



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

**DOKTORA
TEZİ**

**PEPTİK ÜLSER MODELİNDE SIÇAN
FUNDUS ŞERİTLERİNİN ELEKTRİKSEL
ALAN UYARISINA VERDİĞİ YANITLARDA
MELATONİN VE NİTRİK OKSİDİN ROLÜ**

AKBOTA SKENDEROVA

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

ARALIK 2021



**PEPTİK ÜLSER MODELİNDE SIÇAN FUNDUS ŞERİTLERİNİN
ELEKTRİKSEL ALAN UYARISINA VERDİĞİ YANITLARDA
MELATONİN VE NİTRİK OKSİDİN ROLÜ**

Akbota SKENDEROVA

**DOKTORA TEZİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ARALIK 2021

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Akbota SKENDEROVA

21/12/2021

PEPTİK ÜLSER MODELİNDE SIÇAN FUNDUS ŞERİTLERİNİN ELEKTRİKSEL ALAN
UYARISINA VERDİĞİ NÖROJENİK KASILMA YANITLARINDA MELATONİN VE NİTRİK
OKSİDİN ROLÜ
(Doktora Tezi)

Akbota SKENDEROVA

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2021

ÖZET

Melatonin pineal bez dışında gastrointestinal kanalın enterokromafin hücrelerinden de salgılanan ve gastrointestinal hareketliliğinin düzenlenmesinde rol oynayan bir hormondur. Araştırmanın amacı, peptik ülser modelinde, elektriksel alan uyarısı (EAU) aracılı nörojenik kasılma yanıtlarında melatonin (MLT) ve nitrik oksidin (NO) rolünün araştırılmasıdır. Deney grupları (1)Kontrol, (2)Ülser (%60 etanol, 5ml/kg oral gavaj), (3)in-vivo Melatonin (sacrifiye edilmeden 30 dakika önce 15mg/kg, i.p), (4)Melatonin+Ülser (ülser geliştirilmeden 30 dakika önce 15mg/kg, i.p melatonin) olarak oluşturulmuştur. Siçan mide fundus şeritlerinde guanetidin ve indometazin varlığında, EAU (40V,8Hz) aracılı kasılma yanıtları üzerinde L-NAME (NOS inhibitörü), DEA-NO (NO Donörü) ve ayrıca in-vitro melatoninin etkisi araştırılmıştır. Ekzojen kolinerjik yanıtların değerlendirilmesi amacıyla tüm deney gruplarında karbakol yanıtları kaydedilmiştir. Ülserli alan milimetrik olarak ölçülmüştür. Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak hesaplanmıştır. İstatistiklerde Kruskal-Wallis, Friedman, Mann Whitney U, Wilcoxon testleri kullanılmıştır ($p < 0.05$ anlamlı). Ülser grubunda skor 11.52 ± 1.15 mm, melatonin+ülser grubunda 6.12 ± 0.54 mm olup, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. EAU aracılı kasılma yanıtları, ülser grubunda anlamlı olarak azalmış olup, KCl yanıtlarında fark bulunmamaktadır. Melatonin+ülser grubunda bu yanıtlarda düzelme olmamıştır. L-NAME, tüm gruplarda EAU kasılma yanıtlarını arttırmış ve gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. DEA-NO ve in-vitro melatonin konsantrasyon bağımlı olarak, EAU kasılma yanıtlarını kontrol ve ülser gruplarında azaltmıştır. DEA-NO'nun EAU yanıtları üzerindeki azaltıcı etkisinin kontrol grubunda, ülser grubuna göre daha fazla olduğu saptanmıştır. L-NAME varlığında EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine konsantrasyon bağımlı melatonin yanıtları değerlendirildiğinde hem kontrol hem de ülser gruplarında EAU kasılma yanıtlarının azaldığı, ancak iki grup arasında istatistiksel olarak fark olmadığı bulunmuştur. Karbakol kasılma yanıtları ülser grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır, in-vivo melatonin uygulanmış gruplarda bu azalma normale dönme eğilimindedir. Melatonin ülser oluşumunu azaltmaktadır. Ülser, fundus düz kasında EAU'nın oluşturduğu nörojenik kasılma yanıtlarını bozmakta ve in-vivo melatonin uygulanması düzelme sağlamamaktadır. Ülserli dokuda NO donörünün etkisinin ve karbakol yanıtlarının azalması oluşan patolojinin postsinaptik mekanizmalarla olabileceğini düşündürmektedir.

Bilim Kodu : 1018.2
Anahtar Kelimeler : Peptik ülser, melatonin, elektriksel alan uyarısı, nitrik oksid
Sayfa Adedi : 77
Danışman : Prof. Dr. Canan ULUOĞLU

THE ROLE OF MELATONIN AND NITRIC OXIDE IN THE RESPONSE OF RAT FUNDUS STRIPS TO ELECTRICAL FIELD STIMULATION IN A PEPTIC ULCER MODEL

(Ph. D. Thesis)

Akbota SKENDEROVA

GAZI UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

December 2021

ABSTRACT

The aim of the study is to investigate the role of melatonin (MLT) and nitric oxide (NO) on electrical field stimulation (EFS) responses in peptic ulcer model. Experimental groups were established as (1) Control, (2) Ulcer (60% ethanol, 5ml/kg oral), (3) in-vivo Melatonin (15mg/kg, ip, 30 minutes before sacrificing), (4) Melatonin+Ulcer (15mg/kg, ip melatonin 30 minutes before ulcer). The effects of L-NAME (NOS-inhibitor), DEA-NO (NO-Donor) and in-vitro melatonin on EFS (40V, 8Hz)-mediated contractile responses in the presence of guanethidine and indomethacin in rat stomach fundus strips were investigated. Carbachol responses were recorded in all experimental groups to evaluate exogenous cholinergic responses. The ulcer area was measured as millimeters. Data were calculated as mean $\pm$ SE. Kruskal-Wallis, Friedman, Mann Whitney U, Wilcoxon tests were used for statistics. The ulcer score was 11.52 ± 1.15 mm in ulcer group, 6.12 ± 0.54 mm in melatonin+ulcer group; the difference was significant. EFS responses decreased significantly in ulcer group and there was no difference in KCL responses. There was no improvement in these responses in the melatonin+ulcer group. L-NAME increased EFS responses in all groups; no significant difference was found between the groups DEA-NO and in-vitro melatonin decreased EFS responses in a concentration-dependent manner in control and ulcer groups. Reducing effect of DEA-NO on EFS responses was higher in the control than the ulcer group. When responses created by melatonin in a concentration-dependent manner evaluated on EFS-mediated contraction responses in the presence of L-NAME, it was found that these responses were decreased in both control and ulcer groups, but there was no statistical difference. Contractile responses caused by Carbachol were significantly decreased in ulcer group, and this decrease tended to turn back to normal in the in-vivo melatonin groups. Melatonin reduced ulcer formation. Ulceration disrupts the neurogenic contractions triggered by EFS in fundus, and in-vivo melatonin does not provide improvement on it. Decreased effects of NO donor and carbachol responses in ulcerated tissue suggest that the damage is postsynaptic.

Science Code : 1018.2
 Key Words : Peptic ulcer, melatonin, electrical field stimulation, nitric oxide
 Page Number : 77
 Supervisor : Prof. Dr. Canan ULUOĞLU

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi tarafından desteklenmiştir. Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum, emeğini, hoşgörüsünü ve desteğini esirgemeyen çok kıymetli güleryüzlü hocam Sayın Prof. Dr. Canan Uluoğlu'na, doktora eğitimim süresince verdiği değerli bilgiler, tez ile ilgili laboratuvar uygulamalarını öğrenmemde yardımcı olan, her konuda gösterdiği hoşgörü, yardım ve destekleri için çok kıymetli hocam Sayın Doç. Dr. Gökçe Sevim Öztürk Fincan'a, tüm eğitim dönemimde emekleri geçen Farmakoloji Anabilim Dalının bütün öğretim üyelerine, tez çalışması uygulama aşamasında çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen, her konuda yardımcı olan arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Muhammed Cihan Güvel, Derya Sebile Koç olmak üzere doktora eğitimim süresince birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, maddi, manevi desteğiyle her an yanımda olan aileme, çocuklarıma en içten duygularıyla teşekkür ederim. Ayrıca şahsıma Türkiye'de eğitim alma imkânı sağlayan ve burslandıran Ahmet Yesevi Uluslararası Türk Kazak Üniversitesine, Ahmet Yesevi Üniversitesi Mütevelli Heyet Başkanlığına ve mensuplarına teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez Gazi Üniversitesi BAP Birimi tarafından 01/2019-59 proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Midenin Anatomisi ve Fizyolojisi.....	5
2.2. Gastrointestinal Sistemde Kolinerjik Nörotransmisyon.....	8
2.3. Nitrik Oksid.....	9
2.3.1. Nitrik oksidin yapısı ve sentezi	9
2.3.2. Nitrik oksidin etkileri	10
2.3.3. Nitrik oksidin gastrointestinal sistemdeki rolü	10
2.4. Melatonin	11
2.4.1. Melatoninin yapısı ve sentezi.....	12
2.4.2. Melatonin metabolitleri.....	13
2.4.3. Melatonin reseptörleri ve etki mekanizması	13
2.4.4. Melatoninin fonksiyonları.....	14
2.4.5. Melatoninin gastrointestinal sistemde rolü	16
2.5. Peptik Ülser.....	17
2.5.1. Peptik ülserde nitrik oksidin rolü	18
2.5.2. Peptik ülserde melatoninin rolü	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23

	Sayfa
3.1. Deney Hayvanları.....	23
3.2. Deney Düzenekleri.....	23
3.2.1. Organ banyosu sistemi	23
3.2.2. İzole sıçan mide fundus preparatının hazırlanması	23
3.2.3. Elektriksel Alan Uyarısı (EAU)	24
3.3. Kullanılan Kimyasallar	24
3.4. Deney Grupları.....	24
3.4.1. Gastrik ülser skorunun hesaplanması	25
3.5. Deney Protokolü.....	25
3.6. Bulguların Sunuluşu ve İstatistiksel Analiz	27
3.7. Etik Kurul İzni.....	27
4. BULGULAR	29
4.1. EAU Aracılı Kolinerjik Kasılma Yanıtlarının Tanımlanması	30
4.2. Tüm Gruplarda EAU Aracılı Kasılma Yanıtları	30
4.3. EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine L-NAME'in Etkisi	31
4.4. EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine DEA-NO'in Konsantrasyon Bağımlı Etkisi	32
4.5. EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine Melatonin (10 ⁻⁷ -10 ⁻⁴ M) Etkisi	35
4.6. Melatonin (10 ⁻⁴ M) İle İnkübe Ortamda EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine L-NAME (10 ⁻⁴ M) Etkisi	38
4.7. Melatonin (10 ⁻⁴ M) İle İnkübe Ortamda EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine DEA-NO'in Konsantrasyon Bağımlı Etkisi	39
4.8. L-NAME (10 ⁻⁴ M) İle İnkübe Ortamda EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine Melatoninin (10 ⁻⁷ -10 ⁻⁴ M) Konsantrasyon Bağımlı Etkisi	42
4.9. Muskarinik Reseptör Agonisti Karbakol ile Ekzojen Kasılma Yanıtlarının Değerlendirilmesi	44
4.10. KCl (80 mM) + CaCl ₂ (2.5 mM) ile Kasılmış Dokuda Melatoninin Doz Bağımlı Etkisi	45
5. TARTIŞMA	47

	Sayfa
6. SONUÇ.....	57
KAYNAKLAR.....	59
EKLER.....	73
EK-1. Etik Kurul Onayı.....	74
ÖZGEÇMİŞ.....	76

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Gün içerisinde plazmadaki melatonin düzeyinin değişimi.....	13
Şekil 4.1. Etanol ülseri geliştirilmiş sıçan midesi.	29
Şekil 4.2. İn vivo melatonin + etanol ülseri geliştirilmiş sıçan midesi.	29
Şekil 4.3. Deney gruplarının EAU'na verdiği yanıtların KCl (80mM) kasılmasının yüzdesi cinsinden gösterimi	31
Şekil 4.4. EAU ile oluşan kasılma yanıtları üzerine L-NAME'in (10^{-4} M) etkisi:	32
Şekil 4.5. Kontrol grubunda EAU ile kasılma yanıtları üzerine DEA-NO'nin konsantrasyon bağımlı etkisi:	33
Şekil 4.6. Ülser grubunda EAU ile oluşan kasılma yanıtları üzerine DEA-NO'nin konsantrasyon bağımlı etkisi:	34
Şekil 4.7. Kontrol ve ülser gruplarında EAU ile oluşan kasılma yanıtları üzerine DEA-NO'nin konsantrasyon bağımlı etkisinin karşılaştırılması.	35
Şekil 4.8. Kontrol grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine melatoninin konsantrasyon bağımlı etkisi.	36
Şekil 4.9. Ülser grubunda EAU ile oluşan kasılma yanıtları üzerine melatoninin konsantrasyon bağımlı etkisi	37
Şekil 4.10. Kontrol ve ülser grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine melatoninin konsantrasyon bağımlı etkisinin karşılaştırılması.	38
Şekil 4.11. Melatonin (10^{-4} M) ile inkübe edilmiş ortamda EAU aracılı yanıtlar üzerine L-NAME (10^{-4} M) etkisi.....	39
Şekil 4.12. Kontrol grubunda melatonin (10^{-4} M) ile inkübe ortamda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine DEA-NO'nin konsantrasyon bağımlı etkisi.	40
Şekil 4.13. Ülser grubunda melatonin (10^{-4} M) ile inkübe ortamda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine DEA-NO'nin konsantrasyon bağımlı etkisi	40
Şekil 4.14. Kontrol ve ülser gruplarında in-vitro melatoninin (10^{-4} M) DEA-NO yanıtları üzerine etkisi	41
Şekil 4.15. Kontrol grubunda L-NAME (10^{-4} M) ile inkübe ortamda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine Melatoninin konsantrasyon bağımlı etkisi.....	42
Şekil 4.16. Ülser grubunda L-NAME (10^{-4} M) ile inkübe ortamda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine melatoninin konsantrasyon bağımlı etkisi.	43

Şekil	Sayfa
Şekil 4.17. Kontrol ve ülser grubunda L-NAME (10^{-4} M) ile inkübe ortamda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine melatoninin konsantrasyon bağımlı etkisi.....	44
Şekil 4.18. Tüm gruplarda Karbakolün konsantrasyon bağımlı kasılma yanıtları	45
Şekil 4.19. Kontrol ve ülser grubunda KCl (80 mM) + CaCl ₂ (2.5 mM) ile kasılmış dokuda melatoninin doz bağımlı etkisinin karşılaştırılması	46

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Kısaltmalar	Açıklama
ACH	Asetilkolin
AMPK	AMP ile aktive olan protein kinaz
AÖS	Alt Özofageal Sfinkter
ATP	Adenozin Trifosfat
CCH	Karbakol
CGRP	Kalsitonin Gen İlişkili Peptidin
CO	Karbon Monoksit
DEA-NO	Dietilamin Nitrik Oksit
EAU	Elektriksel Alan Uyarısı
GİS	Gastrointestinal Sistem
HIOMT	Hidroksiindol-O-Metiltransferaz
KCl	Potasyum Klorür
L-NAME	L-N ^G -Nitro Arjinin Metil Ester
M	Molar
MLT	Melatonin
MT1, MT2	Melatonin Reseptörleri
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Oksidaz
NANK	Non-Adrenerjik Non-Kolinerjik
NAT	N-asetiltransferaz
NO	Nitrik Oksid
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
NSAİİ	Nonstereoid Antiinflamatuvar İlaçlar
OH⁻	Hidroksil Radikali
PACAP	Pitüiter Adenilat Siklaz Aktivatör Peptit
PHI	Peptid Histidin İzolösün
REM	Uyku Davranış Bozukluğu

Kısaltmalar**Açıklama****ROS**

Reaktif Oksijen Radikalleri

SGC

Çözünür Guanilil Siklaz

VIP

Vazoaktif İntestinal Peptit

1. GİRİŞ

Tezimin amacı, sıçan ülser modelinde mide fundus şeritlerinde, elektriksel alan uyarısı aracılı nörojenik yanıtların değişimi ile melatonin uygulamasının ve nitrik oksidin bu yanıtlara katkısı ve altta yatan olası mekanizmaların araştırılmasıdır.

Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) pineal bez ve gastrointestinal kanalın enterokromaffin hücrelerinden salıverilen bir hormon olup, sirkadiyen ritim ve çeşitli fizyolojik, endokrin, parakrin ve otokrin süreçlerde ve gastrointestinal hareketliliğinin düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir. Etkisine MT1 ve MT2 reseptörleri aracılık eder. MT1 reseptörü beyinde talamus, hipotalamusta, ve periferik olarak *mide*, bağırsak, böbrek, akciğer, ovarium hücrelerinde eksprese edilirken, MT2 reseptörü daha kısıtlı bir şekilde, akciğerde, kalp, aort, koroner dokular, miyometriyum, duodenum, beyin dokuları ve immün hücrelerde eksprese olmaktadır (1, 2). Ekstrapineal bir kaynak olarak gastrointestinal kanaldaki melatonin (MLT) düzeyinin, plazmadaki seviyesinin 100-400 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir (1, 2).

Melatonin, gastrointestinal kanal ile ilgili araştırmalarda 2 şekilde denenmiştir. Birincisi hastalık modellerinde önceden in-vivo verilerek koruyucu etkisini araştırmak şeklindedir. İkincisi ise, izole organlarda in-vitro etkisini araştırmaktır.

Birinci grupta yer alan araştırmalarda, melatonin, farklı gastrointestinal hastalık modellerinde (gastrik ülser, reflü özefajit, ülseratif kolit, inflamatuvar barsak hastalığı gibi) in-vivo olarak çalışılmıştır. Melatoninin gastrointestinal ülser oluşumunu azaltıcı etkilerini gösteren çok sayıda deneysel ve klinik çalışma vardır. Stres, nonstroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), piroksikam, alkol ile oluşturulan gastik mukozal hasarlarda melatoninin doza bağımlı olarak ülser indeksini azalttığı bildirilmiş olup, başlıca mekanizmanın mukozal hasara yol açan hidroksil radikali (OH⁻) gibi reaktif oksijen radikalleri (ROS) olduğu gösterilmiştir. Melatoninin koruyucu etkisi ROS'ların süpürülmesiyle açıklanmıştır (2, 3). Sıçan reflü özofajit modelinde özofagus mukozasında yararlı ve koruyucu etki gösteren melatoninin etki mekanizması anti-enflamatuvar ve antioksidan etkisine bağlanmıştır. Melatoninin, proinflamatuvar sitokinler olan IL-1beta ve TNF-alfa'nın sekresyonunu azalttığı bildirilmiştir. Koruyucu etkilerine kapsaisin duyarlı duyuşal sinirlerden salıverilen nitrik oksid (NO) ve kalsitonin gen ilişkili peptid'in (CGRP) aracılık

ettiği düşünülmüştür (4). Gastroözofageal reflü hastalığının tedavisi için ümit verici terapötik bir ajan olabileceğini gösteren klinik çalışmalar da vardır. Reflü hastalığı olan 36 hastada yapılan bir çalışmada melatonin tek başına veya omeprazol ile birlikte kullanıldığında anlamlı derecede iyileşme sağlamıştır (5). İnflamatuvar barsak sendromu olan hastalarda plaseboya karşı melatonin takviyesinin 2-8 hafta kullanımının, semptomlarda istatistiksel olarak anlamlı azalma gösterdiği bildirilmiştir (6). Ülseratif kolitte çeşitli hayvan deneylerinde, melatonin uygulamasının IL-10 üretimini arttırdığı ve IFN, TNF, IL-6 ve NO inhibe ettiği gösterilmiştir (7). Sıçanlarda alkol ile 6 hafta boyu yağlı diyet uygulanarak, alkollü yağlı karaciğer modelinde melatonin (10, 20, 40 mg/kg ig) farklı dozlarda verilerek koruyucu etkisini gösteren çalışma var. Bu çalışmada etkinin AMP ile aktive edilmiş protein kinaz (AMPK) aktivitesinin upregülasyonu ve MT1 reseptör aracılı lipid peroksidasyonun azalması ile ilgili olabilirliği düşünülmüştür (8). Melatoninin gastrointestinal mukoza üzerine iyileştirici etkisi dışında, gastrointestinal motilite üzerine de etkili olabileceğine dair araştırmalar vardır. Periton içine melatonin uygulandığında, bağırsak miyoelektrik aktivitesini arttırdığı belirtilmiştir (9, 10).

İkinci grupta yer alan araştırmalarda gastrointestinal sistemin motilitesi üzerine etkili mediyatörler in-vitro (veya in-vivo) araştırılmıştır. Mide fundusundaki non-adrenerjik non-kolinerjik (NANK) nöronların, besinlerin alınması esnasında ortaya çıkan, midenin akut olarak gevşemesine ve böylece lümen içi basıncın sabit kalmasına olanak sağlayan adaptif gevşemeden sorumlu olduğu düşünülmektedir (11). Gevşemeden sorumlu gastrointestinal inhibitör nörotransmitterler, başta olmak üzere nitrik oksid (NO), peptid histidin izolösin (PHI), adenosin trifosfat (ATP), vazoaktif intestinal peptit (VIP), pitüiter adenilat siklaz aktivatör peptit (PACAP), kalsitonin gen ilişkili peptit (CGRP), karbon monoksit (CO) tir. (12-15). Kasılmadan sorumlu eksitator nörotransmitterler ise asetilkolin (ACh) ve taşıkininlerdir (16, 17). Sıçan mide fundusunda yapılan bir çalışmada NANK nöronların özellikle düşük frekansta kısa süreli elektriksel alan uyarılmasıyla (EAU) açığa çıkan gevşemelerin N-monometil-L-arjinin (L-NMMA: NOS inhibitörü) ile güçlü şekilde inhibe olduğu ve NO'nun bu gevşemelerden ağırlıklı olarak sorumlu olabileceği belirtilmiştir (11, 14). Aynı çalışmada uzun süreli EAU ile oluşan gevşemelerin de L-NMMA varlığında önlenemediği, VIP-antiserumunun bu gevşemeleri kısmen bloke ettiği ve L-NMMA ile VIP-antiserumu kombinasyonunun inhibitör etkiyi daha da arttırdığı bulunmuştur (14, 15). Bir başka çalışmada melatonin, fare fundus düz kasında bazal tonus üzerinde etki göstermeyip, agonist ile önceden kasılan fundus şeritlerinde EAU'nı takip eden gevşetici

bir etki ortaya çıkarmıştır. İnhibitör NANK yanıtının, NOS aktivitesinin doğrudan inhibisyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (18). Son yıllarda yapılan bir araştırmada ise, yüksek frekanslı gürültünün yarattığı stres ülseri modelinde sıçanlara önceden melatonin verilmesinin mide ve barsak motilitesini artırdığı bildirilmiş ve mekanizmaları araştırılmıştır (19).

Bu tez çalışmasında, gerek in-vivo olarak, gerekse in-vitro olarak melatonin uygulamasının, rat mide fundus şeritlerinde, egzogen kontraktıl agonist yanıtlarını ve elektriksel alan uyarısı (EAU) yanıtlarını ne şekilde değiştirdiği, ve varsa bu değişikliğin altında yatan olası mekanizmaların araştırılması planlanmıştır.

Çalışmamızda melatonin, hem in-vivo olarak ülser öncesinde verilmiştir hem de in-vitro olarak organ banyosu deneylerinde kullanılmıştır. Her iki deney düzeneğinde de, kontrol ve gastrik ülser geliştirilmiş sıçanlarda, mide fundus şeritlerinde, elektriksel alan uyarısı (EAU) sonucu oluşan yanıtlar üzerine melatoninin etkisi araştırılmıştır. Bu tasarım sayesinde melatoninin in-vivo hem de in-vitro uygulanmasının, kontrol ve ülserli grupta mide motilitesini ne şekilde değiştirdiği incelenmiştir. Ayrıca elektriksel alan uyarısı (EAU) yöntemi ile GİS motilitesini düzenleyen NANK ajanların yol açtığı yanıtların da, ülser modelinde ne şekilde değiştiği ve varsa bu değişikliğe in-vitro uygulanan melatoninin etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmanın özgün değeri ülserin oluşturduğu nörojenik değişiklikleri ve bu durumda melatonin ve nitrik oksit arasındaki etkileşimi net olarak ortaya koyacak olmasıdır.

Melatoninin gastrik ülser üzerine yararlı etkileri olduğuna dair bulgular eski yıllara dayanıyor olsa da, ülser modellerinde gastrointestinal motilite üzerine olan etkisi ya da motilite bozukluğu üzerine olan etkisi yeni bir araştırma konusudur.

Melatonin, ülserde bağırsak hareketliliğini değiştirebilecek bir ajan olarak gelecekteki araştırmalar için umut verici bir aday olabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Midenin Anatomisi ve Fizyolojisi

Mide, gıdaları öğütme, karıştırma, çalkalama ve duodenuma atma gibi görevleri sağlayan ve üç kısımdan oluşan bir organdır:

Fundus: özefagusun mideye giriş yeri düzeyinin üstünde kalan kubbe şeklinde ve normalde hava ile dolu kısımdır.

Korpus: yemek borusunun giriş deliği hizasından başlayarak, aşağıda “incisura angularis” seviyesine kadar uzayan, midenin ortası ve en büyük kesimidir.

Antrum: korpus ile duodenumun birinci parçası arasında bulunur, duvarları daha kalındır. Pilorik sfinkteri barındıran distal parçasına pilor kanalı denmektedir (20).

Mide, tunika seroza, tunika muskularis ve tunika mukoza tabakalardan oluşmaktadır. Tunika muskularis tabakasında longitudinal, sirküler ve oblik olmak üzere üç tip kas bulunmaktadır. Bu kas tabakaları midenin fonksiyon bakımından önemli hareketlerini yapmasına olanak sağlamaktadır (20).

Midenin motor fonksiyonları (tonus ve peristaltizm), gastrointestinal kanalın daha aşağı bölümlerine gelinceye kadar çok miktarda besinin depo edilmesi, besinlerin kimus adı verilen yarı sıvı bir karışım oluncaya kadar mide salgısı ile karıştırılması ve ince barsakların sindirim ve emilim fonksiyonlarını uygun bir şekilde yürütebilmeleri için besinlerin mideden duodenuma yavaş boşalmasını sağlamaktadır (21).

Gastrointestinal kanalının düz kası sürekli yavaş intrensek elektriksel aktivite ile uyarılır. Midenin distal kısmı, ince barsak ve kolonda, spontan kasılmaların olduğu bölgelerde miyozitler “yavaş dalga” elektriksel spontan yavaş depolarizasyon dalgaları göstermektedirler. Yavaş dalgaların sıklığı ve birbirleriyle olan ilişkileri, değişik kasılma paternleri oluşturacak şekilde farklıdır. Yavaş dalganın depolarizasyonu tekrarlayıcı ve ritmiktir, kas kasılması her zaman bununla ilişkili olmayabilir. Yavaş dalga depolarizasyonları tipik olarak diğerlerinden daha az polarize olan hücrelerde görülür. Bu spontan depolarizasyonlar membran boyunca oluşan iyon göçleri ile ortaya çıkmaktadırlar.

Miyozitler sıkı kavşaklarla birbirlerine bağlıdırlar ve bir hücrenin depolarizasyonu elektriksel olarak komşu hücrelere aktarılarak onların depolarizasyonuna neden olmaktadır (22).

Gastrointestinal kanalın motilitesi, miyozitlerin istirahat potansiyeli, spontan olarak depolarizasyon yeteneği, aksiyon potansiyelini tetikleyen eşik değer, hücrelerin diğer hücrelerle etkileşim yeteneği ve iyon kanallarının ekstrinsik kontrolü tarafından belirlenmektedir. Midenin kas hücreleri, sıkı kavşaklardan zengin ve birbiriyle iletişim içindedir. Bu sayede depolarizasyonlar hücreler boyunca iletilir ve sonuç olarak düzenli kontraksiyonlar ortaya çıkar. Kolon düz kas hücreleri ise düzensiz kontraksiyonlar ortaya çıkaracak şekilde birbirlerine sıkı kavşaklarla bağlantı yapmamış durumdadır. Benzer şekilde özefagusta yavaş dalgalar bulunmaz ve ekstrinsik sinirsel uyarı yokluğunda bu yapı istirahat konumundadır. Yavaş dalgalar midede, ince barsakta, oddi sfinkterinde ve kolonda mevcuttur ve böylece ekstrinsik sinirsel uyarı olmaksızın da aktivite görülür (22).

Gastrointestinal hormonlar (gastrin, sekretin, somatostatin, kolesistokinin, vazoaaktif intestinal peptit (VIP), glukagon) ve mukozadaki enterokromaffin hücrelerden salıverilen serotonin ve diğer otakoidler tarafından gastrointestinal kanalının tonusu ve motilitesi, sekresyon, absorpsiyon fonksiyonları düzenlenmektedir (23). Gastrointestinal sistemin sinir ağları kendi içinde ve santral sinir sistemi ile bağlantısını sağlayan yoğun bir sinir ağı olmak üzere iki kısımda sınıflanmaktadır (24):

Ekstrinsik sinir sistemi: gastrointestinal sistem ile beyin ve omurilik boyunca ilerleyen sinir ağlarından oluşmaktadır. Fonksiyonel olarak sempatik, vagal ve pelvik motor yolların nöronları, ekstrinsik primer afferent nöronlardan oluşmaktadır.

Enterik sinir sistemi: gastrointestinal sistemin kendi içindeki intrinsik innervasyondan sorumludur. İki ana gangliyon ağından oluşmaktadır:

1) Longitudinal ve sirküler kas tabakaları arasında yer alan miyenterik veya Auerbach ağı (dış ağ): tüm gastrointestinal sistem boyunca bulunur.

2) Submukozada yer alan Meissner ağı (iç ağ): ağırlıklı olarak ince ve kalın barsakta yerleşmiştir. Özofagus ve midede submukozal pleksus bulunmaz. Miyenterik ağ temel

olarak gastrointestinal hareketleri kontrol ederken, submukozal ağ başlıca gastrointestinal salgıları ve lokal kan akımını kontrol eder. Enterik sinir sistemi her ne kadar bu ekstresek sinirlerden bağımsız olarak kendi kendine işlev görse de, parasempatik ve sempatik sistemlerin uyarılması, gastrointestinal işlevlerde uyarılma veya baskılama yaratabilir (24).

Fonksiyonel olarak enterik nöronlar üç gruba ayrılır:

Motor nöronlar: Eksitator motor nöronlar kas kontraksiyonunu indükleyerek motiliteyi kontrol etmektedirler. Baskın olan nörotransmitteri muskarinik reseptörler aracılığıyla etki eden asetilkolindir (ACh). Bunun dışında taşıkininler (nörokinin A (NKA) ve nörokinin B (NKB)) ve P maddenin de (SP) nörotransmitter olarak etkisinin olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Tüm gastrointestinal sistem motor nöronlarında asetilkolintransferaz ve substans P, taşıkininler bulunur. ACh gastrointestinal sistemde ana eksitator nörotransmitter iken bazı bölgelerde ise taşıkininler önemli rol üstlenebilmektedirler (25-27).

İnhibitör motor nöronlar ise gevşeme ve akomodasyon reflekslerini kontrol ederler. Bu nöronlardan salıverilen temel nörotransmitter nitrik oksittir (NO). Bunun dışında ATP (adenozin trifosfat), VIP (vazoaktif intestinal polipeptit) gibi nörotransmitterlerin de salıverildiğini gösteren çalışmalar vardır. Yapılan çalışmalarda ise ATP ve adenozinin gastrointestinal kanal gevşemesinde etkili olmadığı VIP'in nonadrenerjik-nonkolinerjik (NANK) ana nörotransmitter olduğu öne sürülmüştür (28, 29). Ayrıca VIP'in alt özofageal sfinkter (AÖS) düz kas şeritlerinin elektriksel alan uyarısı (EAU) sonucu oluşan gevşemeye aracılık eden bir nörotransmitter olduğu bulunmuştur (30). Tüm bu görüşler 1980 yılı sonlarında NO'nin endotel hücrelerinden salıverildiğinin bulunması, selektif nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörlerinin keşfedilmesi ve NO'nin gastrointestinal kanalda NANK nörotransmisyonunda inhibitör mediyatör olduğunun bulunmasıyla değişmiştir (31-33).

2. İntrinsik primer affrent nöronlar: Refleks yolların, motilitenin ve kan akışının kontrolü, ayrıca sekresyon gibi görevleri vardır. Bu nöronların kolinerjik ve taşıkinin kotransmisyonu yolu ile etki gösterdikleri düşünülmektedir (25).

3. İnternöronlar: Myenterik ve submukozal pleksus içinde yerleşen, bir kısmı serotonerjik, dopaminerjik ve kolinerjiktir. Önemli bir kısmı ise NANK'tir. Ayrıca ATP ve adenozin salıveren inhibitör purinerjik ara nöronlar da vardır (23).

2.2. Gastrointestinal Sistemde Kolinergik Nörotransmisyon

Kolinergik agonistler tarafından aktive edilen muskarinik reseptörlerin, G proteinlerinin aktivasyonu ile kolinergik sinyal transdüksiyonunu gerçekleştirdiği gösterilmiştir (34). Muskarinik reseptörlerin moleküler yapısına, bağlanma ve fonksiyonlarına göre 5 farklı subtipi (M_1 , M_2 , M_3 , M_4 , M_5) tanımlanmıştır. M_1 , M_3 ve M_5 subtipleri çoğunlukla G_q proteinine, M_2 ve M_4 subtipi de ağırlıklı olarak G_i proteinine bağlanmaktadır (35). Çeşitli çalışmalarda M_3 , M_1 ve M_2 muskarinik reseptör subtiplerinin gastrik fundustaki varlıkları saptanmıştır. Fare midesinde yapılan bir çalışmada, M_3 muskarinik reseptör subtipinin kontraksiyonlara aracılık ettiği, M_2 reseptör subtipinin de M_3 reseptörleri tarafından oluşturulan kontraksiyon cevaplarına yaklaşık %45 oranında katkıda bulunduğu gösterilmiştir (36).

Sıçan antral sirküler düz kasında yapılan başka bir çalışmada da kolinergik kontraksiyonda çoğunlukla M_3 , ayrıca M_2 reseptörlerinin de etki ettikleri belirtilmiştir (37). M_3 reseptörlerin gastrointestinal kanalda ve diğer dokularda farmakolojik olarak postsinaptik düzeyde etki ettikleri gösterilmiştir. Presinaptik düzeyde ise hem stimulator hem de inhibitör muskarinik otoreseptörler mevcut olabileceği için daha kompleks bir durum olduğu belirtilmiştir (38). Kobay longitudinal kas myenterik plexusunda yapılan bir çalışmada presinaptik muskarinik M_3 reseptörlerin asetilkolin salıverilmesini inhibe ederken, muskarinik M_1 reseptörlerin asetilkolin salıverilmesini arttırdığı ortaya konmuştur (39). Ancak kobay ileum sirküler düz kasında yapılan başka bir çalışmada presinaptik inhibitör muskarinik reseptörlerin M_1 subtipinde olduğu ileri sürülmüştür (40). Kobay midesinde yapılan başka bir çalışmada ise asetilkolin salıverilmesinin M_1 ve M_2 reseptörler tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir (41). Sempatik sinirlerin uyarılması ile midedeki bezlerin sekresyonunda hafif artış, intestinal bezlerde ise inhibisyon olmaktadır. Özellikle, Brunner bezlerinin inhibisyonu önemlidir, çünkü bunların inhibisyonu, duodenumun bulbus kısmını mideden gelen asidli sindirim sıvılarına karşı korunmasız bırakır ve böylece peptik ülser gelişmesine yol açar (21).

2.3. Nitrik Oksid

Furchgott ve Zawadzki 1980 yılında asetilkolinin kan damarlarında vazodilatör etkisinin ortaya çıkabilmesi için intakt endotele gereksinim duyduğunu göstermişlerdir. Asetilkolin etkisiyle endotelden salıverilen ve ortaya çıkan inhibitör yanıtta sorumlu olan bu ajan endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak isimlendirilmiştir. Yapılan çalışmalarda birçok endojen ve eksojen maddenin damar endotelinden EDRF salıverilmesine yol açtığı ve EDRF'nin nitrik oksid (NO) içeren bir molekül olduğu belirlenmiştir (42, 43).

2.3.1. Nitrik oksidin yapısı ve sentezi

NO, düz kas, endotel hücresi ve diğer birçok memeli hücrelerinde L-arjininden NO sentaz (NOS) enzimi aracılığı ile sentez edilir. Sentez sırasında nikotinamid adenin dinükleotid fosfat, kalmodulin, oksijen ve dört kofaktöre (hem, flavin mononükleotid, flavin adenin dinükleotid ve tetrahidrobiopterin) ihtiyaç vardır (44).

Üç tip NOS enzimi mevcuttur:

- 1) nöronal NOS (nNOS),
- 2) indüklenebilir NOS (iNOS),
- 3) endotelyal NOS (eNOS).

nNOS ve eNOS izoformlara yapısal (cNOS) denilmektedir. Bunlar kalsiyuma bağımlıdır. iNOS ise immunolojik olaylardan ve nöronal zedelenmeden sonra ortaya çıkar. NO'ya bağlı etkiler, hedef dokudaki reseptörü olan soluble guanilat siklazı (sGC) aktive ederek açığa çıkardığı siklik guanozin mono fosfattan (cGMP) ve cGMP ile aktive olan protein kinaz G'den (PKG) kaynaklanabilir (45). NO, hücre içinde sürekli şekilde mevcuttur. Genel olarak nöronal yapılarda, endotel hücrelerinde, endokard, miyokard ve trombositlerde bulunurlar. Ca^{+2} /kalmoduline bağımlı olup intraselüler Ca^{+2} düzeyini yükselten agonistlerle aktive edilir ve Ca^{+2} /kalmodulinin NOS'a bağlanmasını artırır. Hızlı ve devamlı şekilde pikomolar düzeyde NO sentezlenir. Bundan dolayı Ca^{+2} ile şelasyon yapan maddeler ve kalmodulin inhibitörleri NO sentezini inhibe edebilirler. Endotoksin ve sitokinler (interlökin-1, TNF, interferon gamma) tarafından indüklenen iNOS, Ca^{+2} 'den bağımsız bir sistem olarak çalışır ve makrofajlarda, epitelyum hücrelerinde ve damar düz kas hücrelerinde bulunur (46). Sentezlenen NO hücre membranları arasına diffüze olmaktadır. Yarı ömrü kısadır. Solüsyonlarda hızlıca okside

olur, nitrit (NO_2) ve nitrate (NO_3) dönüşür. Oluşan NO hemoglobine bağlandığında inaktive olur. Oksijene göre hemoglobine bağlanması 3000 kat daha fazladır. Hızlı inaktive olması bekli de NO'nin etkilerinin lokalize olarak kalmasını sağlamaktadır. Nitrik oksid aynı zamanda serbest radikal süperoksit (O_2^-) tarafından inaktive edilebilmektedir. Bundan dolayı süperoksit dismutaz enzimi (SOD) gibi süperoksiti metabolize eden enzimler NO'nin ömrünü uzatabilir. NO'nin O_2^- ile reaksiyonu sonucunda peroksinitrit (ONOO^-) oluşur. Bu da güçlü doku hasarı meydana getirir (47).

2.3.2. Nitrik oksidin etkileri

NO'nin sinyal iletiminde önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır. En önemli işlevleri, kan damarlarını gevşetmesi, inflamatuvar yanıtı ve pıhtılaşma sürecine katkı sağlamasıdır (42, 48). Aynı zamanda kalp, akciğer, beyin, gibi organlarda da yerel dolaşımı regüle etmektedir (49).

NO'nin trombosit agregasyonunu ve adezyonunun, damar tonusunun, düz kas hücrelerinin ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli rolü var. sGC'i aktive ederek hücre içi cGMP konsantrasyonu artışı ile ve kısmen de direkt olarak K^+ kanallarını açarak ve Ca^{+2} efluksunu azaltmak suretiyle düz kasların gevşemesine sağlar (50). Trombosit agregasyonunu ve adezyonunun prostasiklinle sinerjistik etkileşimle engellemekte, ayrıca trombositte NO sentez ederek trombosit aktivasyonuna katkıda bulunmaktadır. Klinikte, prostasiklin veya analoglarının nitrovazodilatörlerle kombine edilmesi etkili bir antitrombotik tedavi sağlayabilir (51).

Periferik sinir sistemde de nonadrenerjik ve nonkolinerjik sinirleri etkileyerek vazodilatasyon, üriner, solunum sistemi, gastrointestinal fonksiyonlarının regüle edilmesine katkıda bulunmaktadır (52).

2.3.3. Nitrik oksidin gastrointestinal sistemdeki rolü

Nitrik oksid (NO), post-ganglioner parasempatik nöronlar ucundan salıverilir ve gastrointestinal sistemin (özofagus, alt özofageal sfinkter, mide, pilorik sfinkter, duodenum, ileum, incebağırsak, rektum, safra kesesi, Oddi sfinkteri, anal sfinkteri) tonusu ve motiliteyi regüle eden önemli inhibitör nörotansmitterdir (52).

Nitrik oksidin gastrointestinal kanaldaki temel etkileri; düz kas gevşemesini, mukozal kan akımını artırmak, asid salıverilmesini azaltmak, mide tonus ve motilitesini inhibe etmek, duodenal mukus ve bikarbonat sekresyonunu artırmak ve gastrik aside karşı mukozal korumayı sağlamaktır. Bu etkilere genellikle guanilil siklaz aktivasyonu aracılık eder. Hedef hücrelerde çözünür guanilil siklaza (sGC) bağlanır, sGC aktivasyonu sonucunda cGMP açığa çıkar ve Protein kinaz G'yi aktive eder. Ca^{2+} 'un hücre içi depolardan salıverilmesi ve voltaj bağımlı Ca^{2+} kanalları inhibe edilir, fosfolipaz C, inozitoltrifosfat (İP3) oluşumu inhibisyonu, Ca^{2+} bağımlı K kanallarının aktivasyonu sonucunda düz kas gevşemesi meydana gelir. Midenin besin alımı sırasında adaptif gevşeme fenomeninde en önemli rolü oynayan nörotransmitterdir (53, 54).

Midede cNOS ve iNOS'un bulunduğu bilinmektedir. cNOS'un endotel ve enterik nöronlardan kaynaklandığı, endotoksin ile uyarılan iNOS'un sitoprotektif etkilere aracılık ettiği ileri sürülmüştür (55).

NO myenterik pleksusta nNOS aktivasyonu ile sentezlenir. Sentezlenen NO gastrointestinal kanalın çeşitli bölümlerinde önemli fizyolojik rol oynar. nNOS ekspresyonundaki azalmanın lokal NO üretimini bozarak gastrointestinal kanalda motilite düzensizliklerine neden olabileceği gösterilmiştir (54).

Ayrıca NO'nin, periferik otonom sinirlerden salıverilen ve gastrointestinal sistemin nöral regülasyonundan sorumlu olan NANK bir nörotransmitter olduğu ve eksitatör yada inhibitör nitelikte olabileceği ilk kez 1990 yılında bildirilmiştir (56).

2.4. Melatonin

Pineal bez MÖ 3. Yüzyılda İskenderiyeli bir anatomist olan Herofilus tarafından bulunmuştur. Pineal bezin yapısını açıklayan Fransız filozof Descartes pineal bezi 'ruhun tahtı' olarak tanımlamıştır. 1958'de Lerner ve arkadaşları tarafından melatoninin pineal bezden salgılandığını keşfetmişlerdir. İlk olarak keşfedilen fonksiyonu balık ve amfibilerde deri rengini açıcı olmasıdır ve bu nedenle "melanophorecontracting hormon" olarak adlandırılmıştır (57, 58). Fakat deri rengini değiştirici etki memelilerde görülmediğinden bu özellik çok fazla ilgi çekmemiştir. 1980 yılında ise Lewy ve arkadaşları ışığın melatonin sekresyonunu baskıladığını bulmuşlardır (59). Sirkadiyen ritmi etkilediğinin

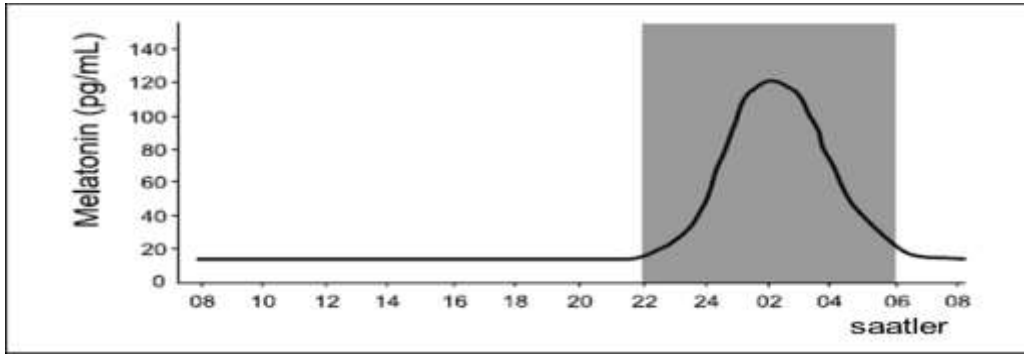
gösterilmesiyle birlikte melatonin, daha çok ilgi çekmeye başlamış ve çok sayıda fonksiyonun olduğu gösterilmiştir (60).

2.4.1. Melatoninin yapısı ve sentezi

Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) esansiyel bir aminoasit olan L-triptofandan üretilir (61). Memelilerde pineal bezin yanı sıra over, lens, kemik iliği hücreleri ile safra ve gastrointestinal sistemden de sentezlenen bir hormondur (62). Retinada sentezlenen melatonin, fotoreseptörlerdeki gece-gündüz (karanlık-aydınlık) değişimlerine karşı retina tarafından verilecek yanıtın düzenlenmesinde rol oynar. Gastrointestinal sistemde enterokromofin hücrelerde sentezlenerek, post-prandial olarak dolaşıma katılmakta ve öğün sonrası kan şekeri düzeylerine etki etmektedir. Safrada sentezlenen melatoninin ise safra yollarını safra asitlerinin oksidatif hasarına karşı korur (1).

Pineal bezde melatonin sentezinin kontrolü ışık tarafından yapılır. Pineal bez tarafından plazmadan alınan triptofan melatonin sentezinin başlangıç maddesidir. Pineal bez ve sistemik dolaşım arasında kan-beyin bariyeri bulunmadığından kandaki triptofan pineal bez tarafından kolaylıkla alınabilmektedir (63). Melatonin sentezinin ilk basamağında pinealositler içine alınan triptofan, N-asetiltransferaz (NAT) tarafından N-asetil serotonine dönüştürülür. N-asetil serotonin ise hidroksiindol-o-metiltransferaz (HIOMT) aracılığı ile melatonine dönüşür. Melatonin sentezinin düzenlenmesi öncelikli olarak karanlığa bağlıdır. Pineal bezde sentezlenen melatonin pineal bezin endokrin hücreleri olan pinealositlerden hızla salgılanmaktadır (2). NAT aktivitesi spesifik c-AMP bağımlı transkripsiyon faktörleri ve fotoperiyodik şartlardan etkilenmektedir. Işık varlığında, retinadan başlayan nöronal uyarılar, hipotalamusta suprakiazmatik nükleus (SCN) ve diğer hipotalamik yapılara aktarılır. Uyarı SCN ve periventriküler nükleus (PVN) aracılığı ile superior servikal gangliyonuna geçer. İnsanda karanlığın başlaması ile postganglionik sempatik liflerden salıverilen noradrenalin esas olarak β_1 reseptörlere bağlanarak, depolardaki serotonin ve NAT'ın intrasellüler salıverilmesini sağlar. Nöronlarda ve pineal bezdeki biyokimyasal sinyallerin bu döngüsü insanda melatonin sentezini hızlandırır (64). Gece saat 20.00-23.00 arası yükselmeye başlayan melatonin seviyeleri 01.00-05.00 saatleri arasında pik düzeylere ulaşır ve gündüz düşer (Şekil 2.1.). Plazma melatonin düzeyleri sağlıklı kişilerde gündüz 0-20 pg/mL, gece 20-200 pg/mL olmak üzere ortalama 60-70 pg/mL' dir. Bir günde %80'i gece olmak üzere yaklaşık 30 mg melatonin sentezlenir (1).

Melatonin saliverilmesi yeni doğanda 9-12. haftalarda başlar. 1-3 yaşta en yüksek seviyelere ulaşır, pubertede düşmeye başlar (65). Günümüzde gece yapay ışığın kullanılması da melatoninin %12,5 civarında sentezinin azalmasına sebep olmaktadır (66). İlerleyen yaşla birlikte hem pineal bezin kütlesi azalmakta, hem de kalsifikasyon meydana gelmektedir. Bu durum yaşla birlikte melatonin düzeylerinin azalmasına yol açar (66, 3).



Şekil 2.1. Gün içerisinde plazmadaki melatonin düzeyinin değişimi (3).

2.4.2. Melatonin metabolitleri

Melatonin karaciğer tarafından esas olarak CYP1A2 tarafından hızlıca metabolize olur. Ana metaboliti 6-sulfoksimelatonin olup bunun idrar konsantrasyonları, kan melatonin konsantrasyonları ile korelasyon gösterir. Melatoninin %5'i idrar ile değişmeden atılır. İntravenöz verildiği zaman melatoninin yarı ömrü 0.5-5.6 dakika arasında değişmektedir. Oral uygulamadan sonra kandaki pik konsantrasyonuna yaklaşık 60 dakikada ulaşılmakta ve yarı ömür 2-20 dakika arasında ölçülmektedir. Oral biyoyararlanımın ortalama %33 olduğu gösterilmiştir. Oral alındığında ilk geçiş etkisine uğramaz. Metabolitleri büyük oranda safra ile atılmakta olan melatoninin enterohepatik sirkülasyona girdiği bilinmektedir (67, 68).

2.4.3. Melatonin reseptörleri ve etki mekanizması

Melatonin yüksek lipit çözünürlüğü özelliği sayesinde hücrelere kolayca girebilmektedir ve etkileri sadece membrana yönelik olarak kalmaz. Sulu ortamda kısmen de olsa çözünebilmesi sayesinde de intrasellüler etkileri oluşur. Melatonin, insanda MT1 ve MT2 reseptörleri üzerinden etkisini gösterir. MT1 ve MT2 transmembran G protein kenetli reseptörlerdir. Melatonin MT1'e yüksek afinite, MT2'ye düşük afinite ile bağlanır. Her ikisi de G_i kenetli reseptörlerdir. Melatonin reseptörleri cAMP, cGMP, inozitoltrifosfat

(IP₃), diaçilgliserol (DAG), araşidonik asit ve intraselüler Ca²⁺ konsantrasyonları gibi birçok ikincil haberciye regüle eder. MT1 reseptörlerinin G proteinleri aracılığı ile aktive olmasıyla adenilat siklaz inhibe olur ve 3'5' cAMP düzeyleri azalır. MT1 reseptörleri aynı zamanda fosfolipaz aktivasyonu aracılığı ile araşidonat salıverilmesini stimüle etmektedir. MT2 reseptörünün aktivasyonu ise cAMP ve cGMP oluşumunu inhibe eder.

Melatoninin ayrıca hücreiçi hedefler üzerinden de etki gösterdiği bildirilmiştir. Kalmoduline bağlanarak kalsiyum sinyalizasyonu üzerinden etki göstermesinin yanında yapısal proteinlere de bağlanır (67-69).

Melatoninin, reseptörleri üzerinden gösterdiği etkiler dışında serbest radikalleri süpürücü etki yaptığı da bilinen bir özelliğidir. Ancak melatoninin serbest radikal süpürücü etki gösterdiği konsantrasyonlar, kan zirve konsantrasyonlarının üstündedir ve dolayısıyla ancak farmakolojik bir bağlamda değerlendirilmelidir (67). Bunun yanı sıra melatoninin antioksidan role sahip olan glutasyon peroksidaz, superoksit dismutaz ve katalaz enzimlerinin sentezini uyardığı da gösterilmiştir. Bu anlamda melatoninin antioksidan özelliklere sahip bir molekül olduğu akılda tutulmalıdır (70).

2.4.4. Melatoninin fonksiyonları

Melatonin reseptör çeşitliliği sayesinde farklı dokularda farklı işlevler gösterebilmektedir. Öncelikle sirkadyen ritm düzenleyici role sahip bir hormondur. Uyku-uyanıklık, nöroendokrin ritimler gibi çok sayıda döngü üzerinde merkezi düzenleyici bir etkiye sahiptir (67, 68). Melatonin takviyesi, uykusuzluk sorunu olan yaşlılarda, REM uyku düzensizliğinde, huzursuz bacak sendromu olan kişilerde, gecikmiş uyku fazı sendromu olanlarda, uykusuzluk sorunu olan manik kişilerde ve fibromiyaljili hastalarda kullanılmaktadır. Vücut uykuda iken tüm hücreler yenilenmekte, bağışıklık sistemi güçlenmekte ve vücut yeniden direnç kazanmaktadır. Tüm bu işlevlerde melatoninin büyük rolü olduğu düşünülmektedir. Bozulmuş sirkadyen döngünün genel sağlık üzerine olumsuz etkileri, bilinen ve üzerinde çalışılan bir konudur (68). Azalmış melatonin sentezi, inme, obsesif kompulsif bozukluk ve şizofreni gibi nörolojik/nöropsikiyatrik hastalıklarla da ilişkili olduğu düşünülmektedir. Çoklu gelişimsel ve nöropsikiyatrik rahatsızlıklara sahip çocuklarda melatonin düzeyinin eksikliği görülmüştür. Bu çocuklarda sirkadyen ritm

bozuklukları düzeltildikten sonra nöbet sıklığında azalma meydana geldiği bildirilmiştir (70-72).

Melatonin, plasenta ile fetal glial ve nöronal hücreler üzerine etki göstererek anne karnındaki gelişimi de düzenlemektedir. Diurnal saatin oluşumu ve biyolojik saatin anne karnında ortaya çıkışı yine melatonin sayesinde olmaktadır (67, 68, 73). Bunun dışında melatoninin kardiyovasküler sistemin otonom olarak düzenlenmesi, kan basıncı ve immün fonksiyonlar üzerinde etkili olduğu da bilinmektedir. Melatoninin immün güçlendirici etkileri hem hayvanlarda hem de insanlarda gösterilmiştir. Sitokin ve özellikle interleükin salıverilmesini uyarır. Yardımcı T hücre (T-helper) immün yanıtını güçlendirir. Yağ dokularında bulunan MT2 reseptörleri aracılığı ile vücut ağırlığı düzenlenmesini etkilediği bildirilmiştir. Hayvanlarda melatoninin kahverengi yağ dokusu oluşumunu indüklediği gösterilmiştir. Ayrıca osteoblast farklılaşması ve kemik oluşumu üzerinden vücut kemik kütlesi üzerine olan etkilerinden de söz edilmektedir (73-75).

Melatonin'in antioksidan etkileri: Hücreler kendilerini serbest radikallerin zararlı etkilerinden enzimler (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz), vitaminler (A, C ve E vitaminleri) ve glutatyon ile ürik asit gibi moleküllerle bir dereceye kadar koruyabilirler (76). Melatonin iyi bir antioksidandır ve peroksinitrit (ONOO^-), hidroksil ($\text{OH}^\cdot$) ve peroksil ($\text{ROO}^\cdot$) radikalleri gibi toksik serbest radikallerin toplayıcısıdır. Hidroksil radikalini nötralize edici etkisi glutatyondan 5 kat, peroksil radikalini nötralize edici etkisi ise E vitamininden 2 kat fazladır (77, 78).

Melatoninin diğer antioksidanlardan özelliği 300mg/gün gibi çok yüksek dozlarda ve 5 yıla kadar olan uzun süreli kullanımlarda bile toksik etki göstermemesidir. Melatonin'in hücre çekirdeğine girebilmesi, DNA'nın oksidatif hasardan korunması bakımından önemli bir özelliktir (79).

Direkt antioksidan etkisinin yanı sıra glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi antioksidan enzimleri uyardığı, lipid peroksidasyonunu engellediği ve özellikle beyin dokusunu serbest radikallerden koruduğu saptanmıştır (80). Melatoninin muhtemel indirekt antioksidan etkisi ise iNOS'un downregülasyonu ve peroksinitrit oluşumunu önlemesidir (81).

Sıçanlarda tüm vücut radyoterapisi öncesi ve sonrası melatonin (10-20 mg, i.p) uygulanarak akciğer dokusundaki oksidatif stres ve inflamasyona cevabı araştırılan çalışmada, tiyobarbitürik asit reaktif ürünlerinin seviyesi, miyeloperoksidaz aktivitesinin düşüşüne neden olan melatoninin antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkisinin olduğu gösterilmiştir (82).

Melatoninin, biyolojik ritmi, yaşlanma, immunmodulator, onkostatik, hipotansif etkileri sayesinde, uyku bozuklukları, dejeneratif hastalıklar, endokrin sistemdeki ritim bozuklukları, immun yanıtta azalma, hipertansiyon ve kanser gibi yaşlılıkta daha sıkça gözlenen bazı patolojilerin tedavisinde rolü olabileceği düşünülmektedir (83).

2.4.5. Melatoninin gastrointestinal sistemde rolü

Melatonin GİS’de yoğun ve çok miktarda bulunmaktadır. GIS kaynaklı melatonin sentezi, kan bazal melatonin düzeylerinin devamını sağlamaktadır. Asıl olarak serotoninden zengin enterokromaffin hücreleri tarafından sentezlenen melatonin üretiminin, triptofan içerikli yiyecekler tarafından tetiklendiği bilinmektedir (1, 84). Portal dolaşımda bulunan melatonin miktarı özellikle de yemeklerden sonra, periferel dolaşıma oranla daha yüksek konsantrasyondadır. Bu da bize melatoninin GİS ve hepatobiliyer sistem arasında bir iletişim unsuru olmasına dair ipucu sağlamaktadır. GİS’in tamamında melatonin bağlanma bölgeleri olduğu gösterilmiştir, ancak özofagustaki bağlanma afinitesi GİS’in diğer bölgelerine göre bir miktar daha düşüktür. GİS kaynaklı melatonin konsantrasyonunun, pineal bezden bağımsız seyrettiği hayvanlarda gösterilmiştir. Aynı zamanda GİS kaynaklı melatonin, pineal bezde olduğu gibi fotoperiyodik olarak salıverilmez (84, 85).

Melatoninin GİS motilitesi üzerine düzenleyici etkisi olduğu bilinmektedir. Düşük doz melatoninin motiliteyi artırdığı, yüksek doz melatoninin ise bu etkiyi geriye çevirdiği gösterilmiştir (86). Aynı zamanda melatoninin GİS viseral duyu alımında düzenleyici etkiye sahip olduğuna dair bulgular vardır. Fonksiyonel abdominal ağrısı olan hastaların idrar 6-sulfatoksimeatonin düzeyleri daha düşük bulunmuş, aynı zamanda bu hastalarda melatonin dalgalanım genliğinin (amplitüd) daha düşük olduğu gösterilmiştir (9, 87).

Beslenme davranışı üzerinde yapılan bazı çalışmalarda gıda alımının kontrolünde görev alan hormonların melatonin tarafından düzenlendiği gösterilmiştir. Kronik melatonin

tedavisinin diyetle indüklenen obezite tarafından ortaya çıkarılan metabolik bozuklukları önlediği bildirilmiştir (88). Melatoninin artmış vücut yağ akümüasyonu, glukoz intoleransı, kan basıncının yükselmesi ve aterojenik dislipidemi gibi obezite ile bağlantılı metabolik bozukluklardaki yararlı etkileri göz önüne alındığında, obezite bağlantılı komplikasyonların engellenmesinde etkili bir araç olabileceği düşünülmektedir (89, 90). Ancak, insomnia tedavisinde kullanılan 2-5 mg/gün melatoninin bu dozlarda obezite komplikasyonlarını iyileştirmediği, daha yüksek dozlarda melatonin uygulamak gerektiği bildirilmiştir (91).

Melatonin'in metabolik sendromlu hastalar üzerinde yapılan çalışmaları da mevcuttur. 2 ay boyunca günde 5 mg melatonin verilen hastalarda, 2 ay sonunda katalaz aktivitelerinin arttığı, lipit peroksidasyonunda azalma olduğu yani antioksidan savunma sisteminin geliştiği, bununla beraber LDL kolesterolün azaldığı, kan basıncının düştüğü görülmüştür (92).

Obezite ile bağlantılı metabolik bozukluklarda melatonin yararlı etkileri olduğu gözlenmiştir (90). Ancak metabolik sendrom komplikasyonlarının iyileştirilmesi için yüksek dozlarda melatonin uygulanmasının gerektiği bildirilmiştir (91).

2.5. Peptik Ülser

Peptik ülser hastalığı, dünya çapında önemli sayıda insanı etkileyen bir hastalıktır. Epitel hücrelerinin lümen yüzeyinde, agresif ve koruyucu faktörler arasında bir dengesizlik olduğunda gelişir. Bu hastalığın başlıca nedenleri arasında *Helicobacter pylori*, HCl, pepsinler, sigara ve alkol, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar, safra asitleri, iskemi, hipoksi dışında, savunma faktörleri arasında yer alan bikarbonat, mukus tabakası, mukozal kan akışı, prostaglandinler ve büyüme faktörleri de yer alır. Bununla birlikte, hem ekzojen hem de endojen kökenli sayısız zararlı lüminal ajana ve tahriş ediciye karşılık olarak, mide, diğer dokulardan veya biyolojik sıvılardan çok daha yüksek, kitlesel reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ve konsantrasyonunun bulunduğu bir yerdir (93, 94). ROS'ların oluşumu, gastrit, peptik ülser gibi çoklu mide patolojilerinin gelişiminde önemli bir rol oynar. Artmış oksidatif stresin agresif faktörlerin neden olduğu mide mukozal hasarıyla ilişkili olduğu bilinmektedir (95).

Peptik ülser, akut erozyonlar dahil, travma, stres, sepsis, hemorajik şok, yanıklar, akciğer ve karaciğer hastalığı gibi iyi bilinen faktörleri ve reserpin, epinefrin, nonsteroid antiinflamatuvar ve steroidler gibi ilaçları içeren çok faktörlü bir hastalıktır. Hastaların yaklaşık % 60-80'inde etiyolojik faktörler bilinmemektedir (96).

Mukozanın en üst bölümünde oluşan yüzeysel nekroz-erozyon, eğer muskularis mukozaya kadar ilerlemişse ülser olarak adlandırılır. Nekrotik oluşum sırasında kapiller ve venül harabiyeti de mevcuttur. Gastroduodenal hasar, diffüz mukozal nekroz, lokalize erozyon veya ülser şeklinde görülebilir. Ülser genellikle midenin asit salgılamayan antrum mukozası üzerinde yerleşmiştir (21, 97).

İnsanlarda ülser hastalığının hem patogenezi hem de tedavisini araştırmak için, yaygın olarak sıçanlarda intragastrik etanol ülseri modeli kullanılır. Bu modelde intragastrik etanol uygulaması, mide mukozal lezyonlarını hızla indükler. Etanol, gastroduodenal mukozaya hızla nüfuz ederek zar hasarına, hücrelerin pul pul dökülmesine ve erozyona neden olur. Daha sonra mukozal geçirgenlikteki artış, mast hücreleri, makrofajlar ve diğer kan hücrelerinden vazoaktif ürünlerin salgılanmasıyla birlikte vasküler hasar, nekroz ve ülser oluşumuna yol açmaktadır (98).

Suya daldırma stresi (99), antiinflamatuvar ilaçlar (100), etanol (101, 102) ve özellikle iskemi-reperfüzyon (102, 103) ile ilişkili mide mukozal hasarından sorumlu patojenik bir faktör olarak serbest oksijen radikallerinin salgılanması düşünülmektedir. Bu nedenle, endojen antioksidan savunma mekanizmasının etkinliği, akut mide mukozal hasarının gelişmesine karşı korumada kritik öneme sahip olabilir.

Endojen glutatyon mide mukozasının bütünlüğünün korunmasında önemli bir rol oynar (104). Etanole bağlı mide mukozal hasarı, sıçan ve insanda protein olmayan sülfhidril konsantrasyonunda önemli bir azalma ile ilişkilidir (103-106).

2.5.1. Peptik ülserde nitrik oksidin rolü

Peptik ülserde NO, mide mukozasını korumada önemli bir rol oynar (107). Gastrointestinal sistemde bulunan nNOS, eNOS, gastrik mukozal kan akışını, mukus sekresyonunu ve savunma bariyerini düzenleyerek gastrointestinal mukozal bütünlüğün korunmasında rol

almaktadır. Bununla birlikte, iNOS tarafından sentezlenen NO, inflamatuvar yanıtta doku hasarından sorumlu faktörlerden biridir. Birçok çalışmalarda NO'nin mukozal kan akışını teşvik ederek, mide mukus salgısını uyararak ve lökosit infiltrasyonunu azaltarak mide ülseri için koruyucu bir ajan olarak kullanılabileceğini göstermiştir (108-110).

Mide mukozasında kan akımı azaldığında mukoza daha kırılgan hale gelir. eNOS tarafından sentezlenen NO, damar düz kasını gevşeterek lokal kan akışını artırır. Ülserli dokuda mukozal anjiyogenezi uyararak da kan akışını artırır (111). Çok sayıda çalışmada NO sekresyonunun yetersiz olması nedeniyle vasküler endotel hücrelerinin hasar gördüğü ve vazodilatasyonun kısıtlandığı gösterilmiştir (112). Ek olarak, vasküler endotelyal büyüme faktörü, anjiyogenezi ve NOS ekspresyonunu uyarabilir (112).

NO'nin nötrofillerden süperoksit (O_2^-) üretimini engellediği ve doğrudan nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidazı inhibe ettiği gösterilmiştir (113). Böylece NO, O_2^- ve hidrojen peroksit dahil olmak üzere ilgili oksidanların sentezini de önler. Hem süperoksit hem de hidrojen peroksit, iskemi reperfüzyonu ve NSAID'ler ile ilişkili mukozal hasarda rol oynar (114). Trombositlerin de ayrıca inflamatuvar süreçlerde rol oynadığı düşünülmektedir ve NO, trombosit agregasyonunun çok etkili bir inhibitörüdür, trombosit aktivasyonunu inhibe ederek anti-inflamatuvar bir rol oynayabilir. Çalışmalar, NO'nin anti-agregasyondaki rolünün trombositlerdeki sGMP seviyesini artırarak düzenlendiğini ileri sürmüştür (115). Öte yandan, H. Pylori peptik ülser patogenezinde iNOS ekspresyonunu indükleyebilir. iNOS artışı, NOS inhibitörleri ve SOD inhibitörleri tarafından inhibe edilebilen duodenal epitel hasarına yol açabilir. Bu bulgular, NO'nin H. pylori enfeksiyonu ile bağlantılı epitel hasarında rol oynayan peroksinitrit üretmek için süperokside bağlandığını göstermektedir (116).

2.5.2. Peptik ülserde melatoninin rolü

Melatonin, gastrik mukozada belirgin miktarda sentezlenmektedir. Bu hormon lipofilik özelliğe sahip olduğu için, melatoninin mukozadan daha derin tabakalara ve hatta myenterik plexus ve kasa etki gösterebileceği düşünülmektedir. İmmünohistokimyasal çalışmalar da bu öngörüğü desteklemektedir (1, 117). Sıçan reflü özofajit modelinde özofagus mukozasında yararlı ve koruyucu etki gösteren melatoninin etki mekanizması anti-enflamatuvar ve antioksidan etkisine bağlanmıştır. Melatonin, proinflamatuvar sitokinler

olan IL-1beta ve TNF-alfa'nın sekresyonunu azaltmıştır. Koruyucu etkilerine kapsaisin duyarlı duyuşal sinirlerden salıverilen NO ve kalsitonin gen ilişkilili peptidin (CGRP) aracılık ettiği bulunmuştur (4). Gastroözofageal reflü hastalığının tedavisi için ümit verici terapötik bir ajan olabileceğini gösteren klinik çalışmalar da vardır. Reflü hastalığı olan 36 hastada yapılan bir çalışmada melatonin tek başına veya omeprazol ile birlikte kullanıldığında anlamlı derecede iyileşme sağlamıştır (5).

Inflamatuvar barsak sendromu olan hastalarda plaseboya karşı melatonin takviyesinin 2-8 hafta kullanımının, semptomlarda istatistiksel olarak anlamlı azalma gösterdiğini bildirilmiştir (6). Ülseratif kolitte çeşitli hayvan deneylerinde, melatonin uygulamasının IL-10 üretimini arttırdığı ve IFN, TNF, IL-6 ve NO inhıbe ettiği gösterilmiştir (7).

2000'li yılların başında yapılan çalışmalar sonucunda stres ile indüklenen ve iskemi-reperfüzyon modeli ile oluşturulan gastrik ülserde melatonin ve L-triptofan uygulaması lezyon oluşumunu engellediğini gösterilmiştir. Yine bu çalışmalarda melatonin ve L-triptofanın bu olumlu etkisinin indometazin ile önlendiği de ortaya konmuştur (99, 118). Bu bulgular, melatonin ve L-triptofan uygulamasının gastrik lezyonu, siklooksijenaz yolunu indükleyip prostaglandin salgılanmasını artırarak önlediğini gösteren çalışmalarla uyumludur (119, 120). Bütün bu çalışmaların sonucunda, melatoninin iyileştirici ve gastrik mukoza zedelenmesini önleyici etkisinin temelinde prostaglandin ve NO sentez indüksiyonu olduğu hipotezi ortaya konulmuştur (119, 121). Melatonin reseptörlerinin bu etki üzerindeki önemli rolü, özgül bir melatonin antagonisti olan luzindolün, melatoninin yol açtığı gastrik mukozal kan akımını artırıcı ve iyileştirici etkiyi geriye çevirdiğini gösterilerek de kanıtlanmıştır (121, 122).

Storr ve ark. tarafından sıçan mide fundusu üzerinde yapılan bir çalışmada melatoninin gastrointestinal sistemde NANK aracılı nöromodülatör bir etki ile nitrejik innervasyonu azalttığı gösterilmiştir (18). Bu etkilere, MT1 reseptörleri üzerinden nNOS aktivitesinin inhibisyonunun aracılık ettiği düşünülmüştür. Bu sonuçlar, iyileşmekte olan ülserli dokuların kenarlarında bulunan iNOS ifadeleneşmesi ve mRNA miktarının arttığını gösteren çalışmalarla uyum içerisinde (121, 123, 124). Özofagus üzerindeki koruyucu etkisi gibi, midedeki koruyucu etki de duyuşal sinir uçları ile ilişkili olarak görölmektedir (125, 126). Bununla beraber melatoninin reaktif oksijen türevlerini süpürücü etkisinin oluşturduğu antioksidan etkinin bu koruyucu ve iyileştirici özellik üzerindeki rolü yadsınmamalıdır.

Nitekim siklooksijenaz enzimleri ve prostaglandin üretim mekanizmalarının indometazin ile baskılandığı hayvanlarda melatoninin iyileştirici ve koruyucu etkisini, antioksidan fonksiyonları sayesinde sağladığı bildirilmiştir (121, 127). Bütün bu etkilerin yanında melatonin ve L-triptofan tedavisi uygulanan hastalarda gözlenen gastrin ve kolesistokinin konsantrasyon artışının da ülser iyileşmesine katkıda bulunduğuna dair kanıtlar mevcuttur (128).

Melatoninin GİS patolojilerinin gelişimi üzerindeki rolü ve klinik olarak kullanılabilirliği yıllardan beri irdelenmeye devam eden bir araştırma konusudur. Melatonin, çok sayıda düzenleyici fonksiyona sahip lipofilik bir molekül olduğundan, tedavi edici potansiyeli birçok hastalıkta incelenmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada 30 adet erkek 300-380 gr ağırlığında Wistar Albino sıçan kullanıldı. Sıçanlar standart laboratuvar koşullarında ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık) tutularak, normal hayvan yemi ile beslenmiştir.

3.2. Deney Düzenekleri

3.2.1. Organ banyosu sistemi

Dokular organ askısı yardımıyla Krebs solüsyonu içeren 20 ml'lik organ banyosuna bir ucu organ askısına, bir ucu izometrik kasılmaları kayıt etmek için izometrik kuvvet transdüserine (MAY, FDT 10-A, COMMAT Ltd., Ankara, Türkiye) bağlı olacak şekilde yerleştirilmiştir. İzometrik düz kas kasılmaları transdüserler aracılığı ile (BIOPAC, MP35 System Inc, COMMAT Ltd., Ankara, Türkiye) kayıt edilmiştir.

3.2.2. İzole sıçan mide fundus preparatının hazırlanması

Ötenazi amacıyla kimyasal yöntem ketamin/ksilazin kombinasyonu kullanılmıştır. Sıçanlar ketamin (50 mg/kg), ksilazin hidroklorür (10mg/kg) ile intramusküler anestezi verilerek, sakrifiye edilmiştir. Mide fundus dokusunun hazırlanabilmesi için karın orta hat bölgesinden açılarak, mide dokuları tamamen vücut dışına çıkarılmıştır. Dışarıya alınan mide dokusu önceden hazırlanan 37°C 'ye ısıtılmış %5 CO_2 , %95 O_2 karışımı ile havalandırılan Krebs solüsyonuna koyulmuştur. Fundus dokusundan şeritler hazırlamak için petrilerde çevre dokuların temizlenmesinden sonra mide fundus bölgesi diğer bölümlerden ayırarak, 1-1.5 cm boyunda 0.2-0.3 cm eninde longitudinal olarak kesilmiş ve her dokudan 4 şerit elde edilmiştir. Krebs solüsyonu içeren 20 ml'lik organ banyosuna bir ucu organ askısına, bir ucu izometrik kasılmaları kayıt etmek için Grass izometrik kuvvet transdüserine bağlı olacak şekilde yerleştirilmiştir. İzometrik düz kas kasılma ve gevşemeleri transdüserler ile bilgisayara kaydedilmiştir. Tüm deney süresince Krebs solüsyonu %95 O_2 ve %5 CO_2 ile havalandırılmış ve 37°C 'de tutulmuştur. Deneyin

başlangıcında dokulara 1g ön gerilim uygulanmıştır. Her 15 dakikada bir yıkanarak 1saat süre boyunca dokunun dengelenmesi sağlanmıştır.

3.2.3. Elektriksel Alan Uyarısı (EAU)

Dokular iki platin elektrod arasına vertikal olarak, elektrodla değmeyecek şekilde asılmış ve Elektriksel Alan Uyarısı (EAU) için STPT 03 Stimülatör (MAY STPT 03 Stimülatör Research Stimulator, COMMAT Ltd., Ankara, Türkiye) kullanılmıştır. Dinlenme ve stabilizasyon sürecinin ardından yapılan ön deneylerde elektriksel alan uyarısı için uygun parametreler belirlenmiştir. EAU, izole sıçan mide fundus dokularına, 40V, 120 saniyede bir 10 saniye süre ile ve 8 Hz frekansta uygulanmıştır.

3.3. Kullanılan Kimyasallar

Banyo solüsyonu olarak kullanılan Krebs-Henseleit çözeltisinin bileşimi (mM), NaCl 118; KCl 4.7; NaHCO₃ 25; NaH₂PO₄-2H₂O 0.9; CaCl₂-2H₂O 1.26; MgCl₂-6H₂O 0.5; Glukoz monohidrat 11.

Guanetidin monosülfat, atropin, indometasin, N-Nitro-L-Arginin Metil Ester (L-NAME), DEA-NO, melatonin, Sigma-Aldrich (Merck) Chemical Co. (St. Louis MO, ABD)' den temin edilmiştir. Guanetidin monosülfat, atropin, L-NAME, DEA-NO distile suda hazırlanmıştır.

İn-vivo olarak uygulanan melatonin %10 etanol solüsyonunda çözünerek 15mg/kg (i.p) uygulanmıştır. İn-vitro kullanılan melatonin stok solüsyonu ise %50 distile su, %50 etanolde hazırlanmıştır. Sonraki dilüsyonlar distile su ile yapılmıştır. İndometazin stok solüsyonu da dimetil sulfoksitte (DMSO) çözünmüştür.

3.4. Deney Grupları

Deneyler 4 grupta planlanmıştır ve her grupta 6 sıçandan elde edilen mide fundus şeritleri kullanılmıştır.

Kontrol grubu (Grup 1): Herhangi bir uygulama yapılmamış gruptur. Tüm hayvanlarda olduğu gibi çalışmadan 24 saat önce aç bırakılmış, ancak su içmelerine izin verilmiştir.

Etanol ülseri oluşturulmuş grup (Grup 2): Sıçanlarda etanol ile mide ülseri oluşturulmadan 24 saat önce hayvanlar aç bırakılmıştır. 24 saatlik açlığı takiben %60 etanol solüsyonu 5ml/kg olacak şekilde oral yoldan gavaj ile uygulanmış ve 1 saat sonra da hayvanlar sakrifiye edilmiştir (Robert et al.1979).

Önceden in-vivo melatonin uygulanmış kontrol grubu (Grup 3): 24 saat aç bırakılmış olan sıçanlara, sakrifiye edilmeden 30 dakika önceden melatonin 15mg/kg verilmiştir. Ülser oluşturulmamıştır.

Önceden in-vivo melatonin uygulanmış ülser grubu (Grup 4): 24 saat aç bırakılmış olan sıçanlara, ülser oluşturulmadan 30 dakika önce 15mg/kg melatonin verilmiştir. Daha sonra %60 etanol solüsyonu 5ml/kg oral yoldan gavaj ile verilerek ülser modeli geliştirilmiştir. 1 saat sonra da hayvanlar sakrifiye edilmiştir.

3.4.1. Gastrik ülser skorunun hesaplanması

Mide dokusundaki ülserasyon alanları büyüteç yardımıyla milimetrik cetvel ile ölçülmüştür. Meydana gelen ülseratif alanlar (siyah renkli kanama alanları) ve erozyonun derecesine göre değerlendirilmiştir. Midede oluşan ülser skorunu belirlemek için ülserin uzunluğu mm olarak ölçülmüştür. Ülser ve erezyonlar dışında bulunan yer yer peteşiler de sayılmış ve her 5 peteşi 1 mm olarak hesaplanmıştır. Ülseratif alanların tüm mide yüzeyine göre kapladığı oran hesaplanmıştır. (Nguelefack ve ark, 2005; Guha ve ark, 2010). Milimetrik cetvel kullanılarak uygulanan bu yöntemle her bir örneğin ülser alanları tek tek ölçülmüştür.

3.5. Deney Protokolü

Araştırma, yukarıda yer alan 4 grupta, her bir grupta 6 sıçandan elde edilen mide fundus şeritlerinde in-vitro olarak gerçekleştirilmiştir. Tüm gruplarda, dinlenme ve stabilizasyon sürecinin ardından ilk olarak dokuların düz kas kasılabilirliğini değerlendirmek için, tüm dokular KCl (80mM) ile kasılarak ve 10 dakika ara ile en az 3 kere yıkanmıştır. Dokularda sempatik sistem etkisini ortadan kaldırma amacıyla, organ banyo ortamına guanetidin (10^{-6} M) ile prostaglandin sentezini inhibe etmek için indometazin (10^{-5} M) ilave edilmiş ve 20 dakika beklenmiştir. Ardından EAU uygulanarak (40V, 120 sn, 10 sn, 8 Hz) nörojenik

kasılma yanıtları elde edilmiştir. EAU aracılı yanıtları değerlendirmek için ön denemelerde (guanetidin ve indometazin varlığında), atropin (muskarinik reseptör antagonisti, 10^{-6} M) ve neostigmin (antikolinesteraz, 10^{-6} M) kullanılmıştır. Ayrıca organ banyo ortamında iberiotoksin (Yüksek kondüktanslı Ca^{+2} ile aktive edilmiş seçici K^{+} kanal blokörü, 10^{-8} M) ve apamin (Düşük kondüktanslı Ca^{+2} ile aktive edilmiş seçici K^{+} kanal blokörü, 10^{-6} M) varken melatonin kümülatif dozlarda uygulanarak tanımlama yapıldı. Ayrıca, ön denemelerde kümülatif melatonin (10^{-7} - 10^{-4} M) dozlarının bazal tonüs üzerine etkisi değerlendirildi.

EAU aracılı kasılma yanıtları bir dengeye ulaştıktan sonra 4 çalışma grubunda aşağıdaki ajanların EAU aracılı yanıtları nasıl değiştirdiği değerlendirilmiştir:

Kontrol ve Ülser Grubunda:

- EAU aracılı kolinerjik nörojenik yanıtlar üzerinde endojen nitrerjik sistemin etkisini araştırmak için NOS inhibitörü olan L-NAME (N-Nitro-L-Arginin Metil Ester, 10^{-4} M) uygulanmıştır. Başka bir seri deneyde, L-NAME (N-Nitro-L-Arginin Metil Ester, 10^{-4} M)'in etkisi Melatonin (10^{-4} M) ile inkübe edilmiş dokularda da değerlendirilmiştir. Elde edilen yanıtlar kontrol yanıtlarının yüzdesi olarak hesaplanmıştır.
- EAU aracılı kolinerjik nörojenik yanıtlar üzerinde ekzojen nitrerjik sistemin etkisini araştırmak için NO donörü DEA-NO (10^{-8} - 10^{-4} M) uygulanmıştır. Başka bir seri deneyde, DEA-NO (10^{-8} - 10^{-4} M)'nın etkisi Melatonin (10^{-4} M) ile inkübe edilmiş dokularda da değerlendirilmiştir. Elde edilen yanıtlar kontrol yanıtlarının yüzdesi olarak hesaplanmıştır.
- EAU aracılı kolinerjik nörojenik yanıtlar üzerine Melatonin (MLT; 10^{-7} - 10^{-4} M) uygulanmıştır. Başka bir seri deneyde Melatonin (MLT; 10^{-7} - 10^{-4})'in etkisi L-NAME (10^{-4} M) ile inkübe edilmiş dokularda da değerlendirilmiştir. Elde edilen yanıtlar kontrol yanıtlarının yüzdesi olarak hesaplanmıştır.
- Tüm dokularda muskarinik reseptör agonisti karbakol ile kümülatif dozlarda (10^{-8} - 10^{-4} M) kolinerjik kasılma yanıtı incelenmiştir, elde edilen kasılma yanıtları dokuların KCl ile kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak hesaplanmıştır.

- Ayrı bir seri deneyde dokular 80 mM KCl ve CaCl₂ (2.5 mM) ile kasılmıştır. Kasılma yanıtları stabilize olduktan sonra, ortama melatonin kümülatif dozlarında (10^{-7} - 10^{-4} M) uygulanarak etkisi araştırılmıştır. Elde edilen gevşeme yanıtları kasılmanın yüzdesi olarak hesaplanmıştır.

İn-vivo Melatonin Uygulanmış Kontrol ve Ülser Grubunda:

- EAU aracılı kolinerjik nörojenik yanıtlar üzerinde endojen nitrojenik sistemin etkisini araştırmak için NOS inhibitörü olan L-NAME (N-Nitro-L-Arginin Metil Ester, 10^{-4} M) uygulanmıştır. Elde edilen yanıtlar kontrol yanıtlarının yüzdesi olarak hesaplanmıştır.
- Tüm dokularda muskarinik reseptör agonisti karbakol ile kümülatif dozlarda (10^{-8} - 10^{-4} M) kolinerjik kasılma yanıtı incelenmiştir, elde edilen kasılma yanıtları dokuların KCl ile kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak hesaplanmıştır.

3.6. Bulguların Sunuluşu ve İstatistiksel Analiz

Araştırılan maddelerin etkileri, EAU aracılığı kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi cinsinden hesaplanmıştır. Çalışma verileri, Microsoft Excel programına kaydedilerek hesaplanmıştır. Verilerin istatistiksel analizinde “SPSS for Windows 23.0” programı kullanılmıştır. Grupların normal dağılıma uyup uymadığına göre, non-parametrik Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi, bağımlı gruplarda Friedman testi, ikili gruplarda ise Mann Whitney U, Wilcoxon testi kullanılmıştır. Veriler ortalama±standart hata olarak hesaplanmıştır. $p<0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.

3.7. Etik Kurul İzni

Araştırma için Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan onay alınmıştır (Sayı: 04.10.2019-E.123689).

4. BULGULAR

Çalışmamızın kontrol gruplarında ülser odakları izlenmemiştir. Etanol ülseri geliştirilmiş grupta ülser skorunun ortalaması 11.52 ± 1.15 mm iken, melatonin (15mg/kg) + ülser grubunda ise 6.12 ± 0.54 mm olarak saptanmıştır (Şekil 4.1 ve 4.2.). Fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).



Şekil 4.1. Etanol ülseri geliştirilmiş sıçan midesi.



Şekil 4.2. İn vivo melatonin + etanol ülseri geliştirilmiş sıçan midesi.

Mide fundusundan hazırlanan şeritler izole organ banyosuna asıldıktan sonra, 1 saat dengelemeye bırakılmıştır. Dengeleme sonrası tüm dokuların kas kasılabilirliğini değerlendirmek için, elektriksel alan uyarısı verilmeden organ banyosu ortamına KCI

(80mM) ilave edilmiştir. Araştırılan maddelerin etkileri, EAU aracılığı kontrol kasılma yanıtlarının yüzdesi cinsinden hesaplanmıştır.

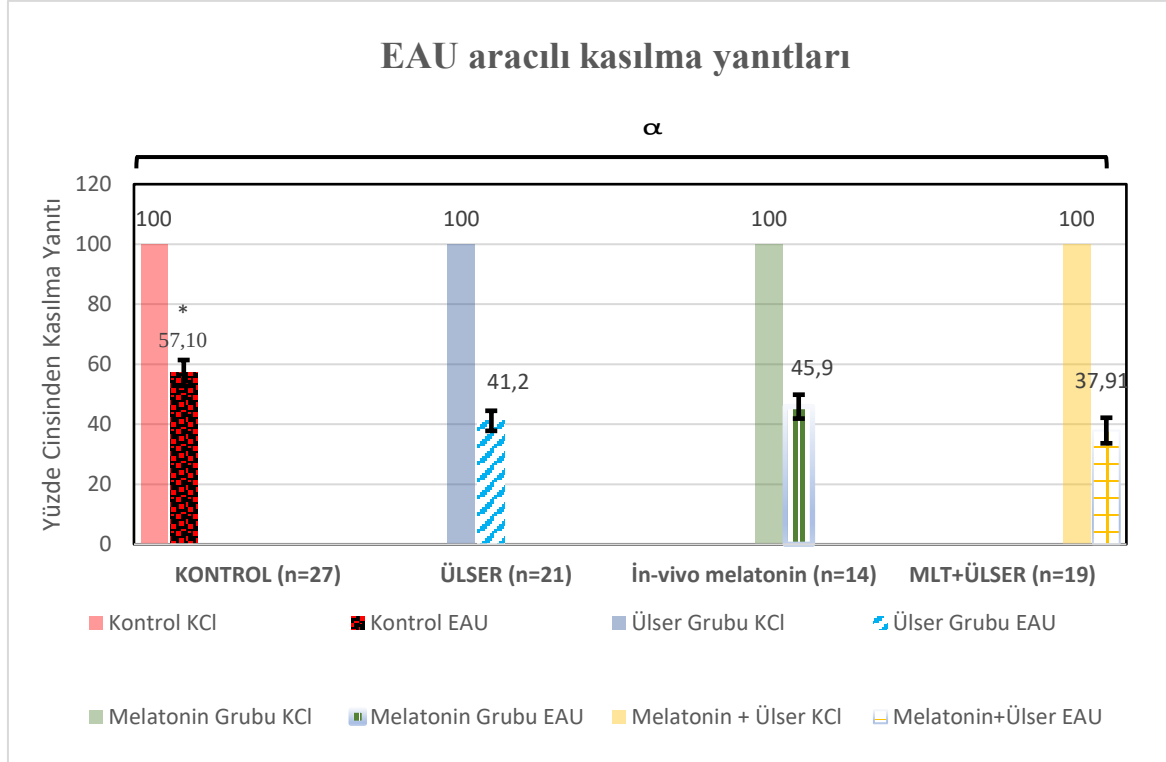
4.1. EAU Aracılı Kolinergic Kasılma Yanıtlarının Tanımlanması

Guanetidin (10^{-6} M) ve indometasin (10^{-6} M) belirtilen konsantrasyonlarda EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtları üzerine istatistiksel olarak anlamlı bir etki oluşturmadi. Atropin (10^{-6} M) EAU aracılı kasılma yanıtlarını tamamen ortadan kaldırdı. Neostigmin (10^{-6} M) EAU aracılı kasılma yanıtlarını istatistiksel olarak anlamlı oranda arttırdı.

Melatonin bazal tonüste kümülatif dozlarda (10^{-7} - 10^{-4} M) herhangi bir etki oluşturmadi.

4.2. Tüm Gruplarda EAU Aracılı Kasılma Yanıtları

Tüm gruplarda KCl (80mM) ile kasılma yanıtı elde edilmiştir. EAU aracılı yanıtlar kontrol KCl ile kasılma yanıtının yüzdesi cinsinden hesaplanmıştır (**Şekil 4.3.**). Gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Kontrol grubu, ülser ve melatonin+ülser grubundan istatistiksel olarak anlamlıdır.



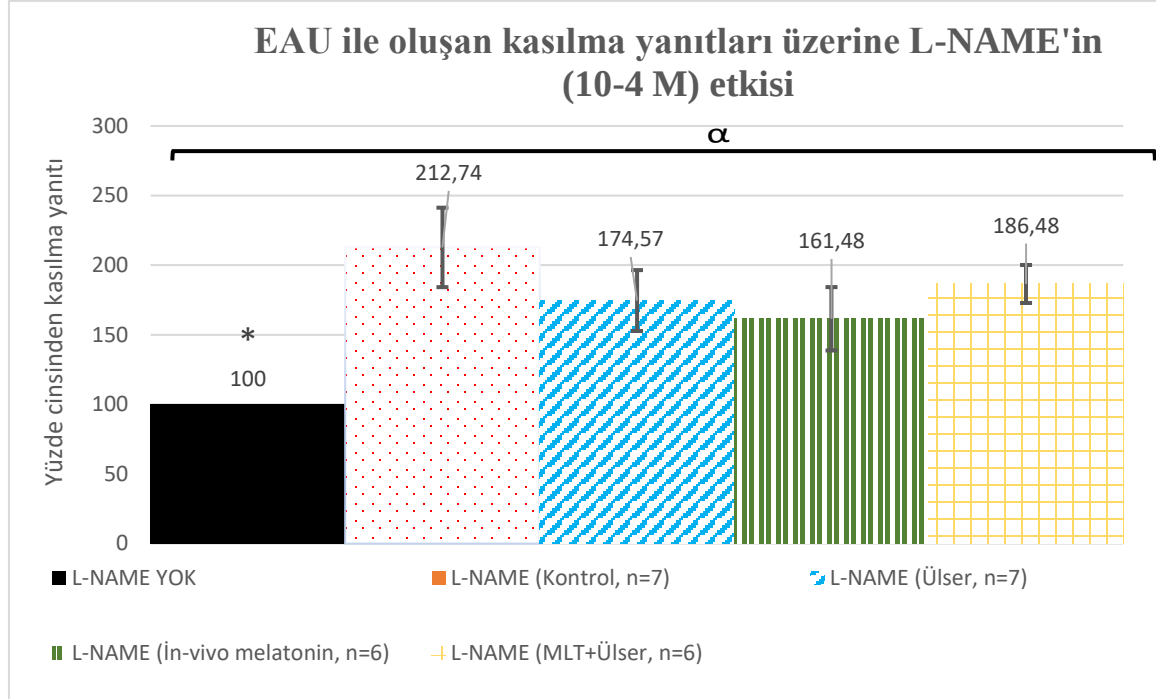
Şekil 4.3. Deney gruplarının EAU'na verdiği yanıtların KCl (80mM) kasılmasının yüzdesi cinsinden gösterimi

^ap<0.05, gruplar arasında anlamlı fark (ANOVA testi).

*p<0.05, ülser ve melatonin+ülser gruplarından farklı (PostHoc-Tukey).

4.3. EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine L-NAME'in Etkisi

L-NAME (10^{-4} M) tüm gruplarda nörojenik kasılma yanıtlarını, L-NAME'siz ortama göre artırmıştır ve bu artış anlamlıdır (Şekil 4.4.). Ancak deney grupları arasında (kontrol, ülser, in-vivo melatonin, melatonin+ülser) istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır.



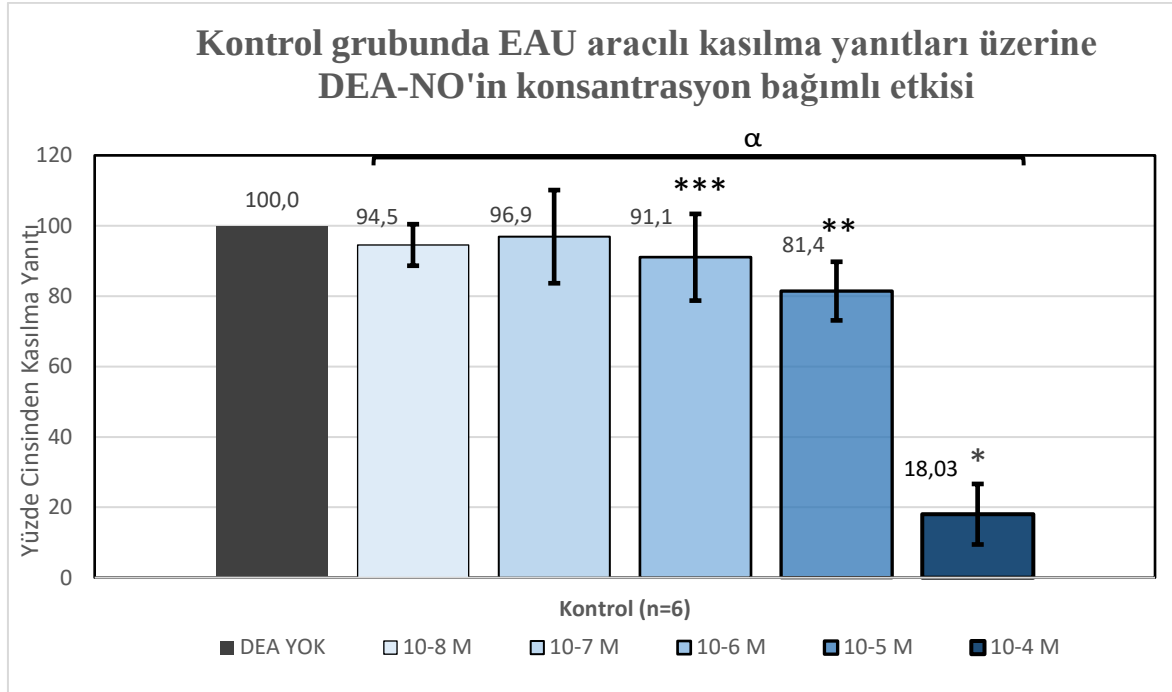
Şekil 4.4. EAU ile oluşan kasılma yanıtları üzerine L-NAME'in (10⁻⁴ M) etkisi:

^ap<0.01, Gruplar arasında anlamlı fark (Kruskal-Wallis).

*p<0.05, Kontrol grubu; ülser, in-vivo melatonin ve melatonin+ülser gruplarından farklı (Mann-Whitney U testi).

4.4. EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine DEA-NO'nin Konsantrasyon Bağımlı Etkisi

Kontrol ve ülser gruplarında EAU ile oluşan kasılma yanıtları üzerine ekzojen nitrik oksit donörü DEA-NO (10⁻⁸-10⁻⁴ M) kümülatif konsantrasyonlarda uygulanmıştır. DEA-NO, elimizde yeterli miktarda olamadığı için, in-vivo melatonin ve melatonin+ülser gruplarında deneme yapılamamıştır. Kontrol grubunda DEA-NO, konsantrasyon bağımlı olarak EAU aracılı kasılma yanıtlarını azaltmıştır (Şekil 4.5.). Ülser grubunda ise EAU aracılı kasılma yanıtları sadece DEA-NO'nin uygulandığı en yüksek konsantrasyon olan 10⁻⁴ M'da anlamlı olarak azalmıştır (Şekil 4.6.).



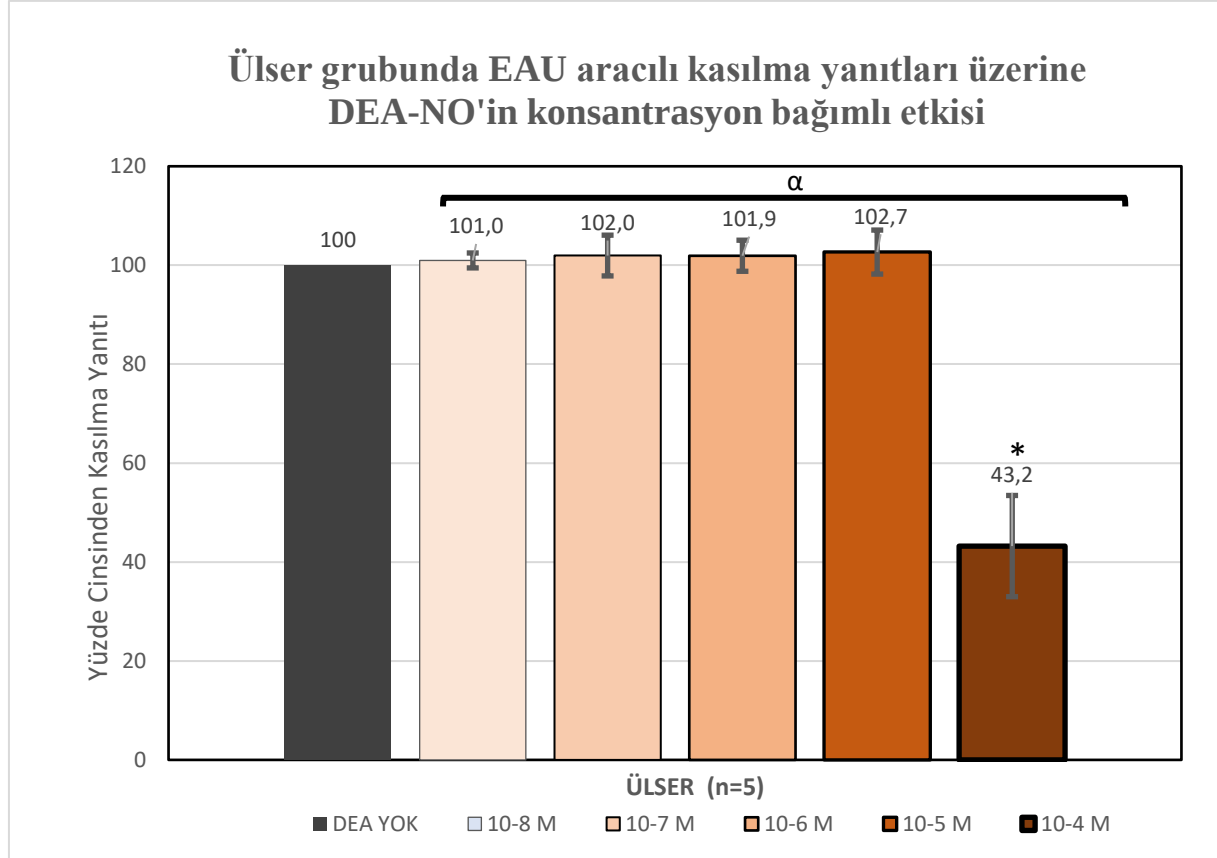
Şekil 4.5. Kontrol grubunda EAU ile kasılma yanıtları üzerine DEA-NO'nin konsantrasyon bağımlı etkisi:

^a $p < 0.01$, DEA-NO ile konsantrasyonlar arası anlamlı fark (Friedman testi).

* $p < 0.05$, 10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M konsantrasyonlarından farklı (Wilcoxon testi)

** $p < 0.05$, 10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-4} M konsantrasyonlarından farklı (Wilcoxon testi).

*** $p < 0.05$, 10^{-7} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M konsantrasyonundan farklı (Wilcoxon testi).

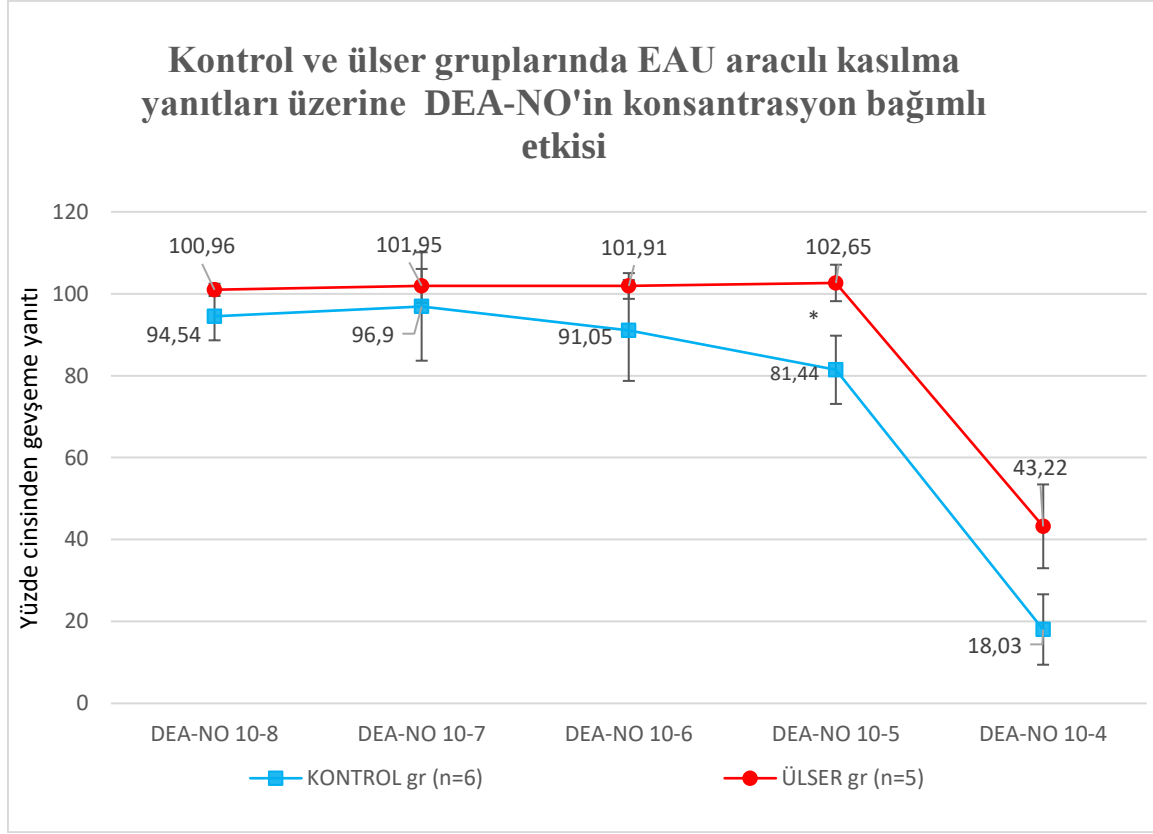


Şekil 4.6. Ülser grubunda EAU ile oluşan kasılma yanıtları üzerine DEA-NO'nin konsantrasyon bağımlı etkisi:

^α p<0.01, DEA-NO ile konsantrasyonlar arası anlamlı fark (Friedman testi).

*p<0.05, 10⁻⁸M, 10⁻⁷M, 10⁻⁶M, 10⁻⁵M konsantrasyonlarından farklı (Wilcoxon testi).

Kontrol ve ülser gruplarında EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine DEA-NO'nin konsantrasyon bağımlı etkisi karşılaştırılmıştır ve gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır (p> 0.05, Şekil 4.7.). Ancak, 10⁻⁵ M konsantrasyonda kontrol ve ülser grupları arasında istatistiksel anlamlı fark vardır (Şekil 4.7.).

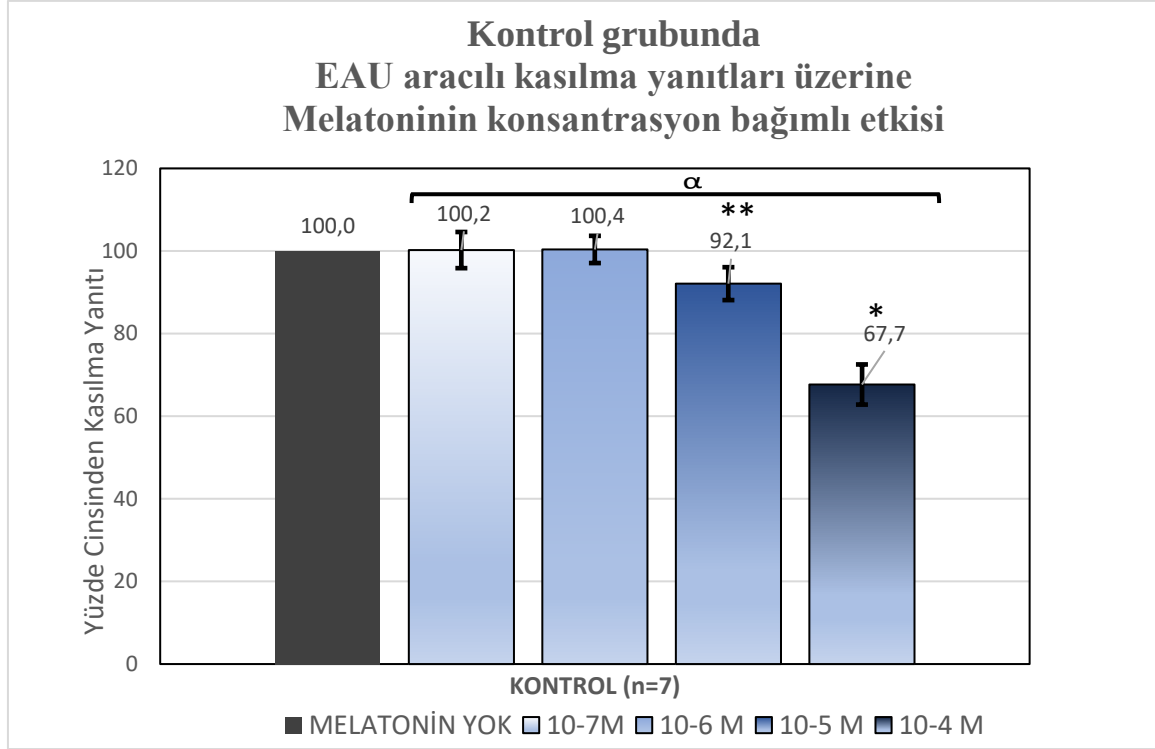


Şekil 4.7. Kontrol ve ülser gruplarında EAU ile oluşan kasılma yanıtları üzerine DEA-NO'nin konsantrasyon bağımlı etkisinin karşılaştırılması.

* $p < 0.05$, DEA-NO 10^{-5} M konsantrasyonda ülser grubundan farklı (Mann-Whitney U testi).

4.5. EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine Melatonin (10^{-7} - 10^{-4} M) Etkisi

Kontrol ve ülser gruplarında EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine kümülatif dozlarda melatonin'in (10^{-7} - 10^{-4} M) etkisi araştırılmıştır. Kontrol grubunda, kümülatif melatonin konsantrasyonlarında (10^{-7} - 10^{-4} M) EAU ile oluşan kasılma yanıtları anlamlı olarak azalmıştır (Şekil 4.8.).



Şekil 4.8. Kontrol grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine melatoninin konsantrasyon bağımlı etkisi.

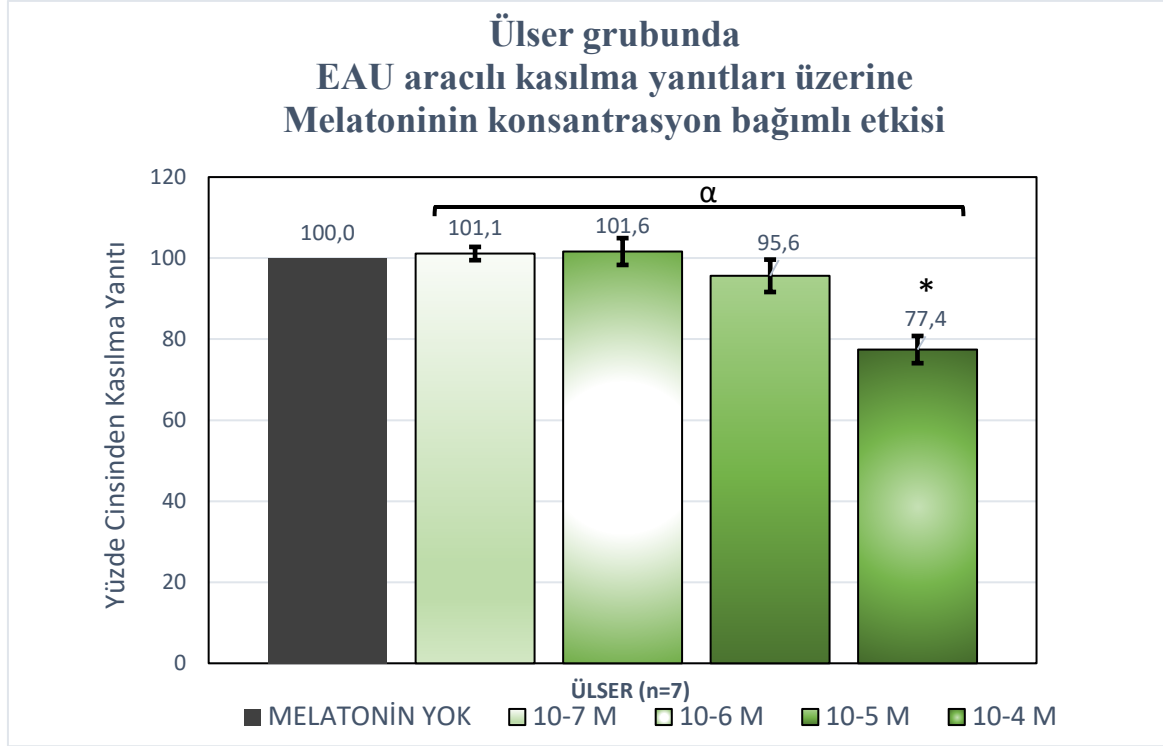
^α p<0.01, Melatonin ile konsantrasyonlar arası anlamlı fark (Friedman testi).

*p<0.05, 10⁻⁷ M, 10⁻⁶ M, 10⁻⁵ M konsantrasyonlarından farklı (Wilcoxon testi).

**p<0.05, 10⁻⁶ M, 10⁻⁴ M konsantrasyonlarından farklı (Wilcoxon testi).

Kontrol grubu ile benzer şekilde, ülser grubunda da melatonin (10⁻⁷-10⁻⁴ M) doz bağımlı olarak EAU ile oluşan kasılma yanıtlarını azaltmıştır ancak bu azalma en yüksek konsantrasyon olan 10⁻⁴ M’da istatistiksel anlamlı olarak izlenmektedir (Şekil 4.9.).

Organ banyosunda 20 dakika süreyle apamin (10⁻⁶ M) veya iberiotoksin (10⁻⁸ M) ile inkübe edilmiş dokularda, kümülatif dozlarda melatonin (10⁻⁷-10⁻⁴ M) uygulanması sonrası elde edilen EAU aracılı yanıtlarda bir değişiklik olmamıştır (Mann Whitney U, p=0,450).

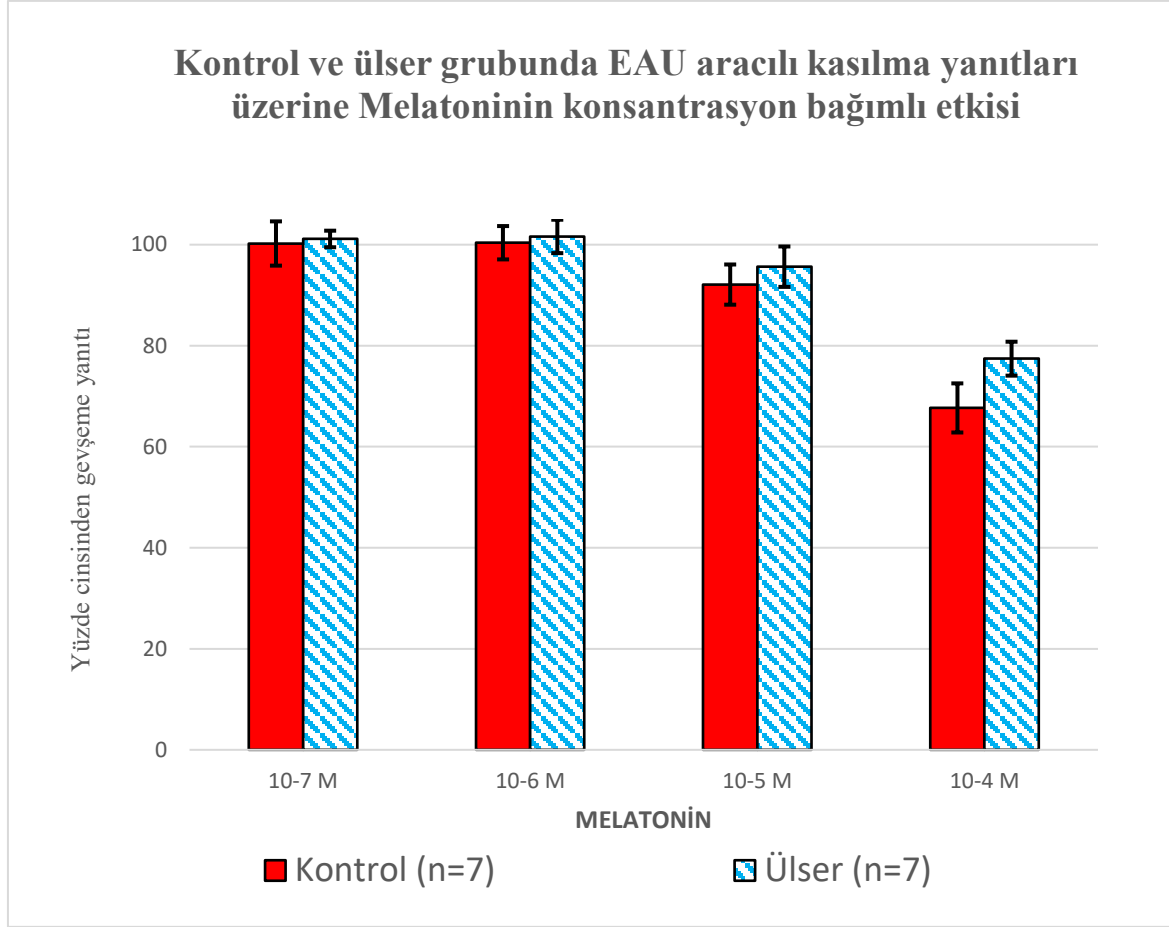


Şekil 4.9. Ülser grubunda EAU ile oluşan kasılma yanıtları üzerine melatoninin konsantrasyon bağımlı etkisi

^α p<0.01, Melatonin ile konsantrasyonlar arası anlamlı fark (Friedman testi).

*p<0.05, 10⁻⁷ M, 10⁻⁶ M, 10⁻⁵ M konsantrasyonlarından farklı (Wilcoxon testi).

Kontrol ve ülser grubunda EAU ile kasılma yanıtları üzerine melatoninin konsantrasyon bağımlı etkisi karşılaştırılmıştır (Şekil 4.10.). İkili bağımsız gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

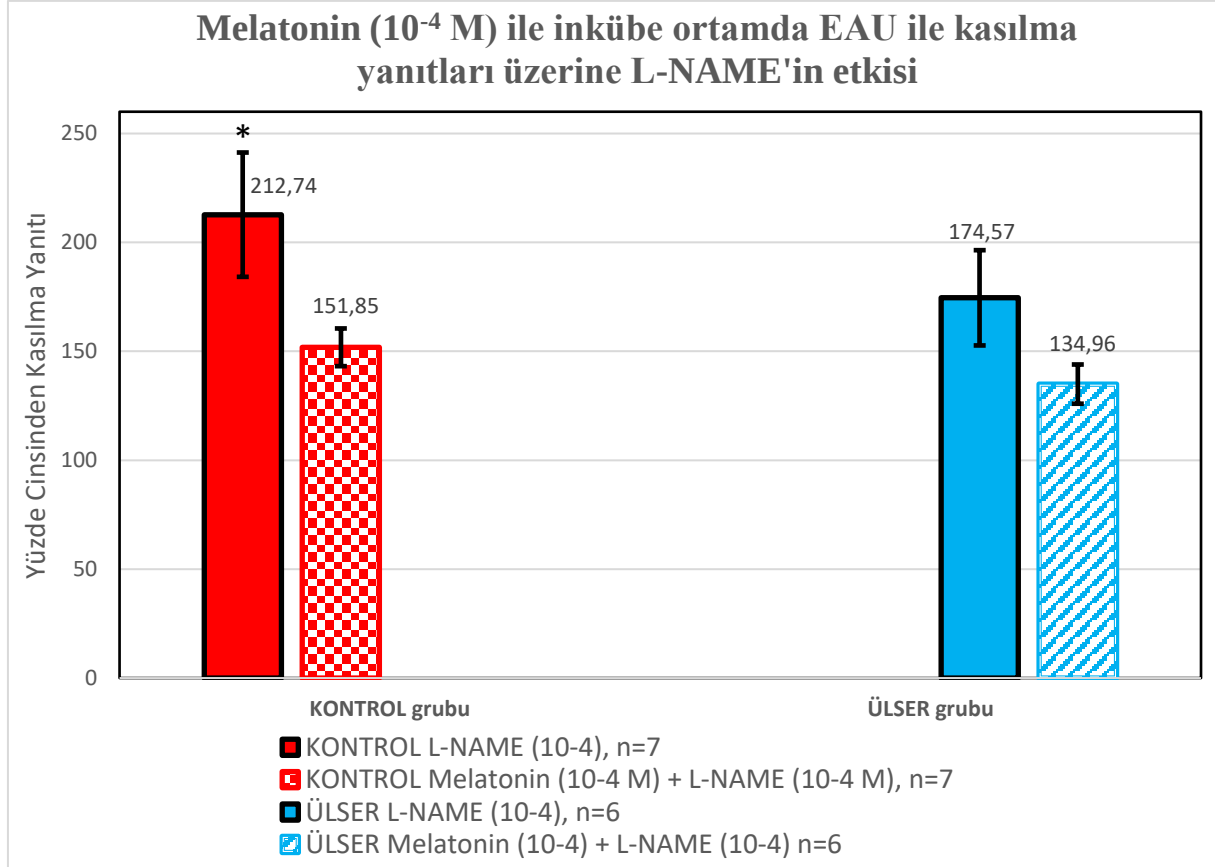


Şekil 4.10. Kontrol ve ülser grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine melatoninin konsantrasyon bağımlı etkisinin karşılaştırılması.

$p > 0.05$, İkili bağımsız gruplar arasında fark yok (Mann-Whitney U).

4.6. Melatonin (10^{-4} M) İle İnkübe Ortamda EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine L-NAME (10^{-4} M) Etkisi

Kontrol ve ülser gruplarında, organ banyosunda ortama melatonin (10^{-4} M) ilave edilerek, 10 dk inkübasyon sonrası EAU aracılı yanıtlar üzerine L-NAME (10^{-4} M) etkisi araştırılmıştır. Her iki grupta da melatonin ile inkübasyon, L-NAME'in artırdığı EAU yanıtlarında bir azalmaya yol açmış olsa da, sadece kontrol grubundaki fark anlamlı olarak izlenmektedir (Şekil 4.11.).

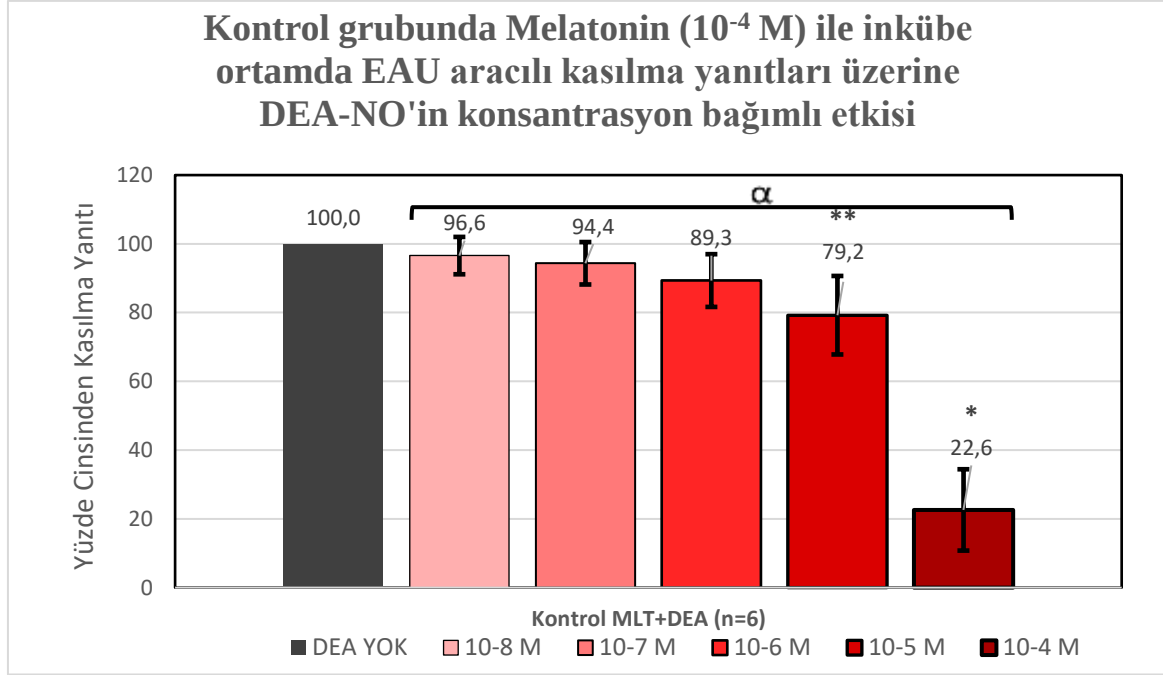


Şekil 4.11. Melatonin (10^{-4} M) ile inkübe edilmiş ortamda EAU aracılı yanıtlar üzerine L-NAME (10^{-4} M) etkisi.

* $p < 0.05$, Kontrol melatonin (10^{-4} M) + L-NAME (10^{-4} M) grubundan farklı (Mann-Whitney U testi).

4.7. Melatonin (10^{-4} M) İle İnkübe Ortamda EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine DEA-NO'nin Konsantrasyon Bağımlı Etkisi

Kontrol ve ülser gruplarında, organ banyosunda ortama melatonin (10^{-4} M) ilave edilerek, 10 dk inkübasyon sonrası EAU aracılı yanıtlar üzerine DEA-NO'nin konsantrasyon bağımlı etkisi araştırılmıştır. Her iki grupta da DEA-NO (10^{-8} - 10^{-4} M) konsantrasyon bağımlı olarak EAU aracılı kasılma yanıtlarını anlamlı şekilde azaltmıştır (Şekil 4.12.-4.13.).

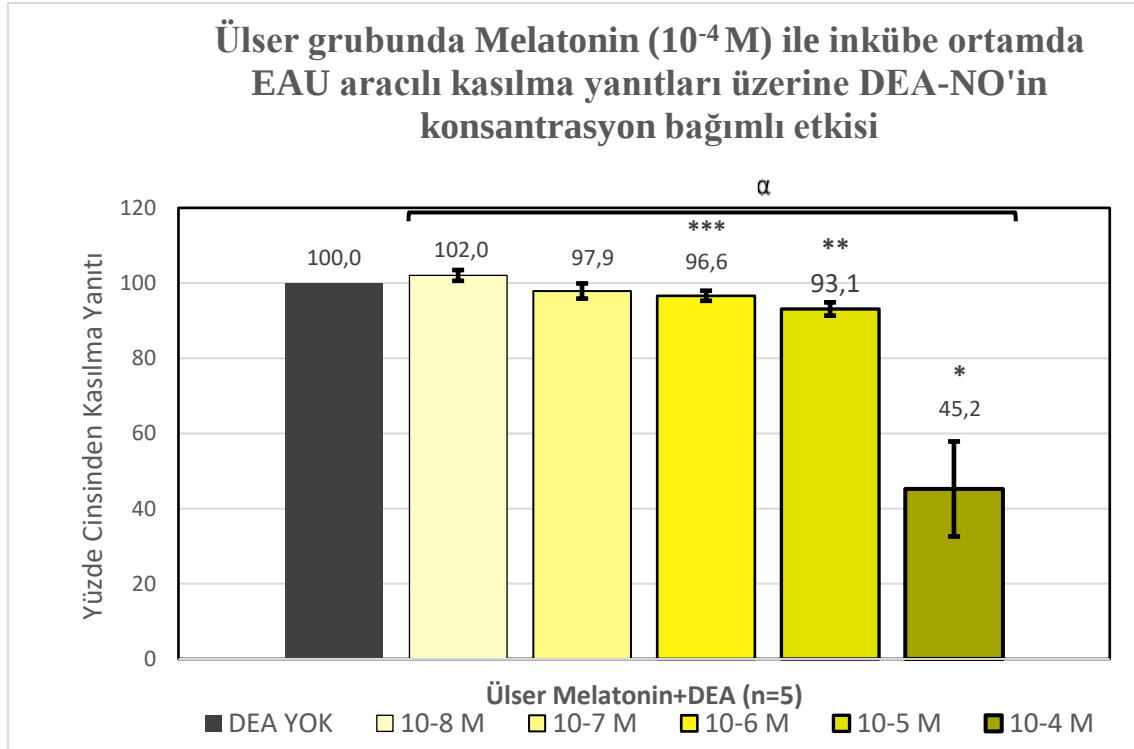


Şekil 4.12. Kontrol grubunda melatonin (10^{-4} M) ile inkübe ortamda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine DEA-NO'nin konsantrasyon bağımlı etkisi.

$^{\alpha}p < 0.01$, DEA-NO ile konsantrasyonlar arası anlamlı fark (Friedman testi).

* $p < 0.05$, 10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M konsantrasyonlarından farklı (Wilcoxon testi).

** $p < 0.05$, 10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-4} M konsantrasyonlarından farklı (Wilcoxon testi).



Şekil 4.13. Ülser grubunda melatonin (10^{-4} M) ile inkübe ortamda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine DEA-NO'nin konsantrasyon bağımlı etkisi

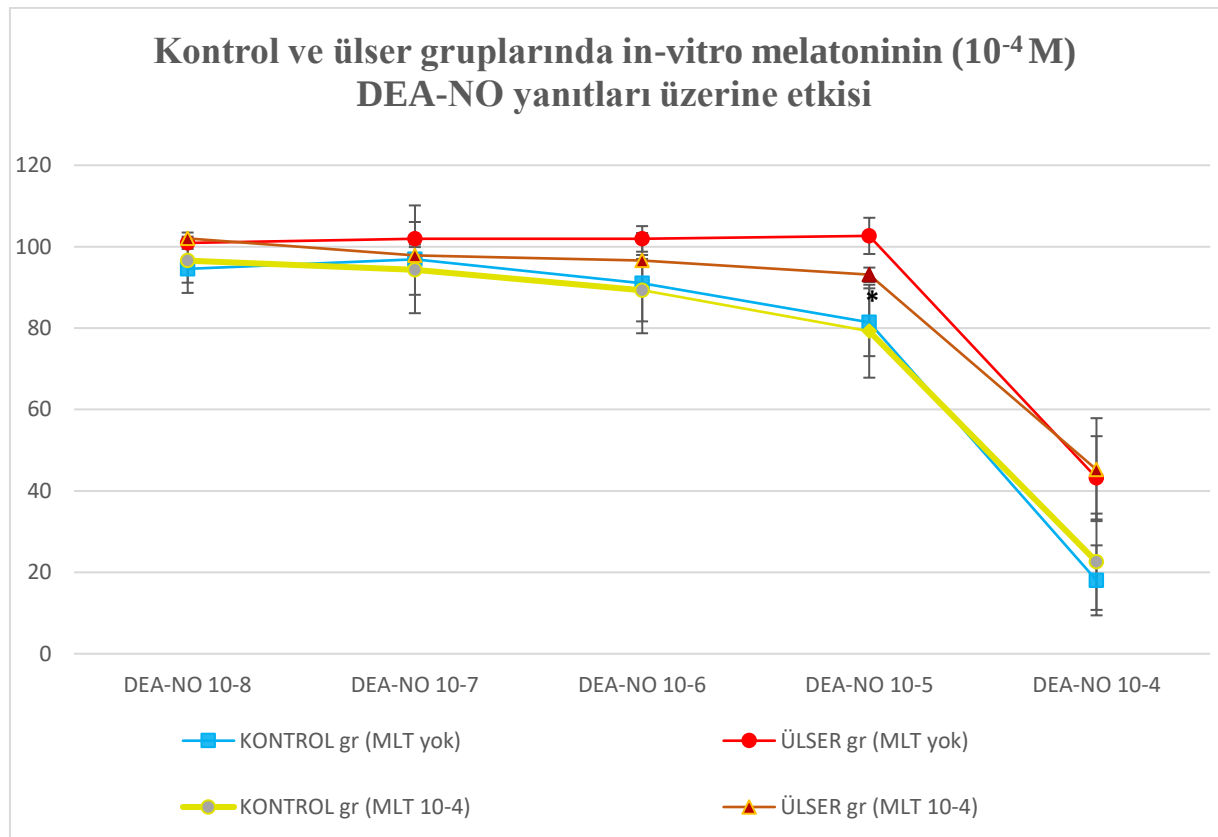
^a $p < 0.01$, DEA-NO ile konsantrasyonlar arası anlamlı fark (Friedman testi).

* $p < 0.05$, 10^{-8} M, 10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M konsantrasyonlarından farklı (Wilcoxon testi)

** $p < 0.05$, 10^{-8} M, 10^{-6} M, 10^{-4} M konsantrasyonlarından farklı (Wilcoxon testi).

*** $p < 0.05$, 10^{-8} M, 10^{-5} M, 10^{-4} M konsantrasyonundan farklı (Wilcoxon testi).

Kontrol ve ülser gruplarında in-vitro melatoninin (10^{-4} M) DEA-NO yanıtları üzerine etkisi, ikili bağımsız gruplar arasında karşılaştırılmıştır (Şekil 4.14.). DEA-NO 10^{-5} M konsantrasyon yanıtı, kontrol ve ülser grubu arasında anlamlı olarak farklı bulunmuştur.

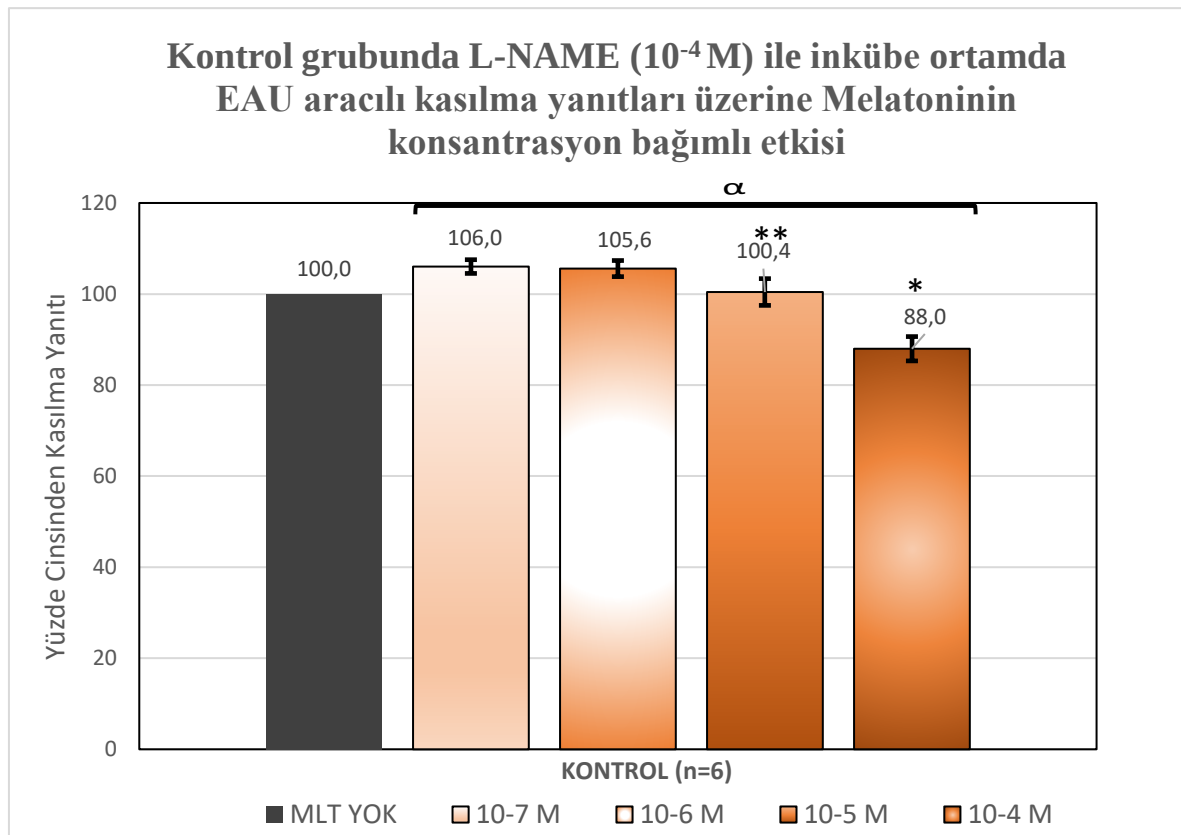


Şekil 4.14. Kontrol ve ülser gruplarında in-vitro melatoninin (10^{-4} M) DEA-NO yanıtları üzerine etkisi

* $p < 0.05$, DEA-NO 10^{-5} M konsantrasyonunda ülser grubundan farklı (Mann-Whitney U testi).

4.8. L-NAME (10⁻⁴ M) İle İnkübe Ortamda EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine Melatoninin (10⁻⁷-10⁻⁴ M) Konsantrasyon Bağımlı Etkisi

Kontrol ve ülser gruplarında, organ banyosunda ortama L-NAME (10⁻⁴ M) ilave edilerek, 10 dk inkübasyon sonrası EAU aracılı yanıtlar üzerine melatoninin (10⁻⁷-10⁻⁴ M) konsantrasyon bağımlı etkisi araştırılmıştır. Her iki grupta da melatonin (10⁻⁷-10⁻⁴ M) konsantrasyon bağımlı olarak EAU aracılı kasılma yanıtlarını anlamlı şekilde azaltmıştır (Şekil 4.15.-4.16.).

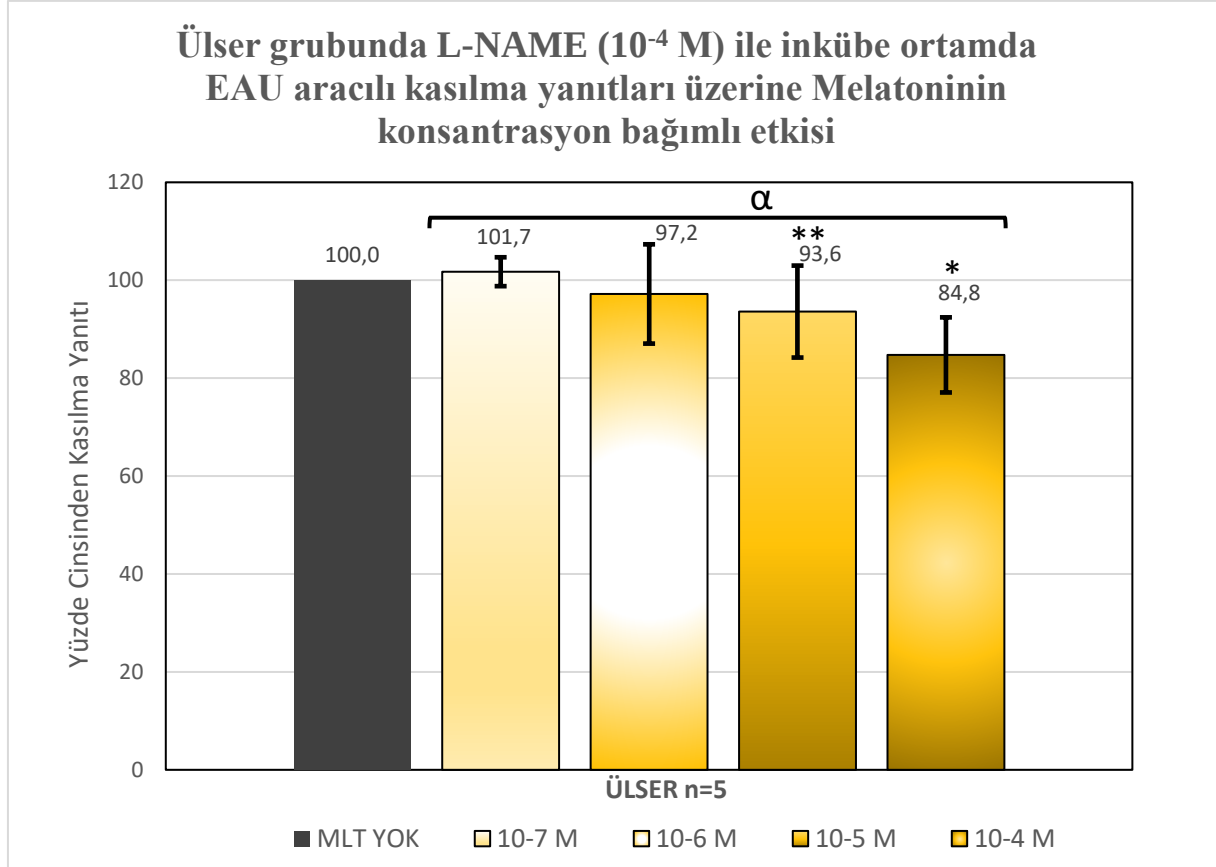


Şekil 4.15. Kontrol grubunda L-NAME (10⁻⁴ M) ile inkübe ortamda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine Melatoninin konsantrasyon bağımlı etkisi

^αp<0.01, L-NAME ile inkübe ortamda melatonin konsantrasyonları arasında anlamlı fark (Friedman testi).

*p<0.05, 10⁻⁷ M, 10⁻⁶ M, 10⁻⁵ M konsantrasyonlarından farklı (Wilcoxon testi).

**p<0.05, 10⁻⁷ M, 10⁻⁴ M konsantrasyonlarından farklı (Wilcoxon testi).



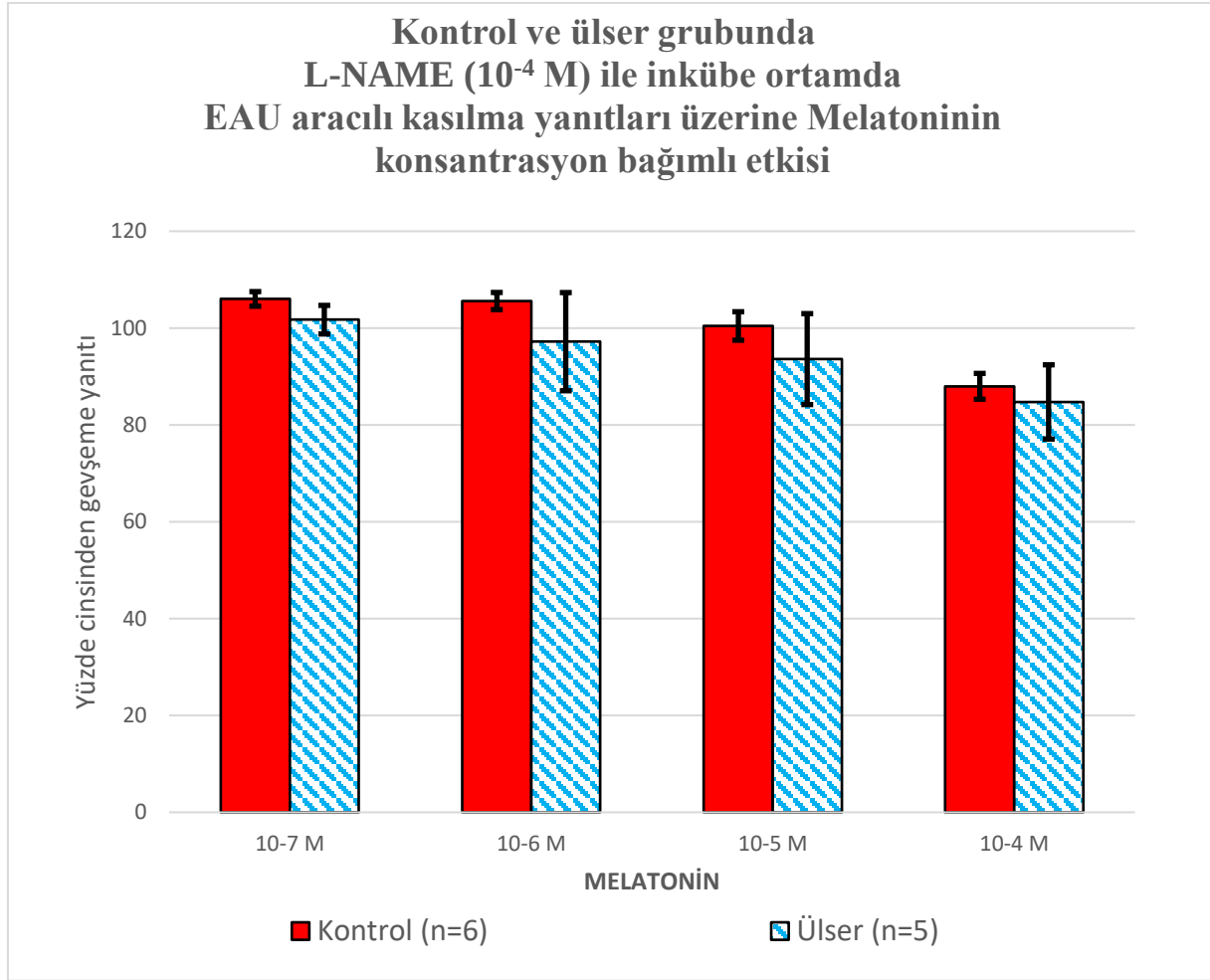
Şekil 4.16. Ülser grubunda L-NAME (10^{-4} M) ile inkübe ortamda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine melatoninin konsantrasyon bağımlı etkisi.

^a $p < 0.01$, L-NAME ile inkübe ortamda melatonin konsantrasyonları arasında anlamlı fark (Friedman testi).

* $p < 0.05$, 10^{-7} M, 10^{-6} M, 10^{-5} M konsantrasyonlarından farklı (Wilcoxon testi).

** $p < 0.05$, 10^{-6} M, 10^{-4} M konsantrasyonlarından farklı (Wilcoxon testi).

Kontrol ve ülser gruplarında L-NAME (10^{-4} M) ile inkübe ortamda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine melatoninin konsantrasyon bağımlı etkisi karşılaştırılmıştır (Şekil 4.17.). İkili bağımsız gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

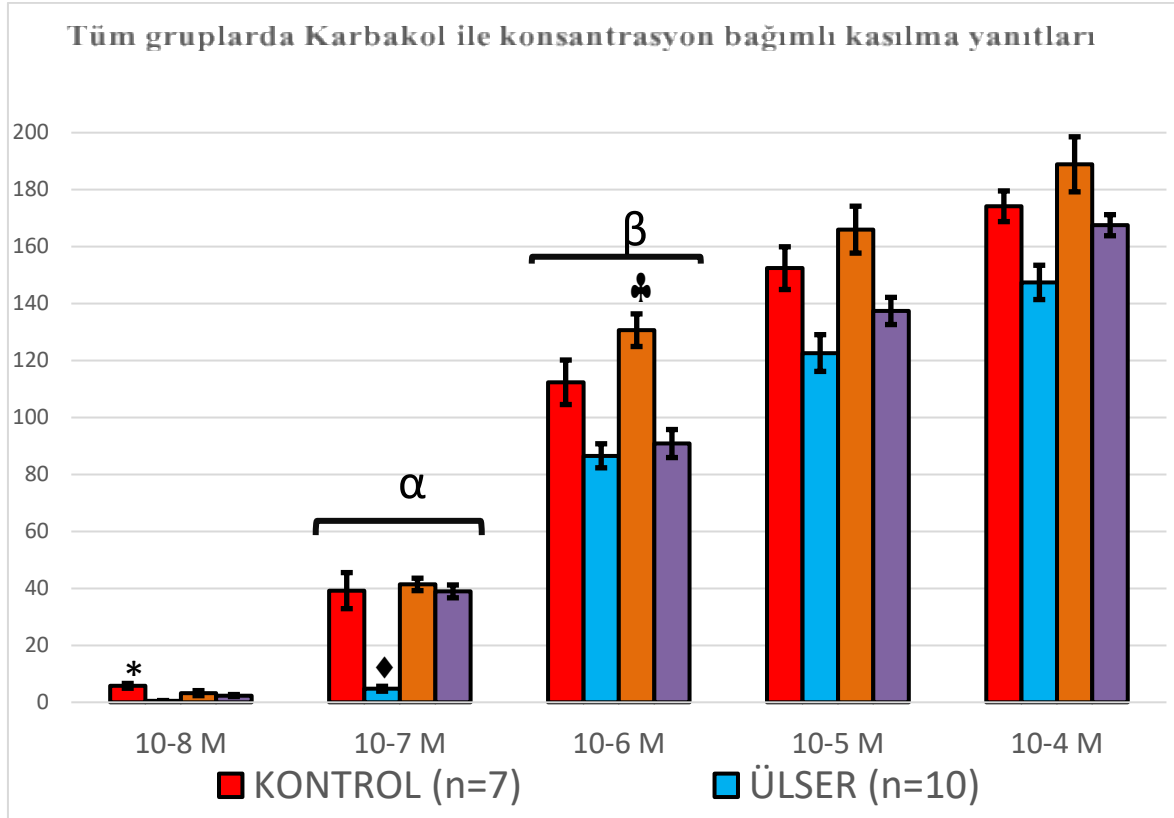


Şekil 4.17. Kontrol ve ülser grubunda L-NAME (10^{-4} M) ile inkübe ortamda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine melatoninin konsantrasyon bağımlı etkisi.

$p > 0.05$, İkili bağımsız gruplar arasında fark yok (Mann-Whitney U).

4.9. Muskarinik Reseptör Agonisti Karbakol ile Ekzojen Kasılma Yanıtlarının Değerlendirilmesi

Tüm gruplarda kümülatif konsantrasyonda karbakol ile (Cch 10^{-8} - 10^{-4} M) ekzojen kasılma yanıtları incelenmiştir. Elde edilen kasılma cevapları dokuların KCl ile kasılmasının yüzdesi olarak hesaplanmıştır. Tüm gruplarda karbakol konsantrasyon bağımlı olarak sıçan fundus şeritlerinde kasılmaya yol açmıştır (Şekil 4.18.). Karbakol bağımlı kasılma yanıtları, 10^{-7} ve 10^{-6} M konsantrasyonlarda istatistiksel anlamlı olmak üzere, tüm dozlarda ülser gruplarında azalmış görünmektedir. Ülserli dokularda kasılma yanıtındaki bu azalma, melatonin+ülser gruplarında normale dönme eğiliminde olup, sadece karbakolün 10^{-7} M konsantrasyonunda istatistiksel anlamlı olarak izlenmektedir.



Şekil 4.18. Tüm gruplarda Karbakolün konsantrasyon bağımlı kasılma yanıtları

* $p < 0.05$ Ülser grubundan farklı (Kruskal-Wallis testi)

♦ $p < 0.01$, Kontrol, in-vivo melatonin ve melatonin+ülser gruplarından farklı (Mann-Whitney U).

* $p < 0.05$, Ülser ve melatonin+ülser gruplarından farklı (Mann-Whitney U).

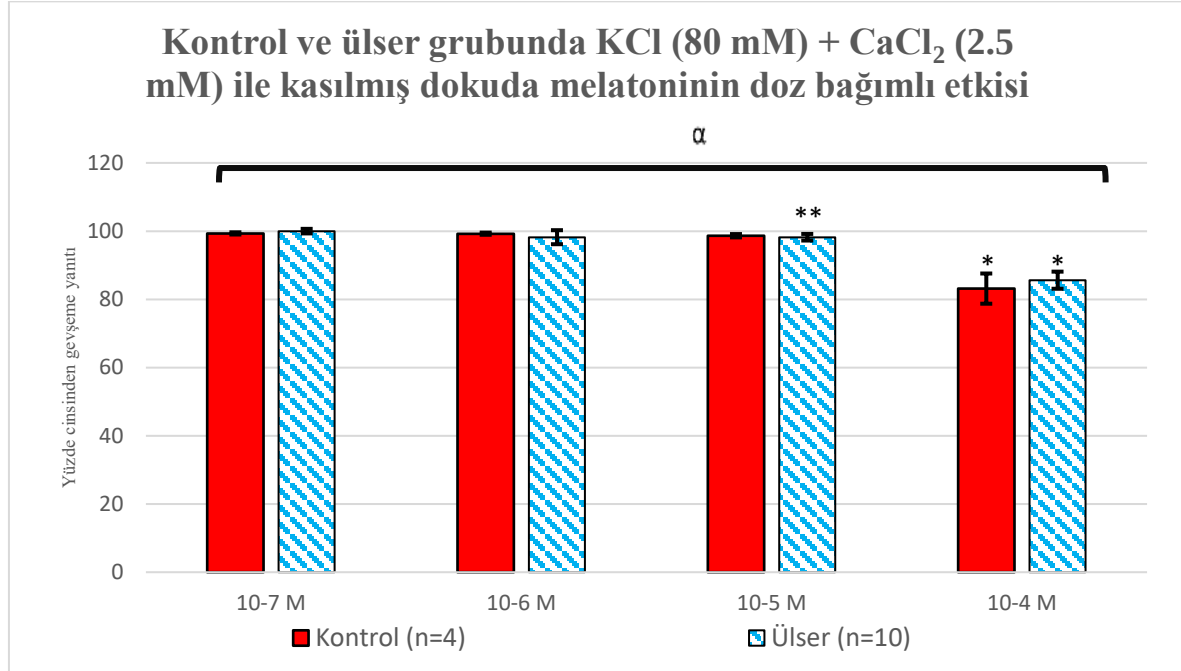
^a $p < 0.01$, Kontrol, ülser, in-vivo melatonin ve melatonin+ülser grupları arasında anlamlı fark (Kruskal-Wallis testi)

^β $p < 0.05$, Kontrol, ülser, in-vivo melatonin ve melatonin+ülser grupları arasında anlamlı fark (Kruskal-Wallis testi).

4.10. KCl (80 mM) + CaCl₂ (2.5 mM) ile Kasılmış Dokuda Melatoninin Doz Bağımlı Etkisi

Kontrol ve ülser gruplarında organ banyosu ortamına KCl (80 mM) eklenmiş, kasılma yanıtı alındıktan sonra CaCl₂ (2.5 mM) ilave edilmiştir. Yanıtlar stabilize olduktan sonra, ortama kümülatif dozlarda melatonin (10^{-7} - 10^{-4} M) eklenmiş ve her iki grupta da kasılma yanıtlarında anlamlı şekilde azalma gözlenmiştir (Şekil 4.19.). Elde edilen gevşeme cevapları kasılmanın yüzdesi olarak hesaplanmıştır.

İkili bağımsız gruplar Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. Kontrol ve ülser gruplarında, aynı konsantrasyonlar için anlamlı bir fark gözlenmemiştir.



Şekil 4.19. Kontrol ve ülser grubunda KCl (80 mM) + CaCl₂ (2.5 mM) ile kasılmış dokuda melatoninin doz bağımlı etkisinin karşılaştırılması

^a p<0.05, konsantrasyonlar arasındaki fark (Friedman testi).

*p<0.05, 10⁻⁵ M, 10⁻⁶ M, 10⁻⁷ M konsantrasyonlarından farklı (Wilcoxon testi).

**p<0.05, 10⁻⁷ M ve 10⁻⁴ M konsantrasyonlarından farklı (Wilcoxon testi).

p>0.05, İkili bağımsız gruplar arasında fark yok (Mann-Whitney U testi).

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasının amacı, peptik ülser modelinde, elektriksel alan uyarısı aracılı nörojenik kasılma yanıtlarında melatonin ve nitrik oksidin rolünün detaylı olarak araştırılmasıdır. Organ banyosunda izole sıçan mide fundusu düz kas şeritlerinden elde edilen EAU aracılı kasılma yanıtları, noradrenalin salıverilmesini inhibe eden guanetidin (10^{-6} M) ve siklooksijenaz enzim inhibitörü indometazin (10^{-6} M) ortamında alınmış olup, adrenerjik transmitterlerden ve prostaglandinlerin etkilerinden arındırılmıştır.

Muskarinik reseptör antagonisti atropin, konsantrasyon bağımlı olarak EAU aracılı kasılma yanıtlarını tamamen inhibe ederken, neostigmin (antikolinesteraz) konsantrasyon bağımlı olarak bu yanıtları arttırmıştır. Bu sonuçlar mide fundusunda elde edilen EAU aracılı kasılma yanıtlarının sinirsel uyarıya bağlı ve kolinerjik sinirler kaynaklı olduğunu göstermektedir. Adrenerjik sistem ve prostaglandin sentezi inhibe edilmiş izole mide fundus düz kaslarında EAU ile elde edilen yanıtların asetilkolin salıverilmesine bağlı olduğu daha önceden bilinmektedir (42, 43, 130). Aynı zamanda mide fundusundaki EAU aracılı kasılma yanıtlarının tetradotoksin (TTX, Na^+ kanal blokörü) ile ortadan kaldırıldığı gösterilmiştir (131).

Kolinerjik sistem, gastrointestinal sistem motilitesinin düzenlenmesinde önemli role sahiptir. Mide fundusunun kolinerjik innervasyonunun olduğu ve muskarinik reseptörler aracılığı ile kasılmaya neden olduğu bilinmektedir. Gastrointestinal kanalda asetilkolin, gastrointestinal sistem motilitesinin primer düzenleyicisi olarak ve kasılmaya neden olan nörotransmitter olarak kabul edilmektedir. Enterik sistem sinirlerinden asetilkolin salıverilmesi spesifik nöronal reseptörler içeren presinaptik kontrol altındadır (38, 41).

Araştırmamızda peptik ülser hastalığının kolinerjik yanıtlarda oluşturduğu değişiklikler araştırılmak istenmiş olup, gastrik ülser modeli olarak etonal ülseri seçilmiştir. Gastrik ülser modeli oluşturmakta kullanılan ajanlardan biri olan etanol akut mide ülseri geliştirmekte en çok kullanılan modellerden biridir. Etanol, mide mukozasına kolayca nüfuz ederek, mide mukozasındaki koruyucu (mukus, bikarbonat) ajanların bozulmasına yol açar ve mide, asidik ve proteolitik enzimatik ortama maruz kalır (132). Ayrıca, oksidatif stresin artması, inflamatuvar faktörler ve vasküler geçirgenlik ile mukozal kan dolaşımının yavaşlaması da bu sürece katkıda bulunur (133). Daha önce yapılan çalışmalarda

intragastrik etanol uygulanmasından 1saat sonra ülser geliştiği bilinmektedir (132).

Araştırmamızın sonuçlarından birincisi, etanol ülseri öncesinde uygulanan melatoninin, ülser skorunu anlamlı olarak azaltmış olmasıdır. Farklı gastrointestinal hastalık modellerinde (gastrik ülser, reflü özefajit, ülseratif kolit, inflamatuvar barsak hastalığı gibi) melatonin ile ön tedavinin oluşan patolojiyi azalttığına dair çok sayıda deneysel ve klinik çalışma vardır. Stres, nonstereoid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ), piroksikam, alkol ile oluşturulan gastrik mukozal hasarlarda melatoninin doza bağımlı olarak ülser indeksini azalttığı bildirilmiş olup, başlıca mekanizmanın mukozal hasara yol açan hidroksil radikali ($\text{OH}\cdot$) gibi reaktif oksijen radikalleri (ROS) olduğu ve melatoninin koruyucu etkisinin ROS'ların süpürülmesiyle açıklandığı görülmektedir (2). Ayrıca, ekzojen uygulanan melatonin ve öncüsü L-triptofanın iyileştirici ve gastrik mukoza zedelenmesini önleyici etkisinin temelinde prostaglandin ve NO sentez indüksiyonu olduğu hipotezi ortaya konulmuştur (120). Melatoninin iyileşmekte olan ülser dokusunun kenarlarında iNOS ifadenmesi ve mRNA miktarını artırdığı da gösterilmiştir (122). Sıçan reflü özofajit modelinde özofagus mukozasında yararlı ve koruyucu etki gösteren melatoninin etki mekanizması anti-inflamatuvar ve antioksidan etkisine bağlanmıştır. Melatonin, proinflamatuvar sitokinler olan IL-1beta ve TNF-alfa'nın sekresyonunu azaltmıştır (4). Koruyucu etkilerine kapsaisin duyarlı duyuşal sinirlerden salıverilen nitrik oksid (NO) ve kalsitonin gen ilişkili peptidin (CGRP) aracılık ettiği bildirilmiştir. Gastroözofageal reflü hastalığının tedavisi için ümit verici terapötik bir ajan olabileceğini gösteren klinik çalışmalar da vardır. Reflü hastalığı olan 36 hastada yapılan bir çalışmada melatonin tek başına veya omeprazol ile birlikte kullanıldığında anlamlı derecede iyileşme sağlamıştır (5). Inflamatuvar barsak sendromu olan hastalarda plaseboya karşı melatonin takviyesinin 2-8 hafta kullanımının, semptomlarda istatistiksel olarak anlamlı azalma gösterdiği bildirilmiştir (6). Ülseratif kolitte çeşitli hayvan deneylerinde, melatonin uygulamasının IL-10 üretimini artırdığı ve IFN, TNF, IL-6 ve NO inhibe ettiği gösterilmiştir (7). İntragastrik alkol ile 6 hafta boyu yağlı diyet uygulanarak, alkollü yağlı karaciğer oluşturulan sıçanlarda melatonin (10, 20, 40 mg/kg ig) verilerek yapılan bir çalışmada da koruyucu etki gösterdiği ifade edilmiştir. Bu çalışmada etkinin, lipid peroksidasyonu azaltarak ve MT1 reseptörleri aracılığı ile AMPK aktivitesinin upregülasyonu ile ilgili olabileceği düşünülmüştür (8).

Araştırmamızın ikinci bulgusu EAU aracılı kasılma yanıtlarının kontrol ve deney gruplarındaki değişimidir. EAU aracılı kasılma yanıtları, kontrol grubuna göre ülser grubunda anlamlı olarak azalmıştır. Melatonin+ülser grubunda bir düzelme olmamıştır. Gastrik ülser midenin antrum tabakasında belirgin olarak gelişmekte iken, deneyler mide fundus dokusunda gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, ülserli dokuya yakın komşuluk gösteren fundus dokusunun ülserden etkilendiğini, EAU'nın oluşturduğu nörojenik kasılma yanıtlarını bozduğunu ve melatoninin bu yanıtlara olumlu bir etkisi olmadığını göstermektedir. Diğer yandan, EAU aracılı kasılma yanıtları, ülser grubunda anlamlı olarak azalmış iken, KCl ile kasılma yanıtlarında fark bulunmamaktadır. Ekzojen yanıtların değişmemesi, musküler tabakada bir zedelenme olmadığını ancak endojen ACh salıverilmesinde veya postsinaptik reseptör düzeyinde bir fark olduğunu düşündürmektedir.

Araştırmamızın bir diğer bulgusu, NOS inhibitörü olan L-NAME'in, tüm gruplarda, ülser veya melatonin uygulanması fark etmeksizin, EAU ile oluşan kasılma yanıtlarını artırmış olmasıdır. İzole sıçan mide fundusunda EAU aracılı kasılma yanıtlarının L-NAME ile artması fundusta endojen NO'nın sentez edildiğini göstermektedir. Yapılan araştırmalarda NO'nın, post-gangliyonik parasempatik nöronların ucundan salıverilen ve gastrointestinal sistem boyunca (özofagus, alt özofageal sfinkteri mide, pilorik sfinkter, duodenum, ileum, incebağırsak, rektum, safra kesesi, Oddi sfinkteri, anal sfinkteri) tonus ve motiliteyi regüle eden önemli inhibitör bir nörotansmitter olduğu bildirilmiştir (42). Deneysel hayvan çalışmalarında NO'nın, mide içi basınca karşı mideyi dilate ederek yeni duruma uyum sağladığı düşünülmektedir (43). Ayrıca, sindirim sisteminin, özellikle de özofagus, pilor, anal sfinkterlerinde gevşemeye yol açarak bu organların fizyolojik fonksiyonlarının regüle edilmesine katkıda bulunmaktadır (52). Endojen NO'nın mide kan akışını arttırarak, asid salgılanması azaltarak, duodenal mukus ve bikarbonat sekresyonunun arttırarak açlık sırasında aside karşı mukozal koruma sağladığı daha önceden bilinmektedir. Bu etkilere genellikle guanilil siklaz aktivasyonu aracılık eder. Hedef hücrelerde çözünür guanilil siklaza (sGC) bağlanır, onun aktivasyonunu sağlar. sGC aktivasyonu ile cGMP açığa çıkar ve bu da Protein kinaz G'yi aktive eder. Ca^{2+} 'un hücre içi depolardan salıverilmesi ile voltaj bağımlı Ca^{2+} kanalları inhibe edilir, fosfolipaz C, IP_3 oluşumu inhibisyonu, Ca^{2+} bağımlı K kanallarının aktivasyonu sonucunda düz kas gevşemesi meydana gelir. Midenin besin alımı sırasında adaptif gevşeme fenomeninde en önemli rolü oynayan nörotransmitter nitrik oksid olarak tanımlanmaktadır (43, 130, 131). Ayrıca, NO periferik otonom sinirlerden salıverilen gastrointestinal sistemin nöral regülasyonundan sorumlu olan

nonadrenerjik nonkolinerjik (NANK) bir nörotransmitter olarak da tanımlanmıştır (56). Deneylerimizde L-NAME'in yarattığı etkinin deney grupları arasında fark göstermemiş olması, ülser veya melatonin+ülser uygulamalarının L-NAME aracılı yanıtları değiştirmediğini, L-NAME'in belirgin ve baskın bir etkisi olduğunu göstermektedir.

Endojen salıverilen NO dışında araştırmamızda ekzojen kaynaklı NO'nin etkileri de araştırılmıştır. Kontrol grubunda DEA-NO, konsantrasyon bağımlı olarak EAU aracılı kasılma yanıtlarını azaltmış iken, ülser grubunda ise sadece DEA-NO'nin uygulandığı en yüksek konsantrasyonda anlamlı bir azalma olmuştur. Ülser grubunda hasarlı dokuda NO donörünün gevşetici etkisinin azalması postsinaptik mekanizmaları içeren bir bozulmanın olabileceğini düşündürmektedir.

Bu tez çalışmasında melatoninin etkisi iki farklı şekilde araştırılmıştır: İn-vivo ve in-vitro. İlkinde, etanol ülseri oluşturmadan önce 15 mg/kg olacak şekilde in-vivo olarak uygulanmış ve mide fundusunun EAU'na verdiği yanıtlar araştırılmıştır. İkincisinde (in-vitro çalışmalarda), kontrol ve ülser gruplarından elde edilen dokularda EAU aracılı yanıtlar üzerine, organ banyosuna in-vitro olarak eklenen melatoninin, ya konsantrasyon bağımlı

(10^{-7} - 10^{-4} M) etkisi, ya da tek doz (10^{-4} M) etkisi araştırılmıştır. İn-vitro melatonin uygulanması EAU aracılı kasılma yanıtlarını kontrol grubunda konsantrasyon bağımlı olarak azaltırken, ülser grubunda bu azalma sadece yüksek konsantrasyonda meydana gelmiştir. Ancak iki grup arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Melatoninin sıçan mide fundus düz kası üzerinde, bizim kullandığımız konsantrasyonda ve bizim bulgularımıza paralel olacak şekilde, mide düz kasının bazal tonusu üzerinde hiçbir etkiye sahip olmadığı ancak karbakol veya serotonin ile ön kasılmadan sonra, melatoninin konsantrasyona bağlı inhibitör etkiye neden olduğu gösterilmiştir (18). Melatoninin bu etkisi apamin ile kısmen bloke olmuştur. Bizim çalışmamızda apamin ve iberiotoxin melatonin yanıtlarını değiştirmemektedir. Araştırmamızda, melatoninin etkisi EAU yanıtlar üzerinden değerlendirilmiş olup kalsiyum ile aktive edilmiş potasyum kanallarının rolü burada izlenmemektedir.

Melatoninin mesane aktivitesi üzerindeki etkilerini aydınlatmak amacıyla yapılan bir diğer çalışmada benzer şekilde fenilefrin, ACh, betanekol, KCl ve EAU tarafından indüklenen kasılmaları azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmadaki sonuçlar melatoninin voltaja bağlı, kalsiyum-antagonistik bir mekanizma yoluyla ve kalmodulin/CaMKII sisteminin inhibisyonu yoluyla mesane düz kas kasılmasını engelleyebileceğini göstermektedir (133).

Melatonin, gastrointestinal sistemde endokrin, parakrin ve otokrin etkiler ile gastrointestinal motilitenin düzenlenmesinde rol oynar (84). Melatonin GİS’de yoğun ve çok miktarda bulunmaktadır. Asıl olarak serotoninenden zengin enterokromaffin hücreleri tarafından sentezlenen melatonin üretiminin, triptofan içerikli yiyecekler tarafından tetiklendiği bilinmektedir (1, 85). Portal dolaşımda bulunan melatonin miktarı sürekli olarak, ancak özellikle de yemeklerden sonra, periferel dolaşıma oranla daha yüksek konsantrasyondadır (86). Bu da bize melatoninin GİS ve hepatobiliyer sistem arasında bir iletişim unsuru olmasına dair ipucu sağlamaktadır. GİS’in tamamında melatonin bağlanma bölgeleri olduğu gösterilmiştir, ancak özofagustaki bağlanma afinitesi GİS’in diğer bölgelerine göre bir miktar daha düşüktür. GİS kaynaklı melatonin konsantrasyonunun, pineal bezden bağımsız seyrettiği hayvanlarda gösterilmiştir (86). Aynı zamanda GİS kaynaklı melatonin, pineal bezde olduğu gibi fotoperiyodik olarak salıverilmez (85, 86). Melatoninin GİS motilitesi üzerine düzenleyici etkisi olduğu bilinmektedir. Düşük doz (1 ve 10 µg/kg) melatoninin motiliteyi artırdığı, yüksek doz (100 ve 1000 µg/kg) melatoninin ise bu etkiyi geriye çevirdiği gösterilmiştir (9). Aynı zamanda melatoninin GİS viseral duyu alımında düzenleyici etkiye sahip olduğuna dair bulgular vardır. Fonksiyonel abdominal ağrısı olan hastaların idrar 6-sulfatoksimeleatonin düzeyleri daha düşük bulunmuş, aynı zamanda bu hastalarda melatonin dalgalanım genliğinin daha düşük olduğu gösterilmiştir (87).

Epifiz bezinin ana hormonu olan melatoninin, serbest radikalleri temizlemesi nedeniyle güçlü iritanların neden olduğu akut gastrik lezyonları hafiflettiği birçok çalışmada gösterilmiş olsa da ülser iyileşmesindeki rolü ve mide motilitesinin endojen transmitterlerle düzenlenmesindeki rolü çok az araştırılmıştır.

2000’li yılların başında yapılan çalışmalar sonucunda stres ile indüklenen ve iskemi-reperfüzyon modeli ile oluşturulan gastrik lezyon oluşumunun melatonin ve L-triptofan uygulaması ile önüne geçildiği gösterilmiştir. Yine bu çalışmalarda melatonin ve L-

triptofanın bu olumlu etkisinin indometazin ile önlendiği de ortaya konmuştur (99, 118). Bu bulgular, melatonin ve L-triptofan uygulamasının gastrik lezyonu, siklooksijenaz yolunu indükleyip prostaglandin salgılanmasını artırarak önlediğini gösteren çalışmalarla uyumludur (119, 120). Brzowska ve arkadaşlarının bir çalışmada ekzojen uygulanan melatonin ve öncüsü L-triptofan tarafından ülser iyileşmesinin hızlandırılmasında prostaglandinler, nitrik oksit, duyu sinirleri ve gastrinin rolü araştırılmıştır (119). MT2 reseptörlerinin selektif bir antagonisti olan luzindol melatonin ve L-triptofanın iyileştirici etkilerini tamamen ortadan kaldırmıştır. Bu çalışmada COX inhibitörü indometazin ve L-NAME, melatoninin iyileştirici etkisini azaltmıştır. Aynı çalışmada melatoninin iNOS ifadenmesini artırdığı gösterilmiştir. Bu ve diğer çalışmalar ışığında, melatoninin iyileştirici ve gastrik mukoza zedelenmesini önleyici etkisinin temelinde prostaglandin ve NO sentez indüksiyonu olduğu hipotezi ortaya konulmuştur (119, 121). Melatonin reseptörlerinin bu etki üzerindeki önemli rolü, özgül bir melatonin antagonisti olan luzindolün, melatoninin yol açtığı gastrik mukozal kan akışını artırıcı ve iyileştirici etkiyi geriye çevirdiği gösterilerek de kanıtlanmıştır (121, 122). Bu sonuçlar, iyileşmekte olan ülser dokusunun kenarlarında iNOS ifadenmesi ve mRNA miktarının arttığını gösteren çalışmalarla uyum içerisindedir (121, 123, 124). Brzowska ve arkadaşlarının çalışmada kapsaisin ile duyu sinir denervasyonu yapılan sıçanlarda, melatonin ve L-triptofanın ülser iyileştirici etkisi önemli ölçüde bozulmuştur ve hem ülser iyileşmesi hem de ülser sınırındaki hiperemi, melatonin ve L-triptofana ekzojen kalsitonin geni ile ilgili peptit (CGRP) eklenmesiyle restore edilmiştir (119). Bu sonuçlardan yola çıkarak ilgili çalışmada, mide mukozasında trofik aktivite sergileyen gastrin ve duyu sinirlerinden salıverilen CGRP'nin de melatoninin ülser iyileştirme etkisine katkıda bulunabileceği belirtilmiştir (119). Melatoninin midedeki koruyucu etkisinde duyu sinir uçlarının da rolü olduğu görülmektedir (121, 125, 126). Siklooksijenaz enzimleri ve prostaglandin üretim mekanizmalarının indometazin ile baskılandığı hayvanlarda melatoninin iyileştirici ve koruyucu etkisini, antioksidan fonksiyonları sayesinde sağladığı da bildirilmiştir (121, 124, 125). Melatonin ve L-triptofan tedavisi uygulanan hastalarda gözlenen gastrin ve kolesistokinin konsantrasyon artışının da ülser iyileşmesine katkıda bulunduğuna dair kanıtlar mevcuttur (128). Sıçanların mezenterik arterlerinde melatoninin NO üretimini ve/veya NO biyoyararlanımını MT2 reseptörleri üzerinden artırdığı bildirilmiştir (133).

Bir çalışmada, melatoninin mesane aktivitesi üzerindeki doğrudan etkilerini aydınlatmak amacıyla sıçanlarından alınan 20 detrusor düz kas örneğinde melatoninin fenilefrin,

asetilkolin, betanekol, KCl ve EAU tarafından indüklenen kasılmalar üzerindeki etkileri araştırılmıştır (134). Bu çalışmada melatonin ilgili ajanlar üzerinde inhibitör etkiye yol açmıştır. Melatonin ön tedavisi, voltaja bağlı bir kalsiyum kanal açıcı olan BayK8644 tarafından indüklenen kasılma tepkilerini önemli ölçüde azalttığı için melatoninin voltaja bağlı, kalsiyum-antagonistik bir mekanizma ve kalmodulin/CaMKII sisteminin inhibisyonu yoluyla mesane düz kas kasılmasını engelleyebileceği düşünülmüştür. Melatoninin ayrıca VIP ile de etkileşimi olduğu, izole sıçan penil bulbusunda VIP salıverilmesini artırarak alfa-adrenerjik kaynaklı kasılmaları hafiflettiği gösterilmiştir (135). Melatoninin sıçan mide fundus düz kası üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada, bizim kullandığımız konsantrasyonda ve bizim bulgularımıza paralel olacak şekilde, mide düz kasının bazal tonusu üzerinde hiçbir etkiye sahip olmadığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada karbakol veya serotonin ile ön kasılmadan sonra, melatonin konsantrasyona bağlı bir inhibitör etkiye neden olmuştur (136). Melatoninin bu etkisi apamin (kalsiyuma bağımlı potasyum kanal blokeri) ile kısmen bloke olmuştur. Serotonin ile ön kasılmış dokuya EAU uygulandığı zaman melatonin inhibitör bir etki gösterirken, bazal tonüs altında EAU aracılı yanıtları değiştirmemiştir (136). Bu araştırmada bazal tonüs üzerine melatoninin etkisi bizim araştırmamız ile paralel olmakla birlikte, apamin ve iberiotoxin bizim çalışmamızda melatonin yanıtını değiştirmemiştir. Bu nedenle melatonin aracılı gevşeme yanıtlarında kalsiyum ile aktive edilmiş potasyum kanallarının bizim çalışma şartlarımızda rolü olmadığı düşünülmüştür.

Melatonin bizim çalışmamızda da ekzojen olarak ve konsantrasyon bağımlı uygulandığında hem kontrol hem de ülserli dokuda (daha az olsa da) EAU aracılı kasılma yanıtlarını azalttığı görülmüştür. Yukarıdaki araştırmalar eşliğinde değerlendirilirse bu etkide NOS aktivasyonunun bir katkısı olabileceği düşünülebilir. Bu tez çalışmasında NOS ifadelenmesinin araştırılmamış olması ve bir eksikliktir. Bulgularımıza göre, melatoninin EAU aracılı yanıtları azaltıcı etkisi, her ne kadar gruplar arasında anlamlı fark olmasa da, kontrol grubunda daha belirgin görünmektedir çünkü ülser grubunda sadece yüksek doz melatoninde etki anlamlıdır. Ülser grubundan elde edilen mide fundus preperatlarında, bazal şartlarda (ortamda bir ajan yokken) EAU yanıtları kontrole göre zaten daha azalmış olarak bulunmuştu. Bu sonuçlar, in-vitro uygulanan melatoninin ülser grubunda zaten azalmış olan EAU yanıtlarında büyük bir değişikliğe yol açmadığını düşündürmektedir.

Bu tez kapsamında, melatonin (10^{-4} M) ile inkübe ortamda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine L-NAME (10^{-4} M) etkisi araştırılmıştır. Kontrol ve ülser grubunda tek doz melatonin ile inkübasyon, L-NAME'in artırdığı EAU yanıtlarında bir azalmaya yol açmış olsa da, sadece kontrol grubundaki fark anlamlı olarak izlenmektedir. Bu noktada, ülser grubunda L-NAME ile artan yanıtların tek doz melatonin ile inkübasyon sonrası anlamlı düzeylerde değişmediği ve etkinin sadece NO'e atfedilemeyeceği söylenebilir. Ülserli alana komşu fundus preperatında kolinerjik yanıtlardaki değişim birden fazla mekanizma ile açıklanmaya muhtaç görünmektedir.

Çalışmamızda L-NAME (10^{-4} M) ile inkübe ortamda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine melatoninin (10^{-7} - 10^{-4} M) konsantrasyon bağımlı etkisi de araştırılmıştır. L-NAME varlığında EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine konsantrasyon bağımlı melatonin yanıtları değerlendirildiğinde ise hem kontrol hem de ülser gruplarında EAU kasılma yanıtlarının azaldığı, ancak iki grup arasında istatistiksel olarak fark olmadığı bulunmuştur. Yukarıdaki bulgular ile beraber değerlendirildiğinde melatonin gerek tek doz inkübasyon şeklinde uygulandığında gerekse konsantrasyon bağımlı etkisi araştırıldığında, L-NAME'in artırdığı EAU yanıtlarını azaltıcı yönde etki göstermektedir. Bu durum, melatoninin EAU aracılı kasılma yanıtını azaltıcı etkisinde NO sentez indüksiyonunun bir rolü olabileceğini desteklemektedir.

Çalışmalarımızda melatonin (10^{-4} M) ile inkübe ortamda EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine ekzojen NO'un rolünü araştırmak amacıyla DEA-NO'nin konsantrasyon bağımlı etkisi de araştırılmıştır. Her iki grupta da DEA-NO (10^{-8} - 10^{-4} M) konsantrasyon bağımlı olarak EAU aracılı kasılma yanıtlarını anlamlı şekilde azaltmıştır. Ancak ülser grubundaki azalmanın, kontrole göre daha az olduğu izlenmiştir. Benzer sonuç, deneylerimizde bazal şartlarda da elde edilmiş ve NO donörünün gevşetici etkisinin azalması postsinaptik mekanizmaları içeren bir bozulmanın olabileceğini şeklinde yorumlanmıştı. Bu noktada melatonin ile inkübasyonun sonuçlarda belirgin bir fark oluşturmadığı düşünülmüştür.

Deneylerimizde EAU dışında, ekzojen kolinerjik yanıtların da değerlendirilebilmesi için muskarinik reseptör agonisti karbakol ile kasılma yanıtları ölçülmüştür. Tüm gruplarda karbakol konsantrasyon bağımlı olarak sıçan fundus şeritlerinde kasılmaya yol açmıştır. Karbakol ile kasılma yanıtları ülser grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır, in-vivo melatonin uygulanmış gruplarda bu azalma normale dönme eğilimindedir.

Karbakol aracılı kasılma yanıtlarının azalması mide ülserindeki hasarın postsinaptik mekanizmalarla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. İn-vivo melatonin uygulanması muskarinik reseptör yanıtlarında koruyucu bir rol oynuyor olabilir. Literatürde Cch (10^{-6} M) ile prekontrakte sıçan mide fundus düz kasında melatoninin doz bağımlı inhibitör etkiyi yol açtığı belirtilmiştir (18).

Son olarak, EAU kullanılmaksızın KCl+CaCl₂ ile kontrakte dokularda ortama kümülatif dozlarda melatonin eklenmesi, hem kontrol hem de ülserli gruplarda kasılma yanıtını azaltmaktadır. Bu bulgu, melatoninin, kolinerjik innervasyondan bağımsız şekilde, düz kas kasılmalarını azalttığını göstermektedir. Melatoninin iyileşmekte olan ülser dokusunun kenarlarında iNOS ifadelenmesi ve mRNA miktarını artırdığı gösterilmiştir (121). Melatonin (10^{-7} M) konsantrasyonda sıçan mesane dokusunda KCl (35 mM, 70 mM, 105 mM, 140 mM) aracılı kasılmayı bloke ettiği gösterilmiştir (136). Düşük doz (1 ve 10 µg/kg) intraperitoneal olarak enjekte edilen melatoninin sıçan bağırsak motilitesini plaseboya göre artırdığı, yüksek doz (100 veya 1000 µg/kg) melatoninin ise bu etkiyi geriye çevirdiği gösterilmiştir (9).

6. SONUÇ

Melatoninin iyi bilinen kronobiyotik ve antioksidan etkilerinin dışında, GİS motilitesi üzerine ve viseral duyu alımında düzenleyici bir role sahip olduğu da düşünülmektedir. Ancak, GİS’de son derece yoğun olarak bulunan melatoninin gastrik ülser modelinde kolinerjik yanıtlar üzerindeki etkisi ve bu etkinin mekanizmaları araştırılmamıştır.

Bu tez çalışmasının sonuçları, ülser oluşturma, fundus düz kasında EAU aracılı nörojenik kasılma yanıtlarını bozduğunu ve önceden in-vivo melatonin uygulanmasının nörojenik kasılma yanıtlarında düzelme sağlamadığını göstermiştir. İn-vivo uygulanan melatoninin bu deney düzeneğindeki doz ve sürelerde bir yararı olmadığı söylenebilir. Buna karşın in-vitro melatonin uygulanması EAU aracılı kasılma yanıtlarını kontrol grubunda daha belirgin olarak azaltırken, ülser grubunda bu azalmanın sadece yüksek konsantrasyonda meydana gelmesi, melatoninin in-vitro uygulandığı zaman EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine inhibitör bir etkisi olabileceğini ancak bu etkinin ülserli dokuda sınırlı kaldığını düşündürmektedir. Diğer yandan, ülser grubunda NO donörünün etkisinin ve karbakol yanıtlarının da azalmış olması, oluşan patolojinin postsinaptik mekanizmalarla olabileceğini düşündürmektedir.

Gastrik ülserin oluşturduğu nörojenik değişiklikler ve bu sürece katkı sunan melatonin ve nitrik oksit rolünün, altta yatan mekanizmaları ortaya koyabilecek yeni ajanlarla araştırılması, ileride planlanabilecek deneyler olarak düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Konturek, S. J., Konturek, P. C., Brzozowska, I., Pawlik, M., Sliwowski, Z., Cześnikiewicz-Guzik, M., Kwiecień, S., Brzozowski, T., Bubenik, G. A., and Pawlik, W. W. (2007). Localization and biological activities of melatonin in intact and diseased gastrointestinal tract (GIT). *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*, 58(3), 381–405.
2. Reiter, R. J., Carneiro, R. C., and Oh, C. S. (1997). Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanisms. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme*, 29(8), 363–372. <https://doi.org/10.1055/s-2007-979057>
3. Karasek, M., and Winczyk, K. (2006). Melatonin in humans. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*, 57 Suppl 5, 19–39.
4. Konturek, P. C., Brzozowska, I., Targosz, A., Pawlik, M., Kania, J., Hess, T., Kwiecień, S., Konturek, S. J., Reiter, R. J., and Brzozowski, T. (2013). Esophagoprotection mediated by exogenous and endogenous melatonin in an experimental model of reflux esophagitis. *Journal of pineal research*, 55(1), 46–57. <https://doi.org/10.1111/jpi.12048>
5. Kandil, T. S., Mousa, A. A., El-Gendy, A. A., and Abbas, A. M. (2010). The potential therapeutic effect of melatonin in Gastro-Esophageal Reflux Disease. *BMC gastroenterology*, 10, 7. <https://doi.org/10.1186/1471-230X-10-7>
6. Lu, W. Z., Gwee, K. A., Moolhalla, S., and Ho, K. Y. (2005). Melatonin improves bowel symptoms in female patients with irritable bowel syndrome: a double-blind placebo-controlled study. *Alimentary pharmacology and therapeutics*, 22(10), 927–934. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2005.02673.x>
7. Tahan, G., Gramignoli, R., Marongiu, F., Aktolga, S., Cetinkaya, A., Tahan, V., and Dorko, K. (2011). Melatonin expresses powerful anti-inflammatory and antioxidant activities resulting in complete improvement of acetic-acid-induced colitis in rats. *Digestive diseases and sciences*, 56(3), 715–720. <https://doi.org/10.1007/s10620-010-1364-5>
8. Rui, B. B., Chen, H., Jang, L., Li, Z., Yang, J. M., Xu, W. P., and Wei, W. (2016). Melatonin Upregulates the Activity of AMPK and Attenuates Lipid Accumulation in Alcohol-induced Rats. *Alcohol and alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 51(1), 11–19. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agv126>
9. Drago, F., Macaudo, S., and Salehi, S. (2002). Small doses of melatonin increase intestinal motility in rats. *Digestive diseases and sciences*, 47(9), 1969–1974. <https://doi.org/10.1023/a:1019696006677>

10. Konturek, P. C., Brzozowski, T., and Konturek, S. J. (2011). Stress and the gut: pathophysiology, clinical consequences, diagnostic approach and treatment options. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*, 62(6), 591–599.
11. Lefebvre R. A. (1986). Study on the possible neurotransmitter of the non-adrenergic non-cholinergic innervation of the rat gastric fundus. *Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie*, 280(2 Suppl), 110–136.
12. D'Amato, M., Currò, D., Ciabattini, G., and Lefebvre, R. A. (1990). Is peptide histidine isoleucine an inhibitory nonadrenergic noncholinergic neurotransmitter in the rat gastric fundus?. *Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie*, 303, 216–231.
13. Lénárd, L., Jr, Lázár, Z., Benkó, R., Szigeti, R., Báthori, Z., Tóth, G. K., Penke, B., and Barthó, L. (2000). Inhibitory effect of PACAP(6-38) on relaxations induced by PACAP, VIP and non-adrenergic, non-cholinergic nerve stimulation in the guinea-pig taenia caeci. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 361(5), 492–497. <https://doi.org/10.1007/s002100000225>
14. D'Amato, M., De Beurme, F. A., and Lefebvre, R. A. (1988). Comparison of the effect of vasoactive intestinal polypeptide and non-adrenergic non-cholinergic neurone stimulation in the cat gastric fundus. *European journal of pharmacology*, 152(1-2), 71–82. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(88\)90837-0](https://doi.org/10.1016/0014-2999(88)90837-0)
15. Li, C. G., and Rand, M. J. (1990). Nitric oxide and vasoactive intestinal polypeptide mediate non-adrenergic, non-cholinergic inhibitory transmission to smooth muscle of the rat gastric fundus. *European journal of pharmacology*, 191(3), 303–309. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(90\)94162-q](https://doi.org/10.1016/0014-2999(90)94162-q)
16. Borody, T. J., Quigley, E. M., Phillips, S. F., Wienbeck, M., Tucker, R. L., Haddad, A., and Zinsmeister, A. R. (1985). Effects of morphine and atropine on motility and transit in the human ileum. *Gastroenterology*, 89(3), 562–570. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(85\)90452-4](https://doi.org/10.1016/0016-5085(85)90452-4)
17. Lippi, A., Santicioli, P., Criscuoli, M., and Maggi, C. A. (1998). Depolarization evoked co-release of tachykinins from enteric nerves in the guinea-pig proximal colon. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 357(3), 245–251. <https://doi.org/10.1007/pl00005164>
18. Storr, M., Koppitz, P., Sibaev, A., Saur, D., Kurjak, M., Franck, H., Schusdziarra, V., and Allescher, H. D. (2002). Melatonin reduces non-adrenergic, non-cholinergic relaxant neurotransmission by inhibition of nitric oxide synthase activity in the gastrointestinal tract of rodents in vitro. *Journal of pineal research*, 33(2), 101–108. <https://doi.org/10.1034/j.1600-079x.2002.02909.x>

19. Zhang, L., Gong, J. T., Zhang, H. Q., Song, Q. H., Xu, G. H., Cai, L., Tang, X. D., Zhang, H. F., Liu, F. E., Jia, Z. S., and Zhang, H. W. (2015). Melatonin Attenuates Noise Stress-induced Gastrointestinal Motility Disorder and Gastric Stress Ulcer: Role of Gastrointestinal Hormones and Oxidative Stress in Rats. *Journal of neurogastroenterology and motility*, 21(2), 189–199. <https://doi.org/10.5056/jnm14119>
20. Odar, İ.V. *Anatomi Ders Kitabı*. 7. Baskı. Ankara: Salmantlar Ofset; 1984. s. 2. Cilt, 73-84.
21. Guyton, A.C. *Textbook of Medical Physiology*, Nobel Tıp Kitabevleri. 2001. s. 2. Cilt, 1085-1106.
22. Cullen, J. J., and Kelly, K. A. (1993). Gastric motor physiology and pathophysiology. *The Surgical clinics of North America*, 73(6), 1145–1160. [https://doi.org/10.1016/s0039-6109\(16\)46184-0](https://doi.org/10.1016/s0039-6109(16)46184-0)
23. Kayaalp, S.O., Ulus İH. Otonom sinir sistemi nörotransmitterleri ve ilaçları hakkında temel bilgiler. İçinde: Kayaalp SO, editör. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 10. Baskı. Ankara: Hacettepe Taş; 2002. s. 1050-1051.
24. Zhang, X., Renahan, W. E., and Fogel, R. (2000). Vagal innervation of the rat duodenum. *Journal of the autonomic nervous system*, 79(1), 8–18. [https://doi.org/10.1016/s0165-1838\(99\)00093-4](https://doi.org/10.1016/s0165-1838(99)00093-4)
25. Furness JB, Clerc N, Vogalis F. The enteric nervous system and its extrinsic connections. In: Yamada T editor. *Textbook of Gastroenterology*. Fourth Edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2003. p. 12-34.
26. Yip, L., Kwok, Y. N., and Buchan, A. M. (2003). Cellular localization and distribution of neurokinin-1 receptors in the rat stomach. *Autonomic neuroscience : basic and clinical*, 104(2), 95–108. [https://doi.org/10.1016/S1566-0702\(02\)00293-X](https://doi.org/10.1016/S1566-0702(02)00293-X)
27. Cao, W., Pricolo, V. E., Zhang, L., Behar, J., Biancani, P., and Kirber, M. T. (2000). Gq-linked NK(2) receptors mediate neurally induced contraction of human sigmoid circular smooth muscle. *Gastroenterology*, 119(1), 51–61. <https://doi.org/10.1053/gast.2000.8552>
28. Rattan S. (1986). The non-adrenergic non-cholinergic innervation of the esophagus and the lower esophageal sphincter. *Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie*, 280(2 Suppl), 62–83.
29. Behar, J., Guenard, V., Walsh, J. H., and Biancani, P. (1989). VIP and acetylcholine: neurotransmitters in esophageal circular smooth muscle. *The American journal of physiology*, 257(3 Pt 1), G380–G385. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1989.257.3.G380>
30. Biancani, P., Walsh, J. H., and Behar, J. (1984). Vasoactive intestinal polypeptide. A neurotransmitter for lower esophageal sphincter relaxation. *The Journal of clinical investigation*, 73(4), 963–967. <https://doi.org/10.1172/JCI111320>

31. Palmer, R. M., Ferrige, A. G., and Moncada, S. (1987). Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 327(6122), 524–526. <https://doi.org/10.1038/327524a0>
32. Mülsch, A., and Busse, R. (1990). NG-nitro-L-arginine (N^G-[imino (nitroamino) methyl]-L-ornithine) impairs endothelium-dependent dilations by inhibiting cytosolic nitric oxide synthesis from L-arginine. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 341(1-2), 143–147. <https://doi.org/10.1007/BF00195071>
33. Bult, H., Boeckxstaens, G. E., Pelckmans, P. A., Jordaens, F. H., Van Maercke, Y., and Herman, A. G. (1990). Nitric oxide as an inhibitory non-adrenergic non-cholinergic neurotransmitter. *Nature*, 345 (6273), 346–347. <https://doi.org/10.1038/345346a0>
34. Bygrave, F. L., and Roberts, H. R. (1995). Regulation of cellular calcium through signaling cross-talk involves an intricate interplay between the actions of receptors, G-proteins, and second messengers. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 9(13), 1297–1303. <https://doi.org/10.1096/fasebj.9.13.7557019>
35. Caulfield, M. P., and Birdsall, N. J. (1998). International Union of Pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacological reviews*, 50(2), 279–290.
36. Braverman, A. S., Tallarida, R. J., and Ruggieri, M. R., Sr (2008). The use of occupation isoboles for analysis of a response mediated by two receptors: M2 and M3 muscarinic receptor subtype-induced mouse stomach contractions. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 325(3), 954–960. <https://doi.org/10.1124/jpet.108.137018>
37. Wrzos, H. F., Tandon, T., and Ouyang, A. (2004). Mechanisms mediating cholinergic antral circular smooth muscle contraction in rats. *World journal of gastroenterology*, 10(22), 3292–3298. <https://doi.org/10.3748/wjg.v10.i22.3292>
38. Leclere, P. G., and Lefebvre, R. A. (2002). Characterization of pre and postsynaptic muscarinic receptors in circular muscle of pig gastric fundus. *British journal of pharmacology*, 135(5), 1245–1254. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704582>
39. Soejima, O., Katsuragi, T., and Furukawa, T. (1993). Opposite modulation by muscarinic M1 and M3 receptors of acetylcholine release from guinea pig ileum as measured directly. *European journal of pharmacology*, 249(1), 1–6. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(93\)90654-z](https://doi.org/10.1016/0014-2999(93)90654-z)
40. Dietrich, C., and Kilbinger, H. (1995). Prejunctional M1 and postjunctional M3 muscarinic receptors in the circular muscle of the guinea-pig ileum. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 351(3), 237–243. <https://doi.org/10.1007/BF00233242>
41. Ogishima, M., Kaibara, M., Ueki, S., Kurimoto, T., and Taniyama, K. (2000). Z-338 facilitates acetylcholine release from enteric neurons due to blockade of muscarinic autoreceptors in guinea pig stomach. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 294(1), 33–37.

42. Furchgott, R. F., and Zawadzki, J. V. (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288 (5789), 373–376. <https://doi.org/10.1038/288373a0>
43. Moncada, S., Palmer, R. M., and Higgs, E. A. (1989). Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochemical pharmacology*, 38(11), 1709–1715. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(89\)90403-6](https://doi.org/10.1016/0006-2952(89)90403-6)
44. Morris, S. M., Jr, and Billiar, T. R. (1994). New insights into the regulation of inducible nitric oxide synthesis. *The American journal of physiology*, 266(6 Pt 1), E829–E839. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1994.266.6.E829>
45. Moncada, S., Palmer, R. M., and Higgs, E. A. (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological reviews*, 43(2), 109–142.
46. Thiemeermann C. (1994). The role of the L-arginine: nitric oxide pathway in circulatory shock. *Advances in pharmacology (San Diego, Calif.)*, 28, 45–79. [https://doi.org/10.1016/s1054-3589\(08\)60493-7](https://doi.org/10.1016/s1054-3589(08)60493-7)
47. Michel, T., and Feron, O. (1997). Nitric oxide synthases: which, where, how, and why?. *The Journal of clinical investigation*, 100(9), 2146–2152. <https://doi.org/10.1172/JCI119750>
48. Cacanyiova, S., Dovinova, I., and Kristek, F. (2013). The role of oxidative stress in acetylcholine-induced relaxation of endothelium-denuded arteries. *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society*, 64(2), 241–247.
49. Türköz, Y., Özerol, E. Nitrik oksit'in etkileri ve patolojik rolleri. *Journal of Turgut Özal Medikal Center*. 1997;4(4): 453- 461.
50. Brzozowski, T., Konturek, P. C., Konturek, S. J., Schuppan, D., Drozdowicz, D., Kwiecień, S., Majka, J., Nakamura, T., and Hahn, E. (2001). Effect of local application of growth factors on gastric ulcer healing and mucosal expression of cyclooxygenase-1and-2. *Digestion*, 64(1),15–29.<https://doi.org/10.1159/000048835>
51. Radomski, M. W., Palmer, R. M., and Moncada, S. (1990). Characterization of the L-arginine:nitric oxide pathway in human platelets. *British journal of pharmacology*, 101(2),325–328.<https://doi.org/10.1111/j.14765381.1990.tb12709.x>
52. Tottrup, A., Glavind, E. B., and Svane, D. (1992). Involvement of the L-arginine-nitric oxide pathway in internal anal sphincter relaxation. *Gastroenterology*, 102(2), 409–415. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(92\)90084-c](https://doi.org/10.1016/0016-5085(92)90084-c)
53. Brzozowski, T., Konturek, P. C., Konturek, S. J., Brzozowska, I., and Pawlik, T. (2005). Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation. *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society*, 56 Suppl 5, 33–55.

54. Takahashi T. (2003). Pathophysiological significance of neuronal nitric oxide synthase in the gastrointestinal tract. *Journal of gastroenterology*, 38(5), 421–430. <https://doi.org/10.1007/s00535-003-1094-y>
55. Ward, S. M., Xue, C., Shuttleworth, C., Bredt, D. S., Snyder, S. H., and Sanders, K. M. (1992). NADPH diaphorase and nitric oxide synthase colocalization in enteric neurons of canine proximal colon. *The American journal of physiology*, 263(2 Pt1), G277–G284. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1992.263.2.G277>
56. Gillespie, J. S., Liu, X. R., and Martin, W. (1989). The effects of L-arginine and NG-monomethyl L-arginine on the response of the rat anococcygeus muscle to NANC nerve stimulation. *British journal of pharmacology*, 98(4), 1080–1082. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1989.tb12650.x>
57. Lerner, A., Case, J., Takahashi, Y., Lee, T. and Mori, W. (1958). Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *Journal of the American Chemical Society*, 80(10), 2587-2587.
58. Hardeland, R., Pandi-Perumal, S. R., and Cardinali, D. P. (2006). Melatonin. *The international journal of biochemistry and cell biology*, 38(3), 313–316. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2005.08.020>
59. Lewy, A. J., Wehr, T. A., Goodwin, F. K., Newsome, D. A., and Rosenthal, N. E. (1981). Manic-depressive patients may be supersensitive to light. *Lancet (London, England)*, 1(8216), 383–384. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(81\)91697-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(81)91697-4)
60. Hardeland, R., Cardinali, D. P., Srinivasan, V., Spence, D. W., Brown, G. M., and Pandi-Perumal, S. R. (2011). Melatonin-a pleiotropic, orchestrating regulator molecule. *Progress in neurobiology*, 93(3), 350–384. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.12.004>
61. Laothong, U., Pinlaor, P., Hiraku, Y., Boonsiri, P., Prakobwong, S., Khoontawad, J., and Pinlaor, S. (2010). Protective effect of melatonin against *Opisthorchis viverrini*-induced oxidative and nitrosative DNA damage and liver injury in hamsters. *Journal of pineal research*, 49(3), 271–282. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2010.00792.x>
62. Reiter, R. J., Melchiorri, D., Sewerynek, E., Poeggeler, B., Barlow-Walden, L., Chuang, J., Ortiz, G. G., and Acuña-Castroviejo, D. (1995). A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *Journal of pineal research*, 18(1), 1–11. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.1995.tb00133.x>
63. Turgut, M., Baka, M., Yurtseven, M. (2002). Pineal glanddan salgılanan bir nörohormon olan melatoninin etkileri. *Arşiv*, 11(1), 453-470.
64. Reiter R. J. (1991). Neuroendocrine effects of light. *International journal of biometeorology*, 35(3), 169–175. <https://doi.org/10.1007/BF01049063>
65. Kalra, S., Agrawal, S., and Sahay, M. (2012). The reno-pineal axis: A novel role for melatonin. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, 16(2), 192–194. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.93735>

66. Danilenko, K. Ragino, Y. (2013). Melatonin and its use in atherosclerosis and dyslipidemia. *ChronoPhysiology and Therapy*, 15-22.
67. Tordjman, S., Chokron, S., Delorme, R., Charrier, A., Bellissant, E., Jaafari, N., and Fougrou, C. (2017). Melatonin: Pharmacology, Functions and Therapeutic Benefits. *Current neuropharmacology*, 15(3), 434–443. <https://doi.org/10.2174/1570159X14666161228122115>
68. Singh, M., and Jadhav, H. R. (2014). Melatonin: functions and ligands. *Drug discovery today*, 19(9), 1410–1418. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.04.014>
69. Viswanathan, M., Laitinen, J. T., and Saavedra, J. M. (1990). Expression of melatonin receptors in arteries involved in thermoregulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(16), 6200–6203. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.16.6200>
70. Galano, A., Tan, D. X., and Reiter, R. J. (2013). On the free radical scavenging activities of melatonin's metabolites, AFMK and AMK. *Journal of pineal research*, 54(3), 245–257. <https://doi.org/10.1111/jpi.12010>
71. Hardeland, R. and Poeggeler, B., (2008). "Melatonin Beyond Its Classical Functions", *The Open Physiology Journal*, 1(1):1-22, [10.2174/1874360900901010001](https://doi.org/10.2174/1874360900901010001).
72. Jan, J. E., Bax, M. C., Owens, J. A., Ipsiroglu, O. S., and Wasdell, M. B. (2012). Neurophysiology of circadian rhythm sleep disorders of children with neurodevelopmental disabilities. *European journal of paediatric neurology : EJPN : official journal of the European Paediatric Neurology Society*, 16(5), 403–412. <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2012.01.002>
73. Jiménez-Aranda, A., Fernández-Vázquez, G., Campos, D., Tassi, M., Velasco-Perez, L., Tan, D. X., Reiter, R. J., and Agil, A. (2013). Melatonin induces browning of inguinal white adipose tissue in Zucker diabetic fatty rats. *Journal of pineal research*, 55(4), 416–423. <https://doi.org/10.1111/jpi.12089>
74. Carrillo-Vico, A., Guerrero, J. M., Lardone, P. J., and Reiter, R. J. (2005). A review of the multiple actions of melatonin on the immune system. *Endocrine*, 27(2), 189–200. <https://doi.org/10.1385/ENDO:27:2:189>
75. Regodón, S., Martín-Palomino, P., Fernández-Montesinos, R., Herrera, J. L., Carrascosa-Salmoral, M. P., Píriz, S., Vadillo, S., Guerrero, J. M., and Pozo, D. (2005). The use of melatonin as a vaccine agent. *Vaccine*, 23(46-47), 5321–5327. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.07.003>
76. Touitou Y. (2001). Human aging and melatonin. Clinical relevance. *Experimental gerontology*, 36(7), 1083–1100. [https://doi.org/10.1016/s0531-5565\(01\)00120-6](https://doi.org/10.1016/s0531-5565(01)00120-6)
77. Escames, G., Guerrero, J. M., Reiter, R. J., Garcia, J. J., Munoz-Hoyos, A., Ortiz, G. G., and Oh, C. S. (1997). Melatonin and vitamin E limit nitric oxide-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates. *Neuroscience letters*, 230(3), 147–150. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(97\)00498-9](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(97)00498-9)

78. Reiter, R. J., Tan, D. X., Osuna, C., and Gitto, E. (2000). Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A review. *Journal of biomedical science*, 7(6), 444–458. <https://doi.org/10.1007/BF02253360>
79. Akkuş, İ. (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. *Konya: Mimoza Yayınları*.
80. Özçelik, F., Erdem, M., Bolu, A. ve Gülsün, M. (2013). Melatonin: Genel özellikleri ve psikiyatrik bozukluklardaki rolü. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, 5(2), 25-30.
81. Forman, K., Vara, E., García, C., Kireev, R., Cuesta, S., Acuña-Castroviejo, D., and Tresguerres, J. A. (2010). Beneficial effects of melatonin on cardiological alterations in a murine model of accelerated aging. *Journal of pineal research*, 49(3), 312–320. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2010.00800.x>
82. Guney Y., ULUOĞLU C., Hicsonmez A., Turkcu U. O. , Ozbey G. , Bilgihan A., Andrieu M. N. , Guney H. Z. , Zengil H., (2008). Day and Night Effect of Single Dose of Ionising Radiation and Melatonin Treatment of Lung Tissue of Rats *Turkish journal of biochemistry-Türk biyokımya dergisi*, cilt.33, sa.3, ss.104-110
83. Canan ULUOĞLU, (2008). Melatonin: Antiaging Kronobiotik. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*; 28(Suppl):S84-S87.
84. Siah, K. T., Wong, R. K., and Ho, K. Y. (2014). Melatonin for the treatment of irritable bowel syndrome. *World journal of gastroenterology*, 20(10), 2492–2498. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i10.2492>
85. Bubenik, G. A., Pang, S. F., Cockshut, J. R., Smith, P. S., Grovum, L. W., Friendship, R. M., and Hacker, R. R. (2000). Circadian variation of portal, arterial and venous blood levels of melatonin in pigs and its relationship to food intake and sleep. *Journal of pineal research*, 28(1), 9–15. <https://doi.org/10.1034/j.1600-079x.2000.280102.x>
86. Kvetnoï, I. M., Raïkhlin, N. T., Iuzhakov, V. V., and Ingel', I. E. (1999). Ekstrapineal'nyï melatonin: mesto i rol' v neïroéndokrinnoï reguliatsii gomeostaza [Extrapineal melatonin: its place and role in the neuroendocrine regulation of homeostasis]. *Biulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny*, 127(4), 364–370.
87. Messner, M., Huether, G., Lorf, T., Ramadori, G., and Schwörer, H. (2001). Presence of melatonin in the human hepatobiliary-gastrointestinal tract. *Life sciences*, 69(5), 543–551. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(01\)01143-2](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(01)01143-2)

88. Nduhirabandi, F., Du Toit, E. F., Blackhurst, D., Marais, D., and Lochner, A. (2011). Chronic melatonin consumption prevents obesity-related metabolic abnormalities and protects the heart against myocardial ischemia and reperfusion injury in a prediabetic model of diet-induced obesity. *Journal of pineal research*, 50(2), 171–182. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2010.00826.x>
89. Nduhirabandi, F., du Toit, E. F., and Lochner, A. (2012). Melatonin and the metabolic syndrome: a tool for effective therapy in obesity associated abnormalities?. *Acta physiologica (Oxford, England)*, 205(2), 209–223. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.2012.02410.x>
90. Cardinali, D. P., Cano, P., Jiménez-Ortega, V., and Esquifino, A. I. (2011). Melatonin and the metabolic syndrome: physiopathologic and therapeutical implications. *Neuroendocrinology*, 93(3), 133–142. <https://doi.org/10.1159/000324699>
91. Cardinali, D. P., Bernasconi, P. A., Reynoso, R., Toso, C. F., and Scacchi, P. (2013). Melatonin may curtail the metabolic syndrome: studies on initial and fully established fructose-induced metabolic syndrome in rats. *International journal of molecular sciences*, 14(2), 2502–2514. <https://doi.org/10.3390/ijms14022502>
92. Koziróg, M., Poliwczak, A. R., Duchnowicz, P., Koter-Michalak, M., Sikora, J., and Broncel, M. (2011). Melatonin treatment improves blood pressure, lipid profile, and parameters of oxidative stress in patients with metabolic syndrome. *Journal of pineal research*, 50(3), 261–266. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2010.00835.x>
93. Harold, K., Grant, D., and Mitchell, J. (2006). Principles of medical pharmacology. *Saunders Elsevier, Toronto*. pp. 557–559.
94. Rodríguez, J. A., Theoduloz, C., Yáñez, T., Becerra, J., and Schmeda-Hirschmann, G. (2006). Gastroprotective and ulcer healing effect of ferruginol in mice and rats: assessment of its mechanism of action using in vitro models. *Life sciences*, 78(21), 2503–2509. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.10.018>
95. Akinci, A., Esrefoglu, M., Cetin, A., and Ates, B. (2015). Melatonin is more effective than ascorbic acid and β -carotene in improvement of gastric mucosal damage induced by intensive stress. *Archives of medical science: AMS*, 11(5), 1129–1136. <https://doi.org/10.5114/aoms.2015.54870>
96. Mózsik, G., and Jávör, T. (1988). A biochemical and pharmacological approach to the genesis of ulcer disease. I. A model study of ethanol-induced injury to gastric mucosa in rats. *Digestive diseases and sciences*, 33(1), 92–105. <https://doi.org/10.1007/BF01536637>
97. Gilman, A.G, Ruddon, W.R, Molinof, B.F.(2011). Drugs Affecting Gastrointestinal Function In The Pharmacolocigal Basis of therapeutics. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. McGraw-Hill Comp, New York.; 12. baskı, 899

98. Szabo, S., Trier, J. S., Brown, A., and Schnoor, J. (1985). Early vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury caused by ethanol in the rat. *Gastroenterology*, 88(1 Pt 2), 228–236. [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(85\)80176-1](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(85)80176-1)
99. Konturek, P. C., Konturek, S. J., Brzozowski, T., Dembinski, A., Zembala, M., Mytar, B., and Hahn, E. G. (1997). Gastroprotective activity of melatonin and its precursor, L-tryptophan, against stress-induced and ischaemia-induced lesions is mediated by scavenge of oxygen radicals. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 32(5), 433–438. <https://doi.org/10.3109/00365529709025077>
100. Guidobono, F., Pagani, F., Ticozzi, C., Sibilia, V., Pecile, A., and Netti, C. (1997). Protection by amylin of gastric erosions induced by indomethacin or ethanol in rats. *British journal of pharmacology*, 120(4), 581–586. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0700941>
101. Pihan, G., Regillo, C., and Szabo, S. (1987). Free radicals and lipid peroxidation in ethanol- or aspirin-induced gastric mucosal injury. *Digestive diseases and sciences*, 32(12), 1395–1401. <https://doi.org/10.1007/BF01296666>
102. Smith, G. S., Mercer, D. W., Cross, J. M., Barreto, J. C., and Miller, T. A. (1996). Gastric injury induced by ethanol and ischemia-reperfusion in the rat. Differing roles for lipid peroxidation and oxygen radicals. *Digestive diseases and sciences*, 41(6), 1157–1164. <https://doi.org/10.1007/BF02088232>
103. Stein, H. J., Hinder, R. A., and Oosthuizen, M. M. (1990). Gastric mucosal injury caused by hemorrhagic shock and reperfusion: protective role of the antioxidant glutathione. *Surgery*, 108(2), 467–474.
104. Loguercio, C., Taranto, D., Beneduce, F., del Vecchio Blanco, C., de Vincentiis, A., Nardi, G., and Romano, M. (1993). Glutathione prevents ethanol induced gastric mucosal damage and depletion of sulfhydryl compounds in humans. *Gut*, 34(2), 161–165. <https://doi.org/10.1136/gut.34.2.161>
105. Melchiorri, D., Sewerynek, E., Reiter, R. J., Ortiz, G. G., Poeggeler, B., and Nisticò, G. (1997). Suppressive effect of melatonin administration on ethanol-induced gastroduodenal injury in rats in vivo. *British journal of pharmacology*, 121(2), 264–270. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701104>
106. Takeuchi, K., Okada, M., Niida, H., and Okabe, S. (1989). Role of sulfhydryls in mucosal injury caused by ethanol: relation to microvascular permeability, gastric motility and cytoprotection. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 248(2), 836–841.
107. Tepperman, B. L., and Soper, B. D. (1994). Nitric oxide synthase induction and cytoprotection of rat gastric mucosa from injury by ethanol. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 72(11), 1308–1312. <https://doi.org/10.1139/y94-188>
108. Bandarage, U. K., and Janero, D. R. (2001). Nitric oxide-releasing nonsteroidal anti-inflammatory drugs: novel gastrointestinal-sparing drugs. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 1(1), 57–70. <https://doi.org/10.2174/1389557013407160>

109. McCarty M. F. (2013). Dietary nitrate and reductive polyphenols may potentiate the vascular benefit and alleviate the ulcerative risk of low-dose aspirin. *Medical hypotheses*, 80(2), 186–190. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2012.11.025>
110. Ohta, Y., and Nishida, K. (2002). L-arginine protects against stress-induced gastric mucosal lesions by preserving gastric mucus. *Clinical and experimental pharmacology and physiology*, 29(1-2), 32–38. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1681.2002.03607.x>
111. Liang, TY, Deng, RM, Li, X., Xu, X., and Chen, G. (2021). Peptik ülserde nitrik oksidin rolü: bir anlatı incelemesi. *Tıbbi gaz araştırması*, 11 (1), 42–45. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.310059>
112. Silva, B. R., Paula, T. D., Paulo, M., and Bendhack, L. M. (2016). Nitric oxide signaling and the cross talk with prostanoids pathways in vascular system. *Medicinal chemistry (Shariqah (United Arab Emirates))*, Advance online publication.
113. Clancy, R. M., Leszczynska-Piziak, J., and Abramson, S. B. (1992). Nitric oxide, an endothelial cell relaxation factor, inhibits neutrophil superoxide anion production via a direct action on the NADPH oxidase. *The Journal of clinical investigation*, 90(3), 1116–1121. <https://doi.org/10.1172/JCI115929>
114. Vaananen, P. M., Meddings, J. B., and Wallace, J. L. (1991). Role of oxygen-derived free radicals in indomethacin-induced gastric injury. *The American journal of physiology*, 261(3 Pt 1), G470–G475. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1991.261.3.G470>
115. Radomski, M. W., Palmer, R. M., and Moncada, S. (1987). Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet (London, England)*, 2(8567), 1057–1058. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(87\)91481-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(87)91481-4)
116. Wilson, K. T., Ramanujam, K. S., Mobley, H. L., Musselman, R. F., James, S. P., and Meltzer, S. J. (1996). Helicobacter pylori stimulates inducible nitric oxide synthase expression and activity in a murine macrophage cell line. *Gastroenterology*, 111(6), 1524–1533. [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(96\)70014-8](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(96)70014-8)
117. Bubenik, G. A., Hacker, R. R., Brown, G. M., and Bartos, L. (1999). Melatonin concentrations in the luminal fluid, mucosa, and muscularis of the bovine and porcine gastrointestinal tract. *Journal of pineal research*, 26(1), 56–63. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.1999.tb00567.x>
118. Brzozowska, I., Konturek, P. C., Brzozowski, T., Konturek, S. J., Kwiecien, S., Pajdo, R., Drozdowicz, D., Pawlik, M., Ptak, A., and Hahn, E. G. (2002). Role of prostaglandins, nitric oxide, sensory nerves and gastrin in acceleration of ulcer healing by melatonin and its precursor, L-tryptophan. *Journal of pineal research*, 32(3), 149–162. <https://doi.org/10.1034/j.1600-079x.2002.1o811.x>

119. Brzozowski, T., Konturek, P. C., Konturek, S. J., Pajdo, R., Bielanski, W., Brzozowska, I., Stachura, J., and Hahn, E. G. (1997). The role of melatonin and L-tryptophan in prevention of acute gastric lesions induced by stress, ethanol, ischemia, and aspirin. *Journal of pineal research*, 23(2), 79–89. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079x.1997.tb00339.x>
120. Kato, K., Murai, I., Asai, S., Takahashi, Y., Nagata, T., Komuro, S., Mizuno, S., Iwasaki, A., Ishikawa, K., and Arakawa, Y. (2002). Circadian rhythm of melatonin and prostaglandin in modulation of stress-induced gastric mucosal lesions in rats. *Alimentary pharmacology and therapeutics*, 16 Suppl 2, 29–34. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2036.16.s2.11.x>
121. Jaworek, J., Brzozowski, T., and Konturek, S. J. (2005). Melatonin as an organo-protector in the stomach and the pancreas. *Journal of pineal research*, 38(2), 73–83. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2004.00179.x>
122. Browning, C., Beresford, I., Fraser, N., and Giles, H. (2000). Pharmacological characterization of human recombinant melatonin mt(1) and MT(2) receptors. *British journal of pharmacology*, 129(5), 877–886. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703130>
123. Akiba, Y., Nakamura, M., Mori, M., Suzuki, H., Oda, M., Kimura, H., Miura, S., Tsuchiya, M., and Ishii, H. (1998). Inhibition of inducible nitric oxide synthase delays gastric ulcer healing in the rat. *Journal of clinical gastroenterology*, 27 Suppl 1, S64–S73. <https://doi.org/10.1097/00004836-199800001-00011>
124. Konturek, P. C., Brzozowski, T., Sulekova, Z., Brzozowska, I., Duda, A., Meixner, H., Hahn, E. G., and Konturek, S. J. (2001). Role of leptin in ulcer healing. *European journal of pharmacology*, 414(1), 87–97. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(01\)00748-8](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(01)00748-8)
125. Whittle, B. J., Lopez-Belmonte, J., and Moncada, S. (1990). Regulation of gastric mucosal integrity by endogenous nitric oxide: interactions with prostanoids and sensory neuropeptides in the rat. *British journal of pharmacology*, 99(3), 607–611. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1990.tb12977.x>
126. Takeuchi, K., Ueshima, K., Ohuchi, T., and Okabe, S. (1994). The role of capsaicin-sensitive sensory neurons in healing of HCl-induced gastric mucosal lesions in rats. *Gastroenterology*, 106(6), 1524–1532. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(94\)90406-5](https://doi.org/10.1016/0016-5085(94)90406-5)
127. Bandyopadhyay, D., Biswas, K., Bandyopadhyay, U., Reiter, R. J., and Banerjee, R. K. (2000). Melatonin protects against stress-induced gastric lesions by scavenging the hydroxyl radical. *Journal of pineal research*, 29(3), 143–151. <https://doi.org/10.1034/j.1600-079x.2000.290303.x>
128. Brzozowski, T., Konturek, P. C., Konturek, S. J., Pajdo, R., Schuppan, D., Drozdowicz, D., Ptak, A., Pawlik, M., Nakamura, T., and Hahn, E. G. (2000). Involvement of cyclooxygenase (COX)-2 products in acceleration of ulcer healing by gastrin and hepatocyte growth factor. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*, 51(4 Pt 1), 751–773.

129. Rand, M. J., and Li, C. G. (1992). Activation of noradrenergic and nitrenergic mechanisms in the rat anococcygeus muscle by nicotine. *Clinical and experimental pharmacology and physiology*, 19(2), 103–111. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.1992.tb00428.x>
130. Ilhan, S. O., Vural, I. M., Dileköz, E., Oztürk, G. S., and Sarioglu, Y. (2007). Enhancement effects of nicotine on neurogenic contractile responses in rabbit gastric fundus. *European journal of pharmacology*, 561(1-3), 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.12.033>
131. Morimoto, Y., Shimohara, K., Oshima, S., and Sukamoto, T. (1991). Effects of the new anti-ulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine. *Japanese journal of pharmacology*, 57(4), 495–505. <https://doi.org/10.1254/jjp.57.495>
132. Abdel-Salam, O. M., Czimmer, J., Debreceni, A., Szolcsányi, J., and Mózsik, G. (2001). Gastric mucosal integrity: gastric mucosal blood flow and microcirculation. An overview. *Journal of physiology, Paris*, 95(1-6), 105–127. [https://doi.org/10.1016/s0928-4257\(01\)00015-8](https://doi.org/10.1016/s0928-4257(01)00015-8)
133. Qiu, F., Liu, X., Zhang, Y., Wu, Y., Xiao, D., and Shi, L. (2018). Aerobic exercise enhanced endothelium-dependent vasorelaxation in mesenteric arteries in spontaneously hypertensive rats: the role of melatonin. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension*, 41(9), 718–729. <https://doi.org/10.1038/s41440-018-0066-9>
134. Han, J. H., Chang, I. H., Myung, S. C., Lee, M. Y., Kim, W. Y., Lee, S. Y., Lee, S. Y., Lee, S. W., and Kim, K. D. (2012). A novel pathway underlying the inhibitory effects of melatonin on isolated rat urinary bladder contraction. *The Korean journal of physiology and pharmacology : official journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology*, 16(1), 37–42. <https://doi.org/10.4196/kjpp.2012.16.1.37>
135. Olmez, E., and Kurcer, Z. (2003). Melatonin attenuates alpha-adrenergic-induced contractions by increasing the release of vasoactive intestinal peptide in isolated rat penile bulb. *Urological research*, 31(4), 276–279. <https://doi.org/10.1007/s00240-003-0327-0>
136. Storr, M., Schusdziarra, V., and Allescher, H. D. (2000). Inhibition of small conductance K⁺ -channels attenuated melatonin-induced relaxation of serotonin-contracted rat gastric fundus. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 78(10), 799–806.

EKLER

EK-1. Etik Kurul Onayı

Evrak Tarih ve Sayısı: 04.10.2019-E.123689



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 66332047-604.01.02-
 Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Canan ULUOĞLU
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Canan ULUOĞLU, Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN, Akbota SKENDEROVA ve Derya Sebile KOÇ'tan oluşan G.Ü.ET-19.054 kod numaralı ve *"Peptik Ülser Modelinde Sıçan Fundus Şeritlerinin Elektriksel Alan Uyarısına (EAU) Verdiği Yanıtlarda Melatonin (MLT) ve Nitrik Oksidin (NO) Rolü"* başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-19.054 and entitled *"The Role of Melatonin (MLT) and Nitric Oxide (NO) in the Responses of Rat Fundus Strips to Electrical Field Stimulation (EFS) in Peptic Ulcer Model"* is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Abdulkadir BEDİRLİ
Kurul Başkanı

Hayvan Türü : Wistar Albino Sıçan
 Hayvan Sayısı : 30

Ek: 1 Liste

EK-1. (devam) Etik Kurul Onayı

GAZİ ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM LİSTESİ	
TOPLANTI TARİHİ :27/09/2019	TOPLANTI SAYISI : 07
ADI-SOYADI	İMZA
Prof.Dr.Abdulkadir BEDİRLİ (Başkan)	
Doç.Dr.Mürşide Ayşe DEMİREL (Başkan Yrd.)	
Prof.Dr.Suna ÖMEROĞLU	
Prof.Dr.Tuncay PEKER	
Prof.Dr.Fatma AKAR	
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIAÇIK	
Prof.Dr.Mecit Orhan ULUDAĞ	
Doç.Dr.Emre BARIŞ	
Doç.Dr.İpek SÜNTAR	
Doç.Dr.Neşet Volkan ASAR	
Öğr.Gör.Dr.Şeyda DİKER	
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM	
Vet.Hek.Burcu AVCI	
Osman İÇ	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Skenderova, Akbota

Uyruğu : Kazakistan



Eğitim Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji	Devam ediyor
Yüksek Lisans	Ahmet Yesevi Türk-Kazak Üniversitesi	2013
Lisans	Ahmet Yesevi Türk-Kazak Üniversitesi	2011

İş Deneyimi	Çalıştığı Yer	Görev
2013-2014	Ahmet Yesevi Türk-Kazak Üniversitesi/ Tıp Fakültesi	Öğretim görevlisi

Yabancı Dil

Rusça, Türkçe, İngilizce

Yayınlar:

1. Dauletova M.D, Baratova G.M, **Skenderova A.A.** “Structures and features of treatment of atypical pneumonias.”Ahmet Yesevi Üniversitesi Habarşısı Dergisi, 1(76): 255-258 (2012).
2. Dauletova M.D, **Skenderova A.A.**, Yermakhanova J.A. “Current problems of chronic renal failure.” Ahmet Yesevi Üniversitesi Habarşısı Dergisi, 1(88): 177-179 (2014).
3. Muhammed Cihan Güvel¹, Akbota Skenderova^{1,2}, Canan Uluoğlu¹ ‘Melatonin ve Gastrointestinal Patolojilerdeki Rolü’ Derleme/ Review GMJ 2021; 32: 680-685.

Poster:

1. 26. Ulusal ve 1. Uluslararası Farmakoloji Kongresi ‘Peptik ülser modelinde sıçan fundus şeritlerinin elektriksel alan uyarısına verdiği nörojenik kasılma yanıtlarında melatonin ve nitrik oksidin rolü’ Akbota SKENDEROVA, Derya SEBİLE KOÇ, Muhammed Cihan GÜVEL, Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN, Canan ULUOĞLU/ Türk Farmakoloji Derneği, 4-6 Kasım 2021.

Katıldığı Bilimsel Toplantılar ve Kurslar:

1. 26. Ulusal ve 1. Uluslararası Farmakoloji Kongresi/Türk Farmakoloji Derneği, 4-6 Kasım 2021.
2. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu, 2017
3. Biyoteknolojik ilaç geliştirme süreçleri ve ekonomik boyut sempozyumu, 2019
4. Biyoteknolojik ilaçların geliştirmesi ruhsatlandırılması ve kullanımı sempozyumu, 2018
5. Akademik yaşamda bilimsel yayın yapmak konulu eğitim toplantısı, 2019.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

