



Keklik (*Alectoris chukar*) Bağırsağında Ghrelin, Leptin ve Obestatin Dağılımı

Mehmet Erdem AKBALIK✉

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKİYE

ORCID: 0000-0001-9898-0593

Geliş Tarihi/Received
07.10.2019

Kabul Tarihi/Accepted
10.12.2019

Yayın Tarihi/Published
31.12.2019

Öz

Leptin, esas olarak yağ doku tarafından üretilen bir hormondur, ancak ghrelin ve obestatin temel olarak mideden izole edilmiştir. Bu hormonlar ayrıca gastrointestinal sistem, plasenta, iskelet kası ve meme epiteli gibi birçok dokudan da sentezlendiğinden bunların daha geniş bir rolü olduğu düşünülür. Bu yüzden, bu çalışmanın amacı, keklik bağırsağındaki leptin, ghrelin ve obestatin üreten hücrelerin dağılımını değerlendirmektir. 10 erişkin keklik bağırsağı (5 dişi ve 5 erkek), immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak ışık mikroskobu düzeyinde incelenmiştir. Ghrelin, leptin ve obestatin immünoreaktivitesi, ince ve kalın bağırsaktaki epitel, bazı stromal ve düz kas hücrelerinde gözlemlendi. Ayrıca, kan damarlarının endotel hücreleri, leptin için orta derecede immünoreaktivite gösterdi. Bununla birlikte, ghrelin için immün boyanma, ince ve kalın bağırsağın düz kas hücrelerinde belirgin bir şekilde tespit edildi. İlginç bir şekilde, obestatin için bazı immunpozitif hücreler sadece epitelde görüldü. Bu çalışma, ghrelin, leptin ve obestatinin bağırsakta farklı bir dağılım sergilediğini ortaya koydu. Bu bulgular, ghrelin, leptin ve obestatinin gastrointestinal fonksiyonların düzenlenmesinde fizyolojik bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bağırsak, ghrelin, keklik, leptin, obestatin

Distribution of Ghrelin, Leptin and Obestatin in the Intestine of Chukar Partridge (*Alectoris chukar*)

Abstract

Leptin is a hormone that is mainly produced by the adipose tissue but ghrelin and obestatin have been isolated fundamentally from the stomach. These hormones are also synthesized in many other tissues, including gastrointestinal tract, placenta, skeletal muscle, and mammary epithelium, thus suggesting a wider role of these proteins. So the aim of this study was to evaluate the distribution of leptin, ghrelin and obestatin producing cells in the intestine of chukar partridge. The intestines of 10 adult chukar partridge (5 male and 5 female) was examined on the level of light microscope by using immunohistochemical methods. Ghrelin, leptin and obestatin immunoreactivity were observed in the epithelial, some stromal and smooth muscle cells in the small and large intestine. Besides, endothelial cells of blood vessels showed moderate immunoreactivity for leptin. However, immunostaining for ghrelin was prominently detected in the smooth muscle cells of the small and large intestine. Interestingly, some immunopositive cells for obestatin was only seen in the epithelium. The present study revealed that ghrelin, leptin and obestatin exhibit a different distribution of the intestine. These findings suggest that ghrelin, leptin and obestatin may play a physiological role in the regulation of gastrointestinal functions.

Key Words: Intestine, ghrelin, partridge, leptin, obestatin

GİRİŞ

Kanatlı bağırsağı, duodenum ile başlayıp sınır hattı keskin olmayan jejunum ve ileum ile devam eden ve ileo-sekal kavşakta kolonla birleşerek (ya da kalın bağırsakla) iki kör uçla sonlanan sekumla son bulması bakımından eşsizdir (1). Duodenumun, villus ve kriptlerini döşeyen epiteli tek katlı yüksek prizmatik hücrelerden kurulu olup bağırsağın geri kalan bölümlerinin yapısı, duodenumla benzer özelliklere sahiptir (1, 2). İnce bağırsağın uzunluğu boyunca villuslar giderek daha kısalmış ve Lieberkühn kriptlerinin derinliği önemli oranda azalırken intestinal epitelde de goblet hücrelerinin sayısı artar (1).

Ghrelin, esas olarak mideden izole edilen 28 aminoasitlik bir peptittir. 117 aminoasit peptidi olan preproghre-

lin'in spesifik proteazlarla işlenmesiyle üretilir ve endokrin hücrelerin salgı keseciklerinde depolanır. Ghrelin, iştah düzenlemeden büyüme hormon salınımına hücre çoğalmasından bağırsak hareketliliğine kadar birçok biyolojik süreçle ilgili çok işlevli bir moleküldür. Önceki çalışmalarda ghrelin'in memeli dokularında özellikle de pankreas, hipofiz, hipotalamus, immün hücreler, akciğer, plasenta, ovaryum ve testis gibi perifer organlardaki bazı hücreler tarafından üretildiği gösterilmiş ve ghrelin'in bu organlarda otokrin/parakrin rollerinin olduğu varsayılmıştır. Ghrelin aynı zamanda kanser hücreleri tarafından da ekprese edilmiştir (3, 4, 5, 6). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ghrelin'in sadece memelilerde değil, aynı zamanda kuş, amfibi, sürüngen ve balık gibi birçok türde var olduğu gösterilmiş (7) ve

ghrelin ekspresyonu üzerine yapılan az sayıdaki çalışmada ghrelin immunpozitif hücrelerin bildircinların proventrikuluslarında, tavukların ise proventrikulus ve gastrointestinal dokunun mukozal tabakasında bulunduğu bildirilmiştir (5).

Pozisyonel klonlama ile keşfedilen ob geninin protein ürünü olan leptin (8), sadece vücut ağırlığı, enerji dengesi ve beslenme davranışı düzenlemesinde değil, aynı zamanda birçok metabolik ve nöroendokrin fonksiyonda kilit rol oynar. Memelilerde çoğunlukla beyaz yağ dokusundan sentezlenen leptin; plasenta, meme bezleri, iskelet kası, hipotalamus ve hipofiz gibi farklı dokularda da immünositokimya ve moleküler biyoloji yöntemleri ile tespit edilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalarda memeli olmayan türlere de yoğun ilgi olduğu ve bu konuda çalışmaların önemli oranda artış gösterdiği bildirilmiştir (9).

23 aminoasit peptidi olan obestatin, sıçan midesinden izole edilmiş ve proghrelin'in karboksi-terminal kısmından türetilmiştir. Obestatinin, beslenme ve sindirim hareketi üzerine inhibe edici etkilere sahip olduğu ve böylece ghrelin'in orfan GPR39 reseptörü ile etkileşime girerek uyarıcı etkisini antagonize ettiği bildirilmiştir. Bu bulguların son zamanlarda sorgulanmaya başlandığı ve daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır. Yine son dönemde yapılmış bir çalışmada, obestatin ve ghrelin üreten hücrelerin memelilerin gastrointestinal kanalda var olduğu ortaya konmuştur (6, 10, 11, 12).

Yapılan incelemelerde ghrelin, leptin ve obestatin ekspresyonu üzerine yapılan çalışmaların memeli türlerinde daha yoğun olması, özellikle kanatlı bağırsaklarında bu faktörlerin varlığı, dağılımları ve fonksiyonel ilişkileri hakkında verilerin sınırlı olması, bu çalışmanın tasarlanmasında etkili olmuştur. Bu nedenle çalışmamızın amacı, immunohistokimyasal yöntemler kullanarak kekliklerin bağırsak dokusunda peptid hormonlarının lokalizasyonu, ekspresyonu ve olası fizyolojik rollerini ortaya koymaktır.

MATERYAL VE METOT

Hayvanların Seçimi ve Doku Örneklerinin İşlenmesi

Çalışmada, 5 dişi (360-420 g) ve 5 erkek (480-540 g) olmak üzere 10 adet sağlıklı, yetişkin (24 haftalık) kınalı keklik kullanıldı. Özel bir yetiştirme çiftliğinden temin edilen hayvanların kesim sonrası bağırsak dokuları (duodenum, jejunum, ileum, caecum ve colon) çıkarıldı ve %10'luk formol-alkolde 18 saat boyunca fikse edildi. Örnekler, dereceli alkol serisi ile dehidre edildi ve parafin içine gömüldü.

İmmunohistokimyasal Boyama

Kekliğin bağırsak dokusunda ghrelin, leptin ve obestatin ekspresyonu araştırıldı ve bu amaçla streptavidin-biotin peroxidase yönteminin standart prosedürü izlendi (13). Özetle, bağırsak bölümleri belirlenerek dokular toplandı ve farklı alkol serilerinde dehidre edildi. Parafine gömülen 5 mikron kalınlığındaki kesitler ksilen ile şeffaflandırıldı, dehidre edildi ve endojen peroxidaz aktivitesini inhibe etmek için metanolde hazırlanmış %3'lük hidrojen peroksitte 20 dk süreyle tutuldu. Fosfatlı tuz çözeltisinde (PBS 0.01 M, pH:7.4) 5'er dk süreyle üç kez yıkanan kesitler antijen retri-

eval uygulaması için sitrat tamponunda (0.01 M, pH: 6.0) 95°C'de 30 dk süreyle kaynatıldı ve ardından boyanma öncesi soğumaya bırakıldı. Yine PBS içinde 5 dk süreyle 3 kez yıkanmış olan kesitler, spesifik olmayan bağlanmalardan kaçınmak için protein blocking çözeltisi (Ultra V Blok, Thermo Fisher Scientific, LabVision Corporation) ile oda sıcaklığında 10 dk süreyle inkübasyonda tutuldu. Bu prosedürün ardından, numuneler 1/200 seyreltilmiş anti-obestatin (Rabbit polyclonal, Abcam, cat no: ab41704), 1/100 seyreltilmiş anti-ghrelin (Rabbit polyclonal, Abcam, cat no: ab129383) ve anti-leptin (Rabbit polyclonal, Abcam, cat no: ab117751) primer antikoları ile gece boyunca +40°C'de inkübe edildi. Ertesi gün oda sıcaklığında kesitler 3 kez PBS ile yıkandıktan sonra 20 dk boyunca biotinlenmiş sekonder antikolarla (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) muamele edildi ve yine 5 dk boyunca 3 kez PBS ile yıkandı. Daha sonra 20 dakika süresince streptavidin peroxidaz çözeltisinde (Histostain Plus Bulk Kit, Zymed) bekletildi ve 3 kez PBS ile yıkandı. Kesitler, antijen-antikor reaksiyonlarını göstermek için 10-15 dk süre ile 3'-diaminobenzidine hydrochloride (DAB) kromojenine maruz bırakıldı ve distile suda yıkandıktan sonra 2 dk süre ile zit boyama için Mayer's hematoksileni ile muamele edildi. İmmünohistokimyasal prosedürlerin özgünlüğü, negatif kontrol kullanılarak değerlendirildi ve bu kontrollerde primer antikor yerine PBS konarak uygulamaya devam edildi. Numuneler, dijital kamera (Nikon Coolpix 4500) ataşmanlı bir ışık mikroskobu (Nikon E-400, Tokyo, Japonya) kullanılarak fotoğraflandı.

Boyama Sonuçlarının Değerlendirilmesi

İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesi, yoğunluk skoru (intensity score) ile yarı nicel olarak yapıldı. Boyanan hücrelerin boyanma şiddeti; (-) boyanma yok, (+) zayıf, (++) orta derecede, (+++) kuvvetli boyanma şeklinde belirlendi (1) ve bu yoğunluk en az 100 hücre içeren rastgele seçilmiş üç farklı alan olmak üzere lümen ve kript epitel hücrelerinde, stromal ve düz kas hücrelerinde değerlendirildi (Tablo 1).

Tablo 1. Keklik bağırsağında ghrelin, leptin ve obestatin immunoreaktiviteleri için yoğunluk dağılımı

Antikor	Bağırsak Bölümleri	Histolojik Katmanlar			
		Luminal Epitel Hücreleri	Kript Epitel Hücreleri	Stromal Hücreler	Düz Kas Hücreleri
Ghrelin	Duodenum	++	++	-	+++
	Jejunum	++	++	-	+++
	Ileum	++	++	-	+++
	Caecum	+	++	-	++
	Colon	+	+	-	+
Leptin	Duodenum	++	++	+	+
	Jejunum	++	++	+	+
	Ileum	++	++	+	+
	Caecum	++	++	+	+
	Colon	++	++	+	+
Obestatin	Duodenum	+	+	-	-
	Jejunum	++	++	-	-
	Ileum	+	+	-	-
	Caecum	++	+	-	-
	Colon	++	+	-	-

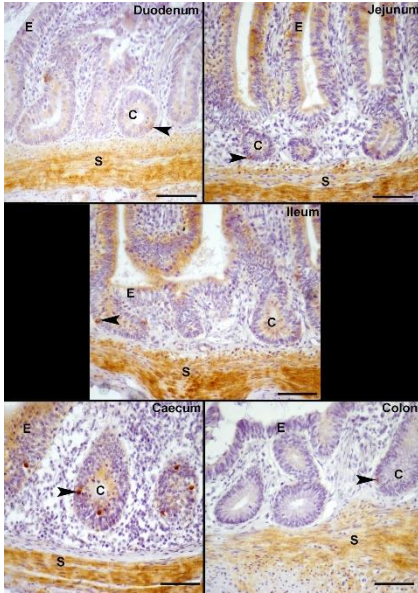
BULGULAR

İnce ve kalın bağırsak mukozasını döşeyen epitel katmanda bazı luminal ve kript epitel hücrelerinin ghrelin ile pozitif boyandığı tespit edildi. Öte yandan, bağırsakların tüm kısımlarında stromal hücrelerin ghrelin negatif olduğu belirlenirken özellikle düz kas hücrelerinde güçlü immun boyama tespit edildi. Ghrelin için pozitif reaksiyona giren hücrelerin sayısı ve yoğunluğu ince bağırsaktan kalın bağırsağa doğru gittikçe kademeli bir şekilde azaldığı görüldü (Şekil 1).

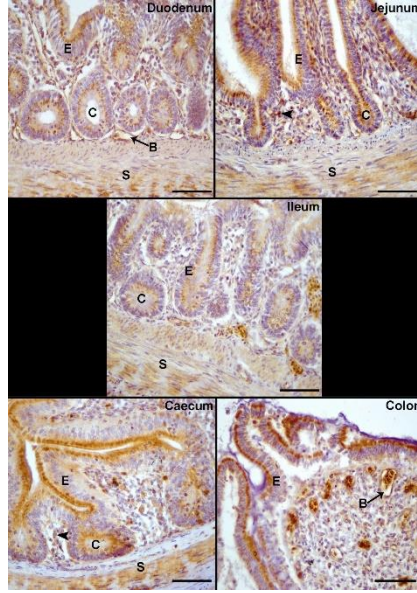
Bağırsağın tüm bölümleri için yapılan değerlendirmede leptin immunoreaktivitesi hem luminal hem de kript epitel hücrelerinin apikal bölmesine lokalizydi. Yine bağırsak

mukozasında bazı leptin pozitif stromal hücrelerin olduğu gözlenirken buradaki kan damarlarının endotel hücrelerinde leptin immunoreaktivitesi belirlendi. Öte yandan ince ve kalın bağırsağın düz kas hücrelerinde belirgin bir immunoreaktivite tespit edildi (Şekil 2).

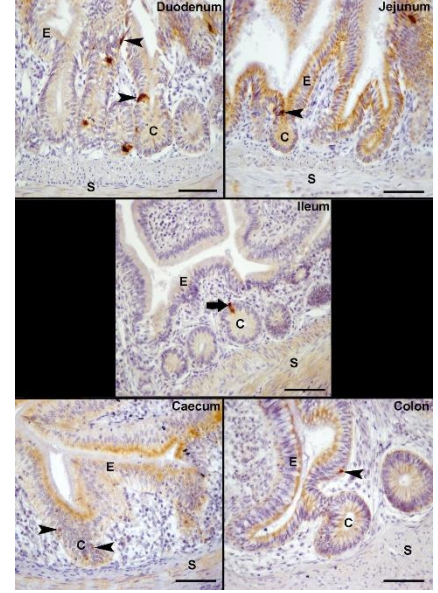
Epitel katmanda gözlenen obestatin immunoreaktivitesi özellikle duodenum ve ileumda tek tük hücre spesifik iken jejunum, caecum ve colonda tüm hücrelerde tespit edildi, ayrıca bu bölümlerde intraepitelyal yerleşimli obestatin immunopozitif hücre varlığı dikkat çekti. Bunun dışında hem stromal hücrelerde hem de düz kas hücrelerinde obestatin immunoreaktivitesine rastlanmadı (Şekil 3).



Şekil 1. Keklik bağırsağında ghrelin immunoreaktivitesi, E: Luminal epitel hücreleri, C: Kript epitel hücreleri, S: Düz kas hücreleri, okbaşları: Ghrelin pozitif hücreler. Bar: 25µm



Şekil 2. Keklik bağırsağında leptin immunoreaktivitesi, E: Luminal epitel hücreleri, C: Kript epitel hücreleri, S: Düz kas hücreleri, B: Kan damarı, ok: Leptin pozitif stromal hücreler. Bar: 25µm



Şekil 3. Keklik bağırsağında obestatin immunoreaktivitesi, E: Luminal epitel hücreleri, C: Kript epitel hücreleri, S: Düz kas hücreleri, ok: Obestatin pozitif hücre, okbaşları: İntraepitelyal yerleşimli obestatin pozitif hücreler. Bar: 25µm

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bugüne kadar, gastrointestinal sistemde birçok hormon tanımlanmış, klonlanmış ve fizyolojik fonksiyonları çalışılmıştır. Önceki çalışmalarda hipofiz bezinin vücudun ana endokrin organı olduğu düşünüldüğü halde gastrointestinal kanal, yağ doku, üreme organı ve böbreküstü bezi gibi endokrin hormonları üreten başka organların da var olduğu görülmüştür. Bunlar arasında gastrointestinal kanal hacim olarak, vücudun en büyük endokrin organı olup bu kanalda üretilen hormonların gelişim, büyüme, hareketlilik, davranış ve enerji dengesi üzerine fizyolojik rolleri önem arz etmektedir (14).

Ghrelin'in iştah, beslenme ve adipogenez üzerine etkilerinin farklı olduğu bildirilmiştir. Örneğin ghrelinin akvaryum ve somon balığı için iştah açıcı olduğu, bazı kuş ve alabalık türlerinde ise gıda alımını engellediği ileri sürülürken son zamanlarda yapılan çalışmada ghrelin eksikliğinin, şahinlerde yiyecek arama davranışının artması ve beslenmesiyle sonuçlanan yırtıcı bir uyum olduğunu gözlemlenmiştir. Bu etkinin de tür, yaş, vücut ağırlığı ve ghrelin uygu-

lama yolu ile ilişkili olabileceğini vurgulamış ve bu yüzden ghrelinin, kuş türlerindeki rolünün halen belirsiz olduğunu öne sürmüşlerdir (15). Ghrelin üreten hücrelerin gastrointestinal kanaldaki dağılımı birçok türde incelenmiştir. Memelilerde, mideye ek olarak, duodenum, ileum, caecum ve colon da dahil olmak üzere gastrointestinal sistemin tüm bölgelerinde ghrelin üreten hücreler gözlenmiş (16) ve ghrelin hücre yoğunluğunun alt gastrointestinal sisteme doğru dramatik bir şekilde azaldığı bildirilmiştir (14). Ayrıca bıldırcınlarda yapılan çalışmada ghrelin immunopozitif hücrelerin proventrikulusta, tavuklarda ise proventrikulus ve gastrointestinal dokunun mukozal tabakasında bulunduğu rapor edilmiştir (5). Sunulan çalışmada epitel katmanda gözlenen ghrelin pozitif hücrelerin az sayıda olduğu ve ince bağırsaktan kalın bağırsağa doğru gittikçe de azaldığı görülmüştür. Epitelde ghrelin immunopozitif hücrelerin gözlenmesi, bu peptidin bağırsaktaki bazı lokal aktivitelerin düzenlenmesinde rol oynayabileceğini düşündürmüştür.

Literatürde leptinin gastrointestinal kanal mukozasında büyümeyi teşvik etmediğini gösteren bazı kanıtlar olma-

sına rağmen, birçok çalışma leptinin gastrointestinal kanala gıda ile ilgili bir faktör olarak etki ettiğini, ekzojen olarak verildiğinde ise bağırsak epitel hücre çoğalmasını uyarabildiğini göstermiştir (17, 18). Bununla birlikte yeni doğan memeli yavrusunda leptinin, bağırsak mukoza morfolojisinin gelişiminde, mukoza epitel hücrelerinin çoğalmasında, enterositlerin fırçamsı kenar sınırındaki enzimatik aktivitede uyarıcı bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (19). Son raporlar, memelilerin (20) duodenum, jejunum, ileum ve colon'undaki enterositlerinde, tavukların da (9) gastrointestinal kanalındaki epitel katmanında leptin immünoreaktivitesini tarif etmiştir. Bu çalışma, leptin ekspresyonunun özellikle luminal ve kript epitel hücrelerinde daha güçlü olduğunu göstermiştir. Böylece leptinin enerji ihtiyacı ve/veya beslenme gibi aktivitelerin düzenlenmesinde kritik rol oynadığı ileri sürülebilir.

Obestatin, memelilerde birtakım fonksiyonlara sahiptir (21). Obestatinin daha önceleri ghrelin kaynaklı iştah bastırıcı düşünülmesi halde (10), artık yaygın olarak iştah düzenlenmesinde bir rol oynamadığı kabul edilmektedir (21). Benzer şekilde, evcil tavuklarda obestatin benzeri peptidin gıda alımını ve bağırsak hareketliliğini etkilemediği görülmektedir (22). Obestatinin memelilerde olduğu gibi, kuşlarda da başka fonksiyonlara sahip olabileceği, ancak peptidin varlığı ve fonksiyonunun henüz kesin olarak tespit edilmediği bildirilmiştir (15). Memelilerin sindirim kanalında yapılan çalışmada (11) obestatinin duodenum, jejunum ve colon'da mevcut olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada obestatinin bağırsağın tüm bölümlerinde, ancak sadece epitelde gözleniyor olması, bu peptidin keklik bağırsağındaki metabolik süreçlerde potansiyel bir rolü olduğunu düşündürmüştür.

Birçok memeli türünün çeşitli vücut sistemleri ve organları üzerinde yapılan önceki araştırmalarda, ghrelin, leptin ve obestatinin stromal ve miyoepitel hücrelerde, ganglion nöronlarında ve sinir pleksuslarında lokalize olduğu bildirilmiştir. Söz konusu hücrelerde üretimleri dikkate alındığında bu peptit hormonlarının, doku veya organlarda nöral uyarımlar ve stromal-adipoz-epitel hücre etkileşimleri veya miyoepitel-epitel hücre etkileşimleri vasıtasıyla hücre büyümesi, hücre farklılaşması ve enerji dengesi gibi çeşitli süreçlerde parakrin faktörler olarak rol oynayacağı ileri sürülmektedir (23). Bu çalışmada, leptin immünoreaktivitesi stromal hücrelerde tespit edilirken ghrelin ve obestatin ekspresyonunun negatif olduğu görüldü. Yukarıda belirtildiği gibi kekliklerde de leptinin diğer hücre elemanları ile etkileşime girerek benzer etki gösterebileceği düşünülmektedir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, leptinin ya anjiyogenezi indüklediği ya da anjiyogenik faktörlerin verimliliğini etkileyebilme olasılığını ele alırken bıldırcınların koryoallantoik membranlarında yapılan çalışmada leptinin yeni kan damarı oluşumunu arttırdığı ve bu sonucun tavuklar kullanılarak elde edilen verilerle de uyumlu olduğu rapor edilmiştir (24). Sunulan çalışmada da reaksiyonun kan damarlarında izlenmesi, leptinin endotel hücre çoğalmasında rolü olduğunu düşündürmüştür.

Memelilerin aksine ghrelinin tavuklarda gıda alımını inhibe ettiği, böylece gastrointestinal hareketliliğin inhibe edilebileceğini varsaymışlar (25, 26), ancak ghrelinin kanatlı bağırsağı üzerindeki bu etkisine dair kanıtın olmadığını da vurgulamışlardır. Sadece 2-4 haftalık broiler civcivlerin kullanıldığı in vitro çalışmada (27) ghrelinin gastrointestinal kanalın üst (yemek borusu ve kursak) ve alt (colon) kısımlarının büzülmesini uyardığını ve orta kısımda (proventriculus, duodenum ve jejunum) sadece zayıf bir uyarıcı etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. Yine Kitazawa ve ark. (28), ghrelin'in gastrointestinal sistemin üst ve alt bölümleri üzerinde kasılma etkisinin olduğunu ve bıldırcınlardaki orta bağırsak hareketliliğini uyardığını bildirmişlerdir. İnce bağırsakta leptinin ise, mekanoreseptörler üzerinde uyarıcı ve inhibe edici etkilere neden olabileceği ve bu nedenle bağırsak hareketliliği üzerinde karmaşık bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Leptin eksikliğinin mide boşalma oranını arttırdığı, jejunumda transit aktiviteyi arttırdığı ve ince bağırsakta toplam transit süresini kısalttığı, bunun aksine bazı çalışmalarda da leptinin uygulanmasının mide boşalmasını geciktirdiği gösterilmiştir (29). Bu çalışmada leptinin ve özellikle de ghrelinin keklik bağırsak düz kas hücrelerindeki lokalizasyonları dikkate alındığında, bu peptitlerin bağırsak hareketliliği üzerinde fonksiyonel bir role sahip olabileceği ve bildirilen çalışmaların da bunu destekler nitelikte olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak, kekliklerin bağırsak bölümlerinde ghrelin, leptin ve obestatinin farklı yoğunluklarda ancak ghrelinin düz kas hücrelerinde, obestatinin sadece luminal ve kript epitel hücrelerinde, leptinin luminal ve kript epitel hücrelerinde ve kan damarlarında belirgin olarak lokalize olduğu gözlemlendi. Bu yüzden incelenen metabolik parametrelerin kekliklerin metabolizması, beslenmesi ve enerji ihtiyaçlarının düzenlenmesinde birtakım roller üstlenebileceği düşünülmektedir. Ayrıca bu çalışma, peptit hormonlarının bağırsağın tüm bölümlerinden de salınabildiğini göstermiştir. Bununla birlikte ghrelin, leptin ve obestatinin kanatlı bağırsağındaki tam rolünü açıklamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Akbalık ME, Sagsoz H, Erdogan S. (2015). Osteopontin Expression in the Intestine of Chukar Partridge (*Alectoris chukar*, Gray, 1830). *Anim Biol*. 65: 287-298.
2. Aslan Ş, Deprem T, Bingöl SA, Taşçı SK: Kanatlı Histolojisi. İçinde: Sindirim Sistemi-I. 1. Baskı. Dora Yayınevi, Bursa, 2018.
3. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. (1999). Ghrelin is a Growth-Hormone-Releasing Acylated Peptide From Stomach. *Nature* 402: 656-660.
4. Ekeblad S, Lejonklou MH, Grimfjård P, Johansson T, Eriksson B, Grimelius L, Stridsberg M, Stalberg P, Skogseid B. (2007). Co-expression of Ghrelin and its Receptor in Pancreatic Endocrine Tumours. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 66: 115-122.
5. Kaiya H, Darras VM, Kangawa K. (2007a). Ghrelin in Birds: Its Structure, Distribution and Function. *The Journal of Poultry Science*. 44: 1-18.
6. Grönberg M, Tsolakis AV, Magnusson L, Janson ET, Saras J. (2008). Distribution of Obestatin and Ghrelin in Human Tissues: Immunoreactive Cells in the Gastrointestinal Tract, Panc-

- reas, and Mammary Glands. *J Histochem Cytochem.* 56 (9): 793-801.
7. Sakata I, Sakai T. (2010). Ghrelin Cells in the Gastrointestinal Tract. *Int J Pept.* 2010: 1-7.
 8. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. (1994). Positional Cloning of the Mouse Obese Gene and Its Human Homologue. *Nature* 372: 425-432.
 9. Neglia S, Arcamone N, Gargiulo G, de Girolamo P. (2007). Immunocytochemical Detection of Leptin-Like Immunoreactivity in the Chicken Gastroenteric Tract. *Gen Comp Endocrinol.* 155: 432-437.
 10. Zhang JV, Ren PG, Avsian-Kretchmer O, Luo CW, Rauch R, Klein C, Hsueh AJ. (2005). Obestatin, a Peptide Encoded by the Ghrelin Gene, Opposes Ghrelin's Effects on Food Intake. *Science.* 310: 996-999.
 11. Zhao CM, Furnes MW, Stenstrom B, Kulseng B, Chen D. (2007). Characterization of Obestatin- and Ghrelin-Producing Cells in the Gastrointestinal Tract and Pancreas of Rats: An Immunohistochemical and Electron-Microscopic Study. *Cell Tissue Res.* 331: 575-587.
 12. Saruhan BG, Erdogan S, Topaloglu U, et al. (2018). Expression and Biological Activity of Ghrelin, Obestatin, and Leptin in Deferent Ducts of the Bull and Ram. *Slov Vet Res.* 55 (3): 151-159.
 13. Akbalık ME, Güney Saruhan B, Topaloğlu U, Ketani MA, Kılınc M, Sağsöz H. (2016). Anöstrus Süresince Siçan Uterusunda Vasküler Endotel Büyüme Faktörü ve Reseptörleri ile Vasküler Endotel Büyüme İnhibitörünün Dağılımı. *Dicle Üniv Vet Fak Derg.* 2(6): 83-90.
 14. Ichiro S, Takafumi S. (2011). The Gut Peptide Hormone Family, Motilin and Ghrelin. Doi.10.5772/16908. In book: Update on Mechanisms of Hormone Action - Focus on Metabolism, Growth and Reproduction. Page 3-14.
 15. Seim I, Jeffery PL, Herington AC, Chopin LK. (2015). Comparative Analysis Reveals Loss of the Appetite-Regulating Peptide Hormone Ghrelin in Falcons. *Gen Comp Endocrinol.* 216: 98-102.
 16. Sakata I, Nakamura K, Yamazaki M, et al. (2002). Ghrelin-Producing Cells Exist as Two Types of Cells, Closed- and Opened-Type Cells, in the Rat Gastrointestinal Tract. *Peptides.* 23: 531-536.
 17. FitzGerald AJ, Mandir N, Goodlad RA. (2005). Leptin, Cell Proliferation and Crypt Fission in the Gastrointestinal Tract of Intravenously Fed Rats. *Cell Prolif.* 38: 25-33.
 18. Hardwick JC, Van Den Brink GR, Offerhaus GJ, Van Deventer SJ, Peppelenbosch MP. (2001). Leptin Is a Growth Factor for Colonic Epithelial Cells. *Gastroenterology.* 121: 79-90.
 19. Wolinski J, Biernat M, Guilloteau P, Weström BR, Zabielski R. (2003). Exogenous Leptin Controls the Development of the Small Intestine in Neonatal Piglets. *J Endocrinol.* 177: 215-222.
 20. El Homsy M, Ducroc R, Claustre J, et al. (2007). Leptin Modulates the Expression of Secreted and Membrane-Associated Mucins in Colonic Epithelial Cells by Targeting PKC, PI3K, and MAPK Pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 293: 365-373.
 21. Seim I, Walpole C, Amorim L, Josh P, Herington A, Chopin L. (2011). The Expanding Roles of the Ghrelin-Gene Derived Peptide Obestatin in Health and Disease. *Mol Cell Endocrinol* 340 (1): 111-117.
 22. Song Z, Verhulst PJ, Ansari Z, et al. (2012). Peripheral "chicken" obestatin administration does not affect feed intake and gut muscle contractility of meat-type and layer-type chicks (*Gallus gallus domesticus*). *Regul Pept.* 177: 60-67.
 23. Sağsöz H, Erdoğan S, Saruhan BG. (2019). The Expressions of Some Metabolic Hormones (Leptin, Ghrelin and Obestatin) in the Tissues of Sheep Tongue. *Anat Histol Embryol.* 00: 1-9. <https://doi.org/10.1111/ahc.12499>
 24. Vyboh P, Zeman M, Bilcik B, Sarnikova B, Kostal L. (2010). Angiogenic Effect of Leptin in the Quail Chorioallantoic Membrane. *Acta Vet Brno.* 79: 13-17.
 25. Geelissen SM, Swennen Q, Geyten SV, et al. (2006). Peripheral Ghrelin Reduces Food Intake and Respiratory Quotient in Chicken. *Domest Anim Endocrinol.* 30: 108-116.
 26. Kaiya H, Saito E-S, Tachibana T, Furuse M, Kangawa K. (2007b). Changes in Ghrelin Levels of Plasma and Proventriculus and Ghrelin mRNA of Proventriculus in Fasted and Refed Layer Chicks. *Domest Anim Endocrinol.* 32: 247-259.
 27. Kitazawa T, Kaiya H, Taneike T. (2007). Contractile Effects of Ghrelin-Related Peptides on the Chicken Gastrointestinal Tract In Vitro. *Peptides.* 28: 617-624.
 28. Kitazawa T, Maeda Y, Kaiya H. (2009). Molecular cloning of quail ghrelin on gastrointestinal motility in Japanese quail. *Regul Pept.* 158: 132-142.
 29. Shadi S, Yarandi MD, Gautam Hebbbar MD, et al. (2011). Diverse Roles of Leptin in the Gastrointestinal Tract: Modulation of Motility, Absorption, Growth, and Inflammation. *Nutrition.* 27 (3): 269-275.

✉ **Yazışma Adresi:**

Doç. Dr. M. Erdem AKBALIK
Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji
ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 21280 Diyarbakır, TÜRKİYE
e-posta: erdem_akbalik@hotmail.com