. R., Chin, A. S., Leibowitz, S. F. (1985). Paraventricular nucleus injections of peptide YY and neuropeptide Y preferentially enhance carbohydrate ingestion. *Peptides*, 6(6), 1205-1211.

Sternini, C., Wong, H., Pham, T., Giorgio, R. de, Miller, L. J., Kuntz, S. M., Raybould, H. E. (1999). Expression of cholecystokinin a receptors in neurons innervating the rat stomach and intestine. *Gastroenterology*, 117(5), 1136-1146.

Sun T, Yao Q, Zhou D, Mao F (2008). Antioxidant activity of N-carboxymethyl chitosan oligosaccharides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 18: 5774-5776.

Şenol, N., Çınar, K., Eren, Ü. (2009). Sazan (Cyprinus carpio) Balığı Gastrointestinal Kanal Mukozasındaki CCK-8, Gastrin 1, VIP, Sekretin, Somatostatin-14, Bombesin ve Histamin Peptidlerinin Lokalizasyonu. *Su Ürünleri Dergisi*, 26(1), 11-17.

Tang, Y., Cai, X., Xiang, Y., Zhao, Y., Zhang, X., Wu, Z. (2017). Cross-linked antifouling polysaccharide hydrogel coating as extracellular matrix mimics for wound healing. *Journal of Materials Chemistry B*, 5(16), 2989-2999.

Tatemoto, K., Carlquist, M., Mutt, V. (1982). Neuropeptide Y—a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature*, 296(5858), 659.

Thanou, M., Verhoef, J. C., Junginger, H. E. (2001). Chitosan and its derivatives as intestinal absorption enhancers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 50, S91-S101.

Wan, J., Jiang, F., Xu, Q., Chen, D., Yu, B., Huang, Z., He, J. (2017). New insights into the role of chitosan oligosaccharide in enhancing growth performance, antioxidant capacity, immunity and intestinal development of weaned pigs. *RSC Advances*, 7(16), 9669-9679.

Wijsman, J. H., Van Dierendonck, J. H., Keijzer, R., van de Velde, C. J., Cornelisse, C.J. (1992). Immunoreactivity of proliferating cell nuclear antigen compared with bromodeoxyuridine incorporation in normal and neoplastic rat tissue. *The Journal of Pathology*, 168(1), 75-83.

Wolosin JD, Edelman SV. (2000). Diabetes and the gastrointestinal tract. *Clinical diabetes*;18(4):15-21

Xu, Y., Shi, B., Yan, S., Li, T., Guo, Y., Li, J. (2013). Effects of chitosan on body weight gain, growth hormone and intestinal morphology in weaned pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 26(10), 1484-1489.

Xu ZR, Hu CH, Xia MS, Zhan XA, Wang MQ. (2003). Effects of Dietary Fructooligosaccharide on Digestive Enzyme Activities Intestinal Microflora and Morphology of Male Broilers. *Poultry Science*, 82:1030-1036.

Vernazza CL, Gibson GR, Rastall RA (2005) In vitro fermentation of chitosan derivatives by mixed cultures of human faecal bacteria. *Carbohydrate Polymers*, 60, 539-545.

Yeğın SÇ., Mert N. (2013). Deneysel Olarak Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Hba1c,Mda,Gsh-Px ve Sod Miktarlarının Tayini. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24(2), 51-54.

Yin XQ, Lin Q, Zhang Q, Yang LC (2002). O₂- scavenging activity of chitosan and its metal complexes. *Chinese Journal of Applied Chemistry*, 19: 325-328.

Yörük M. Sindirim Sistemi II: Sindirim Kanalı. İçinde: Özer A: Veteriner Özel Histoloji, 1. Basım, Nobel Yayın Dağıtım, p. 151-181, 2008.

Zanoni, J. N., Buttow, N. C., Bazotte, R. B., Miranda Neto, M. H. (2003). Evaluation of the population of NADPH-diaphorase-stained and myosin-V myenteric neurons in the ileum of chronically streptozotocin-diabetic rats treated with ascorbic acid. *Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical*, 104(1), 32-38.

Zhang, X., Zhou, X., Zhang, Q., Zhu, F. (2015). The preventive effects of dexmedetomidine against intestinal ischemia-reperfusion injury in Wistar rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 18(6), 604-609

Zhao J, Yang J, Gregersen H. (2003). Biomechanical and morphometric intestinal remodelling during experimental diabetes in rats. *Diabetologia*, 46:1688–1697

6. EKLER



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

Sayı: 2017/93
Konu: Araştırma

25.10.2017

Sayın Doç. Dr. Turgay DEPREM
Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi - KARS

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (KAÜ-HADYEK)'nce değerlendirilip çalışma onayı istenen **KAÜ-HADYEK/2017- 085** kodlu ve "*Kitosan Oligosakkarit Uygulanan Diyabetik ve Non-Diyabetik Ratların Bağırsaklarında PCNA ve Kolesistokinin Dağılımının İmmunohistokimyasal Olarak İncelenmesi*" 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

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Amasya'da doğdum. İlköğretim, orta okul ve lise eğitimimi Amasya'da tamamladıktan sonra 2008 yılında Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandım. Üniversite eğitimimi 2012 Temmuz ayında bitirdikten sonra aynı yıl Eylül ayında Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesinde Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimine başladım ve 2015'te eğitimimi tamamladıktan sonra Doktora eğitimime başladım. Evli ve bir çocuk annesiyim.