

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DİYABETİK SIÇANLARIN BÖBREK DOKUSUNDA
GHRELİN İMMÜNREAKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Tuncay KULOĞLU**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. D. Özlem DABAK**

ELAZIĞ / 2008

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Ömer L. ERHAN

.....

Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. İ. Enver OZAN

.....

F.Ü. Tıp Fakültesi

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. D. Özlem DABAK

.....

Danışman

Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Sevgili Aileme...

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sırasında beni yönlendiren ve yetişmemde büyük emeği olan Danışman Hocam Yrd. Doç. Dr. D. Özlem DABAK'a tez çalışmama olan yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Hayatın her döneminde bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen aileme, tez çalışmamda yardım ve katkılarından dolayı hocalarım Prof. Dr. Enver OZAN, Prof. Dr. Leyla C. KOYUTÜRK ve Doç. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU CAMCI'ya, mesai arkadaşlarım Araş. Gör. Dt. H. Banu ÖZEL, Araş. Gör. Dr. Yeşim ÖZDEMİR, Araş. Gör. Dr. Zübeyde ÇALIŞKAN ve Araş. Gör. Dr. Nihal TEKİNALP'a, Anatomi Anabilim Dalında görevli Araş. Gör. Dr. Evren KÖSE, Araş. Gör. Dr. Ufuk TAŞ ve Araş. Gör. Dr. Sedat MEYDAN'a teşekkür ederim.

Ayrıca sağladığı finansmandan ötürü Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (FÜBAP)'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	2
3. GİRİŞ	3
3.1 Böbrek	3
3.1.1 Böbrek Anatomisi	3
3.1.2 Böbrek Embriyolojisi	3
3.1.3 Böbrek Histolojisi	7
3.1.3.1 Renal cisimcik ve glomerül	9
3.1.3.2 Proksimal tübül	12
3.1.3.3 Henle kulpu	14
3.1.3.4 Distal tübül	15
3.1.3.5 Toplayıcı tübül ve kanallar	18
3.1.3.6 Böbrek interstisyumu	19
3.1.3.7 Böbreğin kan dolaşımı	19
3.1.3.8 Böbreğin lenfatik damar ve sinirleri	21
3.1.4 Böbrek Histofizyolojisi	21
3.2 Diabetes Mellitus	26
3.2.1 Diabetes Mellitus'un Tanımı ve Sınıflandırılması	26
3.2.2 Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları	28
3.2.3 Diyabetik Nefropati	28
3.3 Ghrelin	31
3.3.1 Ghrelin ve GHS-R Dağılımı	32
3.3.2 Ghrelinin Endokrin ve Periferik Etkileri	39

3.3.2.1 Ghrelinin Hormon Salgılatıcı Etkileri	40
3.3.2.2 Ghrelinin Davranışla İlgili Etkileri	41
3.3.2.3 Ghrelinin Kardiyovasküler Sisteme Etkileri	41
3.3.2.4 Ghrelinin Üreme Sistemine Etkileri	42
3.3.2.5 Ghrelinin İskelet Sistemine Etkileri	42
3.3.2.6 Ghrelinin Gastrointestinal Sisteme Etkileri	42
3.3.2.7 Ghrelinin İştah ve Gıda Alımına Etkileri	43
3.3.2.8 Ghrelinin İnsülin ve Karbonhidrat Metabolizmasına Etkileri	43
3.3.3 Ghrelin Düzeyini Etkileyen Faktörler ve Hastalıklar	44
4. GEREÇ ve YÖNTEM	47
4.1 Deney Hayvanları ve Beslenmeleri	47
4.2 Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneysel Uygulamalar	48
4.3 Örneklerin Alınması	50
4.4 Biyokimyasal Çalışma	51
4.5 Histolojik Çalışma	51
4.6 İmmünohistokimyasal Çalışma	52
4.7 İstatistiksel Analiz	55
5. BULGULAR	56
5.1 Klinik Bulgular	56
5.2 Biyokimyasal Bulgular	58
5.3 Histolojik Bulgular	59
5.4 İmmünohistokimyasal Bulgular	74
6. TARTIŞMA	85
7. KAYNAKLAR	92
8. ÖZGEÇMİŞ	115

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo I: Ghrelinin Etkileri.	39
Tablo II: Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin terkibi.	47
Tablo III: Histolojik takip serileri.	52
Tablo IV: İmmunohistokimyasal boyama prosedürü.	53
Tablo V: İmmünohistokimyasal boyanma yoğunluğunun derecesi.	54
Tablo VI: Streptozotosin uygulamasının 2.haftasında deney hayvanlarının başlangıç ve final vücut ağırlıkları ile böbrek/tüm vücut ağırlığı.	56
Tablo VII: Streptozotosin uygulamasının 4.haftasında deney hayvanlarının başlangıç ve final vücut ağırlıkları ile böbrek/tüm vücut ağırlığı.	57
Tablo VIII: Streptozotosin uygulamasının 6.haftasında deney hayvanlarının başlangıç ve final vücut ağırlıkları ile böbrek/tüm vücut ağırlığı.	57
Tablo IX: Streptozotosin uygulamasının 2.haftasında deney hayvanlarının başlangıç ve final kan-glikoz değerleri.	58
Tablo X: Streptozotosin uygulamasının 4.haftasında deney hayvanlarının başlangıç ve final kan-glikoz değerleri.	58
Tablo XI: Streptozotosin uygulamasının 6.haftasında deney hayvanlarının başlangıç ve final kan-glikoz değerleri.	59

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. Gelişimin değişik dönemlerinde embriyonun nefrik tübül oluşumunu gösteren şematik transvers kesitleri.	5
Şekil 2. Beş haftalık embriyoda intermediate mezodermin pronefrik, mezonefrik ve metanefrik sistemlerinin ilişkisini gösteren çizim ile pronefrik ve mezonefrik sistemlerin boşaltım tübüllerinin şematik çizimi.	5
Şekil 3. Metanefrik boşaltım biriminin gelişimi.	6
Şekil 4. Böbreğin yapısı.	8
Şekil 5. Kontrol grubunda normal böbrek histolojisi. Glomerüller (→). H&E X 4.	61
Şekil 6. Diyabetin II. Haftasında böbrek dokusu. Glomerüller (→) ve tübüler dilatasyon (★). H&E X 4.	61
Şekil 7. Diyabetin IV. Haftasında böbrek dokusu. Glomerüller (→) ve tübüler dilatasyon (★). H&E X 4.	62
Şekil 8. Diyabetin VI. Haftasında böbrekte glomerüller (→), ayırt edilemeyen glomerüller (▲) ve tübüler dilatasyon (★). H&E X 4.	62
Şekil 9. Kontrol grubunda bir glomerül (G), proksimal (PT) ve distal (DT) tübüller. Mezangial matriks (→). PAS X 20.	63
Şekil 10. Kontrol grubunda bir glomerül (G), proksimal (PT) ve distal (DT) tübüller ve Makula Densa (▲). Bowman mesafesi (★). Mezangial matriks (→). Masson Trikrom X 20.	63
Şekil 11. Diyabetin II. Haftasında bir glomerülde (G) hafif mezangial matriks artışı (→). PAS X 20.	64
Şekil 12. Diyabetin II. Haftasında bir glomerül (G), proksimal (PT) ve distal (DT) tübüller. Hafif mezangial matriks artışı (→). Masson Trikrom X 20.	64

Şekil 13. Diyabetin IV. Haftasında hipertrofik bir glomerülde (G) kapiller bazal membran kalınlaşması (→) ve mezangial matriks artışı (▲), Bowman mesafesi (★). PAS X 20.	65
Şekil 14. Diyabetin IV. Haftasında glomerüler kapiller bazal membranında kalınlaşma (→). Masson Trikrom X 20.	65
Şekil 15. Diyabetin VI. Haftasında bir glomerülde mezangial matriks artışı (▲) ve Bowman mesafesinde daralma (★). PAS X 20.	66
Şekil 16. Diyabetin VI. Haftasında bir glomerülde kollajenöz madde birikimi (→) ve Bowman kapsülünün pariyetal yaprağında kalınlaşma (▲). PAS X 20.	66
Şekil 17. Diyabetin VI. Haftasında bir glomerülde mezangial hücre artışı (→), Bowman kapsülünün pariyetal yaprağında kalınlaşma (▲) ve Bowman mesafesinde daralma (★). Masson Trikrom X 20.	67
Şekil 18. Diyabetin VI. Haftasında böbrek korteksinde glomerüllerde (G), Bowman mesafesinde ileri derecede daralma (★). H&E X 20.	67
Şekil 19. Diyabetin II. Haftasında glikojenik vakuolizasyon izlenen böbrek tübülleri (★). H&E X 20.	68
Şekil 20. Diyabetin IV. Haftasında böbrek tübüllerinde Armani-Ebstein lezyonları (★). H&E X 20.	68
Şekil 21. Diyabetin VI. Haftasında böbrek tübüllerinde Armani-Ebstein lezyonları (★) yoğun olarak izlenmekte. H&E X 20.	69
Şekil 22. Diyabetin VI. Haftasında Armani-Ebstein lezyonlarında şeffaf görünümlü tübül hücreleri (→). Masson Trikrom X 40.	69
Şekil 23. Diyabetin VI. Haftasında Armani-Ebstein lezyonlarında şeffaf görünümlü tübül hücreleri (→). Toluidin Mavisı X 40.	70

Şekil 24. Kontrol grubunda tübül epitelleri ve fırçamsı kenarın (→) görünümü. PAS X 20.	70
Şekil 25. Diyabetin II. Haftasında az sayıda tübül kesitinde fırçamsı kenarda ayrılma ve bozulmalar (→). Tübül bazal membranı (▲). PAS X 20.	71
Şekil 26. Diyabetin IV. Haftasında fırçamsı kenarda ayrılma ve bozulmalar (→). PAS X 20.	71
Şekil 27. Diyabetin VI. Haftasında çok sayıda tübül kesitinde fırçamsı kenarda ayrılma ve bozulmalar (→). Tübül bazal membranında kalınlaşma (▲). PAS X 20.	72
Şekil 28. Kontrol grubunda böbrek tübül hücrelerinin sitoplazmasında çok seyrek izlenen granül benzeri tanecikler (→). Toluidin Mavisini X 40.	72
Şekil 29a,b. Diyabetin IV.(a) ve VI.(b) Haftasında böbrek tübül hücrelerinin sitoplazmasında granül benzeri tanecikler (→).Toluidin Mavisini X 40.	73
Şekil 30. Diyabetin VI. Haftasında böbrek korteksinde perivasküler ödem (★). H&E X 20.	73
Şekil 31. Kontrol grubu böbrek korteksinde distal tübüllerde (DT), (++) ghrelin immünreaktivitesi. Makula Densa(→), Proksimal tübül (PT), Glomerül (G). X 10.	76
Şekil 32. Kontrol grubu böbrek korteksinde distal tübülde (DT), (++) ghrelin immünreaktivitesi. Proksimal tübül (PT), Glomerül (G). X 20.	76
Şekil 33. Kontrol grubunda böbrek medullasında, (++) ghrelin immünreaktivitesi. Distal tübül (DT), İnce parça (→). X 20.	77
Şekil 34. Kontrol grubu böbrek papillasında toplayıcı kanallarda (★), (0) ghrelin immünreaktivitesi. X 10.	77
Şekil 35. Diyabetin II. Haftasında böbrek korteksinde distal tübüllerde (DT),	

(++) ghrelin immünreaktivitesi. Proksimal tübül (PT), Glomerül (G). X 10.	78
Şekil 36. Diyabetin II. Haftasında böbrek korteksinde distal tübüllerde (DT),	
(++) ghrelin immünreaktivitesi. Proksimal tübül (PT), Glomerül (G). X 20.	78
Şekil 37. Diyabetin II. Haftasında böbrek medullasında, (++) ghrelin	
immünreaktivitesi. Distal tübül (DT). İnce parça (→). X 10.	79
Şekil 38. Diyabetin II. Haftasında böbrek papillasında toplayıcı kanallarda (★),	
(+) ghrelin immünreaktivitesi. X 10.	79
Şekil 39. Diyabetin IV. Haftasında böbrek korteksinde distal tübüllerde (DT),	
(+++) ghrelin immünreaktivitesi. Glomerül (G). X 10.	80
Şekil 40. Diyabetin IV. Haftasında böbrek korteksinde distal tübüllerde (DT),	
(+++) ghrelin immünreaktivitesi. Proksimal tübül (PT), Glomerül (G). X 20.	80
Şekil 41. Diyabetin IV. Haftasında böbrek medullasında, (+++) ghrelin	
immünreaktivitesi. Distal tübül (DT). İnce parça (→). X 10.	81
Şekil 42. Diyabetin IV. Haftasında böbrek papillasında toplayıcı	
kanallarda (★), (++) ghrelin immünreaktivitesi. X 10.	81
Şekil 43. Diyabetin VI. Haftasında böbrek korteksinde distal tübüllerde (DT),	
(+++) ghrelin immünreaktivitesi. Glomerül (G). X 10.	82
Şekil 44. Diyabetin VI. Haftasında böbrek korteksinde distal tübüllerde (DT),	
(+++) ghrelin immünreaktivitesi. Proksimal tübül (PT), Glomerül (G). X 20.	82
Şekil 45. Diyabetin VI. Haftasında böbrek medullasında, (+++) ghrelin	
immünreaktivitesi. Distal tübül (DT). İnce parça (→). X 10.	83
Şekil 46. Diyabetin VI. Haftasında böbrek papillasında toplayıcı	
kanallarda (★), (+++) ghrelin immünreaktivitesi. X 10.	83
Şekil 47. Negatif kontrol. (0) ghrelin immünreaktivitesi. X 10.	84
Şekil 48. Pozitif kontrol. Midede ghrelin immünreaktif hücreler (→). X 10.	84

KISALTMALAR LİSTESİ

ACTH:	Adrenokortikotropik hormon
ADH:	Antidiüretik hormon
H&E:	Hematoksilen-Eozin
PAS:	Periodik Asit-Schiff
GFD:	Glomerüler filtrasyon değeri
DM:	Diabetes mellitus
SDBY:	Son dönem böbrek yetmezliği
GH:	Büyüme hormonu
IGF-1:	İnsülin benzeri büyüme faktörü
İGSÜ:	İleri glikasyon son ürünleri
GHRH:	Büyüme hormonu serbestleştirici hormon
GHS:	Büyüme hormonu salgılatıcı
GHRP:	Büyüme hormonu serbestletici peptid
GHS-R:	GHS reseptörü
GHS-R 1a:	GHS reseptör tip 1a
GHS-R 1b:	GHS reseptör tip 1b
STZ:	Streptozotosin
PBS:	Phosphate Buffered Saline
İ.v:	İntravenöz
İ.p:	İntraperitoneal
S.c:	Subkutan
İ.c.v:	İntraserebroventriküler

1.ÖZET

Ghrelın, yakın zamanda keşfedilen, insülin salgılanması ve glukoz metabolizması üzerine etkili, büyük miktarda mideden salgılanan bir hormondur. Bu çalışmada streptozotosin ile oluşturulmuş diabetes mellitusun sıçan böbrek dokusuna ve böbrek dokusundaki ghrelın immünreaktivitesine etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

Çalışmada 54 adet erişkin Wistar tipi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar çalışmanın 2., 4. ve 6. haftalarının her birinde; kontrol, intraperitoneal. 0,1 M Fosfat-sitrat verilen kontrol ve intraperitoneal 50mg/kg streptozotosin verilen diyabetik olmak üzere 9 gruba ayrıldı. Deney sonunda sıçanlar dekapite edildi ve böbrek dokuları çıkartıldı. Rutin ışık mikroskobu takibi yapılarak dokular parafin bloklara gömüldü. Bloklardan alınan kesitlere histolojik boyamalar yapıldı ve ghrelın immünreaktivitesi için avidin-biotin-peroksidaz yöntemi uygulandı.

Histolojik incelemelerde, kontrol grupları arasında herhangi bir farklılık gözlenmedi. Diyabetik gruplarda, böbrek dokusunda başta glomerüller ve tübüller olmak üzere, diyabetin altıncı haftasına doğru gittikçe artan histopatolojik değişiklikler gözlendi. Kontrol gruplarında böbrek dokusunda sadece distal tübül kesitlerinde ghrelın immünreaktivitesi izlendi. Ancak diyabetik gruplarda, distal tübüller dışında toplayıcı kanallarda da diyabetin ilerleyen haftalarında artan şiddette ghrelın immünreaktivitesi gözlendi. Distal tübül kesitlerinde gözlenen ghrelın immünreaktivitesinin şiddeti diyabetin dördüncü ve altıncı haftalarında artmıştı. Sonuç olarak, diyabette böbrek dokusunda belirlenen ghrelın immünreaktivitesindeki artış, diyabetik nefropatinin patofizyolojik mekanizmasına ghrelının de katılabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Diabetes mellitus, böbrek, ghrelın

2. ABSTRACT

Determination of Ghrelin Immunoreactivity in Kidney Tissues of Diabetic Rats

Ghrelin, a recently discovered hormone, is released largely from stomach and has effects on insulin secretion and glucose metabolism. The aim of this study was to determine the effects of STZ-induced diabetes mellitus on kidney tissues and kidney ghrelin immunoreactivity in rats.

Fifty-four adult male Wistar rats were used in this study. All rats were divided into totally 9 groups according to three time points of the study (2, 4 and 6 weeks) as control group, control group given 0.1 M Phosphate-sitrate (n=6) and diabetic group given 50 mg/kg streptozotocin intraperitoneally. The rats in all groups were decapitated at the end of 2, 4 and 6 weeks of the study. The kidneys of the rats were removed and tissue samples were processed by using routine paraffin techniques. Paraffin sections were stained with different dyeing methods. In addition, the samples were immunohistochemically stained using avidin-biotin-peroxidase method for ghrelin immunoreactivity.

There were no differences between the control groups in the histological examination. Gradually increased histopathologic changes especially in the glomerules and tubules were determined in the diabetic groups towards 6 weeks of the experiment. Ghrelin immunoreactivity was observed in both distal tubulus and collecting ducts in the diabetic groups while it was detected only in distal tubules of the control groups. The intensity of ghrelin immunoreactivity was increased at 4 and 6 weeks of the study in the diabetic groups. In conclusion, increased ghrelin immunoreactivity in the diabetic rat kidney tissues suggests that ghrelin may contribute to the pathophysiological mechanism of diabetic nephropathy.

Anahtar Kelimeler: Diabetes mellitus, kidney, ghrelin

3. GİRİŞ

3.1 Böbrek

3.1.1 Böbrek Anatomisi

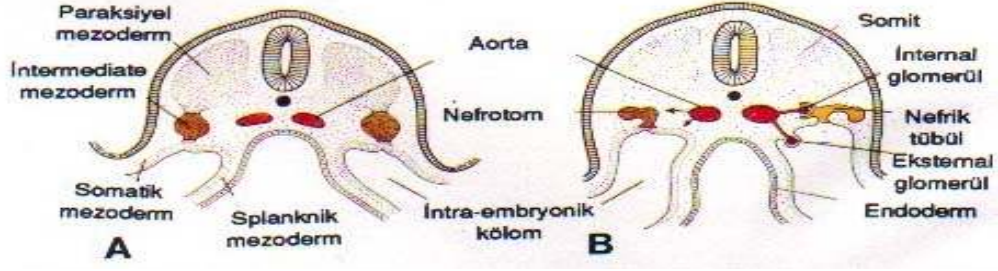
Böbrekler, karın arka duvarında retroperitoneal olarak yerleşmiş fasulye biçiminde, iri, bir çift organdır (1, 2). Columna vertebralis'in iki yanında, 12. torakal vertebra ile 3. lumbal vertebra seviyeleri arasında bulunurlar. Sağ böbrek, sol böbreğe göre karaciğer ile olan komşuluğu nedeniyle biraz daha aşağıdadır. Böbrekler yaklaşık 11 cm uzunluğunda, 6 cm genişliğinde ve 3 cm kalınlığında olup, ortalama ağırlıkları yetişkin erkeklerde 150 gr, kadınlarda ise 135 gr kadardır (3). Sağ böbrek ön yüzde karaciğerin sağ lobu, duodenumun 2. kısmı ve flexura coli dextra ve sağ glandula suprarenalis ile komşudur. Sol böbrek ön yüzde mide, dalak, pankreas, flexura coli sinistra, jejunum kıvrımları ve sol glandula suprarenalis ile komşudur. Her iki böbrek arka yüzde ise musculus diaphragma ve altta içten dışa doğru musculus psoas major, musculus quadratus lumborum ve musculus transversus abdominis ile komşudur (4, 5).

3.1.2 Böbrek Embriyolojisi

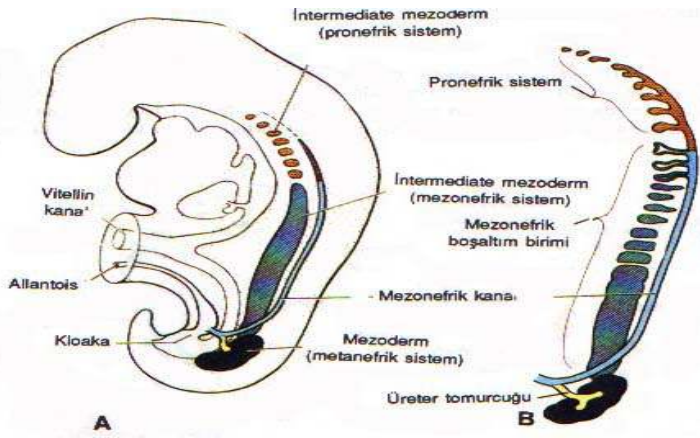
Dördüncü haftanın başında, embriyonun enine kıvrıldığı dönemde, ara mezoderm ventrale kayar ve somitlerle ilintisini keser. Beden yöresinde, ilkel aortanın her iki yanında uzanan bu mezoderm kabartısı, ürogenital kabartı olarak adlandırılır. Bu kabartı, üriner ve genital sistemleri meydana getirecektir. Üriner sistemi meydana getiren ürogenital kabartı parçasına nefrojenik kordon denir. Nefrojenik kordonun servikal ve yukarı torasik bölgeleri segmentli düzenlenmiş hücre topluluklarından ibaret olup, segmentlere nefrotom denir. Nefrojenik kordonun aşağı torasik, lumbal ve sakral yöreleri ise segmentsizdir. Bu segmentli ve

segmentsiz yörelerde birbirini izleyen üç üriner sistem gelişir. Sırasıyla segmentli yörede pronefroz, segmentsiz yörelerde mezonefroz ve metanefroz gelişir.

Pronefroz geçicidir ve işlev görmez. Dördüncü haftanın sonunda, pronefroz tübüller sisteminin tüm belirtileri kaybolur. Mezonefroz da geçicidir. Kalıcı böbrekler ya da metanefroz oluşuncaya kadar ara böbrekler olarak işlev görür (6). Mezonefroz ve mezonefrik kanallar, üst torasikle üst lumbar (L3) segmentlerin intermediate mezoderminden gelişirler. Gelişimin 4. haftasının başlarında, mezonefroza ait ilk boşaltım tübülleri belirmeye başlar. Bu tübüller boyca hızla uzarlar, S şeklinde bir halka halini alırlar ve medial uzantılarının ucunda kapiller yumaktan oluşmuş bir glomerül elde ederler. Glomerülün çevresinde bu tübüller Bowman kapsülünü oluştururlar. Kapsül ve glomerül birlikte renal korpuskülü meydana getirirler. Tübülüs lateralden, mezonefrik veya Wolffian kanalı olarak bilinen longitudinal toplayıcı kanala girer. İkinci ayın ortasında, mezonefroz orta hattın her iki yanında büyük ve oval şekilli bir organ haline gelir. Bu sırada, gelişmekte olan gonad da mezonefrozun medialinde yer alır. Kaudaldeki tübüller farklanmaya devam ederken, kranial tübüller ve glomerüllerin çoğunluğu dejenere olarak 2. ayın sonunda tümüyle yok olur. Erkeklerde kaudal tübüllerin bir kısmı ve mezonefrik kanal genital sistemin oluşumunda yer almak üzere sebat ederken, kadınlarda tümüyle kaybolur (Şekil 1,2) (7).



Şekil 1. Gelişimin değişik dönemlerinde embriyonun nefrik tübül oluşumunu gösteren şematik transvers kesitleri. **A.** 21 gün, **B.** 25 gün. (Langman's Medikal Embriyoloji'den alınmıştır).



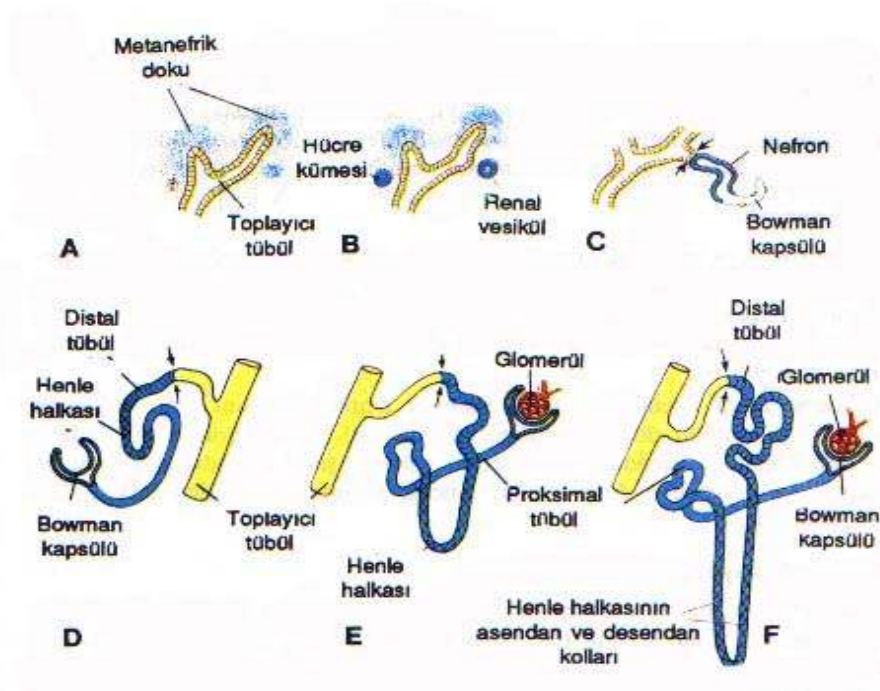
Şekil 2. **A.** İntermediate mezoderm pronefrik, mezonefrik ve metanefrik sistemlerinin ilişkisini gösteren çizim. **B.** 5 haftalık embriyonda pronefrik ve mezonefrik sistemlerin boşaltım tübüllerinin şematik çizimi. (Langman's Medikal Embriyoloji'den alınmıştır).

Metanefroz ya da kalıcı böbrek, 5.hafta başlarında gelişmeye ve 5 hafta sonra da işlev görmeye başlar. İki yerden köken alarak gelişir:

- 1- Üreter dalı ya da metanefrik divertikulum,
- 2- Metanefrik blastem ya da metanefrik mezoderm.

Metanefrik blastem dokusundan, kalıcı böbreğin işlev gören birimi nefron, üreter dalından ise kalıcı böbreğin toplama boruları gelişmektedir. Metanefrozun bu her iki taslağıda mezodermal kökenlidir.

Metanefrik blastem dokusu içinde dallanarak yayılan yeni oluşmuş toplama borularının distal son kısımları, metanefrik blastem dokusu tarafından bir kep şeklinde örtülür. Kavis yapmış her bir toplama borusunun son kısmı, metanefrik blastem dokusundaki bu kep yapmış mezoderm hücrelerini indükleyerek renal ya da metanefrik vezikülleri oluştururlar. Bu veziküller nefronların kökenidirler. Önce uzayan bu veziküller ilkel nefronları meydana getirirler. Proksimal sonları kapiller yumağı tarafından invagina olur ve böbrek cisimciğini yapar. Distal sonları toplama borularına açılır. Böylece, böbrek cisimciğiyle toplama boruları arasında bağlantı kurulmuş olur. Nefronun daha sonra uzaması tübüllerin kıvrılmasıyla ergindeki yapısını kazanır (Şekil 3) (6).



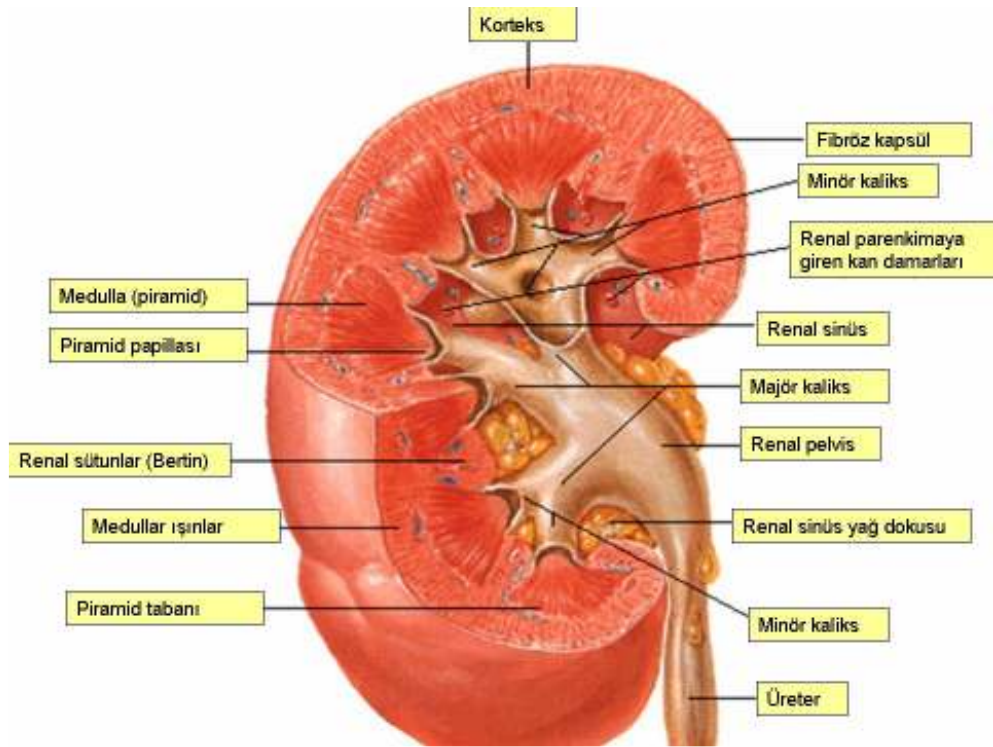
Şekil 3. Metanefrik boşaltım biriminin gelişimi (A'dan F'ye kadar). Oklar, boşaltım biriminin (mavi) toplayıcı sistemle (sarı) açık ilişkiye girerek, idrarın glomerüllerden toplayıcı kanallara akmasını sağladığı noktayı göstermektedir. (Langman's Medikal Embriyoloji'den alınmıştır).

Kalıcı böbrekler, 9. haftadan başlayarak ftal hayat boyunca idrarı aktif olarak oluşturular. Prematüre böbrekler dışında nefron oluşmasının doğumda sona erdiği bilinmektedir. Böbreklerin işlevsel olgunlaşması ise doğumdan sonra olmaktadır (6).

3.1.3 Böbrek Histolojisi

Böbrekler dıştan capsula fibrosa denilen ince ve dayanıklı bir bağ dokusu kapsülü ile sarılıdırlar. Kapsülün dışı, travmadan korunmayı sağlayan kalın bir yağ dokusuyla kuşatılmıştır (8). Böbreğin dış kenarı konvektir. Her böbreğin medial yüzü ise konkavdır ve fibröz kapsül burada kesintiye uğrar. Medial kenarın orta kısmında organın hilusu yer alır. Hilus organa arterler ve sinirlerin girdiği venler, lenf damarları ve üreterin çıktığı yerdir. Üreterin st ucu hilusu dolduran bir genişleme yaparak pelvis renalis oluşturur. Pelvis renalis, böbrek dokusu içine kaliks majör denilen 2–3 tane kese şeklinde uzantı gönderir. Her kaliks majrden ise sayıları toplam 8–12 tane olan kaliks minörler dallanır. Tüm böbrek parankimasi hilustan içeriye doğru uzanan ve sinüs renalis (böbrek boşluğu) denilen bir boşluğu kuşatır (2, 9). Böbrek uzunlamasına ortadan kesilip, iki eşit kısıma ayrıldığında çıplak gözle iki ayrı bölge gözlenir. Bunlar kırmızımsı kahve renkteki daha koyu dış kısım olan korteks ve daha soluk iç kısım olan medulladır (1). Medullada sayıları 10–18 kadar olan ve medullar piramitler (renal piramitler) olarak bilinen konik ya da piramidal şekilli yapılar bulunur. Medullar piramitlerin tabanı kortekse bakar ve buradan kortekse doğru birbirine paralel olarak uzanan tübül demetleri veya medullar ışınlar (stria medullaris) ıkar. Her medullar ışın, böbreğin fonksiyonel birimleri olan birkaç nefronun düz parçası ile birlikte bir ya da çok sayıda toplayıcı kanaldan oluşur. Bir medullar piramid ve etrafını saran kortikal doku böbrek lobu (renal lob) adını alır (9). Her böbrek lobunun tepesi, bir minor kaliksle çevrelenen bir papillada

sonlanır. Her minor kaliks, bir papilladan gelen idrarı toplar. Minor kaliksler, major kaliksleri, ardından pelvisi oluşturmak üzere birleşirler (10). Komşu medulla piramitleri korteks dokusunun medullaya yaptığı uzantılar olan Bertin sütunlarıyla birbirinden ayrılmışlardır (11). Aslında Bertin sütunları metanefrik blastemdeki primitif lobların kaynaşma bölgelerinden arta kalan yapılardır (Şekil 4) (10).



Şekil 4. Böbreğin yapısı (Netter'den modifiye edilmiştir).

İnsan böbreği çok loblu bir organdır. Böbrekte lop ve lopçuk kavramları arasındaki farklılıklar kısaca şöyle özetlenebilir; Bir medulla piramidi ve etrafını saran kortikal doku bir böbrek lobunu oluştururken, bir medulla ışını ilişkili olduğu korteks dokusuyla birlikte bir böbrek lopçuğunu yapar. İki komşu interlobüler arterle yan yana gelmiş korteks bölümü olan böbrek lopçuğu, tek bir toplayıcı kanal (Bellini

kanalı) ve ona boşalan çevredeki nefronlardan oluşmaktadır. Medulla ışını ise bu lopçuğun eksenidir.

Böbrek parenkiması içerisinde yer alan ürinifer tübüller, böbreğin işlevsel birimi olarak kabul edilirler. Ürinifer tübüller; nefron ve toplayıcı kanal olmak üzere embriyolojik olarak farklı iki kısımdan oluşurlar (10, 11). Böbreğin fonksiyon gören birimine nefron denir. Her böbrek 1–4 milyon nefron içerir. Her nefron genişlemiş bir bölüm olan renal cisimcik (böbrek cisimciği), proksimal kıvrıntılı tübül, henle kangalının ince ve kalın uzantıları ve distal kıvrıntılı tübülden oluşmaktadır. Toplayıcı kanallar ise nefronlarda üretilen idrarı toplayarak böbrek pelvisine iletirler (9). Renal cisimciklerin dağılımına bağlı olarak nefronlar; kortikal veya jukstamedullar olabilirler. Kortikal nefronların böbrek tübülleri medullaya ulaşmayan kısa bir Henle kulpuna sahiptir. Jukstamedullar nefronların böbrek tübülleri, medulla derinliklerine uzanan daha uzun bir Henle kulpuna sahiptir (10). Her jukstamedullar nefron yaklaşık 40 mm uzunluğundadır (11). Bütün nefronların ancak yaklaşık yedide biri jukstamedullar nefronlardır (9).

3.1.3.1 Renal cisimcik ve glomerül

Renal cisimciğin çapı yaklaşık olarak 200 µm'dir ve kapiller bir yumak olan glomerülden oluşmuştur. Glomerül ise üç bileşenden oluşur;

1. Pencereci endotel hücreleri ile döşenen glomerüler kapillerler,
2. Mezangial matrikse gömülü mezangial hücrelerce oluşturulan mezangium,
3. Bowman kapsülünün visseral yaprağını oluşturan podositler (9, 10).

Glomerül, Bowman kapsülü olarak adlandırılan iki tabakalı epitelyal bir kapsülle sarılmış durumdadır. Kapsülün iç tabakası (visseral tabaka) glomerülün kapillerlerini örter. Dış tabaka renal cisimciğin en dıştaki sınırını oluşturur ve

Bowman kapsülünün pariyetal tabakası adını alır. Bowman kapsülünün iki tabakası arasında, kapiller duvarından ve visseral tabakadan süzülen sıvının toplandığı idrar boşluğu bulunur. Her renal cisimcikte, afferent arteriyollerin girdiği ve efferent arteriyollerin çıktığı bir damar kutbu, proksimal tübüllerin başladığı noktada ise bir idrar kutbu bulunur.

Glomerüler filtratın süzüldüğü ilk bariyer olan glomerüler kapillerlerin endotel hücreleri ince bir sitoplazmaya sahiptir. Organellerin çoğu sitoplazmanın çekirdek çevresinde kalınlaştığı kısımda yoğunlaşmıştır. Pencereci kapillerlerin bulunduğu diğer organlarla kıyaslandığında, 70–90 nm çapında olan pencereleri daha büyük ve daha fazla sayıdadır. Ayrıca bu endotel hücreleri arasında, diğer pencereci kapillerlerde gözlenen ince diyafram yapısı bulunmaz (9). Böylelikle endotel hücreleri, su, üre, glikoz ve küçük proteinlere geçirgendir. Endotel hücrelerinin yüzeyi büyük anyonik proteinlerin geçişini engelleyen negatif yüklü glikoproteinlerle kaplıdır (10).

Embriyonik gelişim sırasında Bowman kapsülünün pariyetal tabakasının epiteli nispeten değişmeksizin kalırken içteki visseral tabaka büyük ölçüde modifiye olur. Bowman kapsülünün visseral yaprağını oluşturan podositler, yassı, ayakçıklı ve çekirdeklerinin olduğu kısımları kabarık olarak gözlenen hücrelerdir. Sitoplazmalarında çok sayıda serbest ribozom, belirgin bir golgi kompleksi, mitokondriyonlar, kasılabilmeyi sağlayan aktin mikrofilament demetleri bulunmaktadır (8, 9). Bu iç tabakada bulunan ve podosit adı verilen hücrelerin gövdelerinden birkaç primer uzantı şekillenir. Her bir primer uzantı pedisel denen çok sayıda sekonder uzantı oluşturur (9). Pedisellerin de bütün yüzeyi podokaliksin adı verilen negatif yüklü siyaloprotein yapısındaki glikokaliksle kaplıdır (11).

Podositlerin hücre gövdeleri ve primer uzantıları bazal laminaya değmezken, pediseller glomerül kapillerlerine sarılmış durumda olup 25 nm'lik sabit bir mesafede bazal lamina ile doğrudan temas halindedirler. Bu aralıklar filtrasyon (süzme) yarıklarını oluştururlar. Filtrasyon yarıkları arasında adeta bir köprü gibi uzanan 6 nm kalınlığında bir diyafram bulunmaktadır (9). Yani filtrasyon yarıkları, membranöz materyal olan filtrasyon yarığı diyaframı ile birbirlerine bağlanmaktadır. Filtrasyon yarığı diyaframı, aktin filamentlerine pedisel içinden CD2AP proteini ile tutunan nefrin proteininden oluşur. Nefrinin endotel pencerelerinden ve bazal laminadan moleküllerin geçişini geciktirdiği sanılmaktadır (10).

Glomerül kapillerlerindeki endotel hücreleriyle, bunların dış yüzeyini örten podositler arasında kalın bir bazal membran (240–340 nm) bulunmaktadır. Bu kalın bazal membran, kapiller ve podositin oluşturduğu bazal laminaların kaynaşmasından meydana gelmiştir. Bazal lamina; tip IV kollajen, fibronektin, laminin ve heparan sülfattan zengindir. Elektron mikroskobu ile incelendiğinde glomerül bazal membranında üç tabakalı bir yapı gözlenir. Ortada elektron yoğun koyu bir tabaka (lamina densa) ve her iki yanda elektron geçirgen açık iki tabaka (endotel tarafında lamina rara interna ve podosit tarafında lamina rara eksterna) yer almaktadır. Podositlerin ayakcıkları (pedisel), ortak bazal membran ve glomerül kapillerlerinin pencereli endotel hücreleri hep birlikte böbreğin süzücü membranını oluştururlar. Bu yapı kapillerlerdeki kanla idrar boşluğunu birbirinden ayıran böbreğin süzücü duvarını oluşturan bir filtrasyon bariyeridir (8, 9). Normal şartlar altında bu filtrasyon bariyeri hücreler ve büyük moleküllu proteinlerin geçişine izin vermemektedir (1). Glomerüler süzme bariyerinin bileşenlerine ek olarak, plazma ultrafiltratındaki moleküllerin geçişini kontrol eden diğer sınırlayıcı faktörler ise ebat ve elektrik

yüküdür. Üç buçuk nanometreden daha küçük ve pozitif yüklü veya nötr moleküller daha kolay süzülürler ve anyonik olan albumin (3.6 nm) ise zor süzülmemektedir (10).

Glomerül kapillerlerinde, podositler ve endotel hücrelerinin yanı sıra iki ya da daha fazla sayıdaki kapilleri ortak olarak saran bazal laminanın kılıfının bulunduğu bölgelerde kapiller duvarına tutunan mezangiyal hücrelerin de yer aldığı bilinmektedir (9). Glomerüler kapillerler arasında bulunan mezangiyum hücreleri ve mezangial matriksten oluşan intraglomerüler yapıya mezangiyum denilmektedir. İntraglomerüler mezangial hücreler, ekstraglomerüler mezangiyal hücrelerle devam edebilirler. Ekstraglomerüler mezangial hücreler makula densa, afferent ve efferent glomerüler arteriyollerin sınırladığı boşlukta bulunurlar. Mezangial hücreler düz kas hücreleri ve makrofajların özelliklerine sahip özelleşmiş perisitlerdir. Bu hücreler; çoğalabilme yeteneğine sahip, kasılabilen, fagositoz yapabilen, matriks ve kollajen sentezleyen, prostoglandin ve endotelin salgılayan hücrelerdir. Endotelin afferent ve efferent glomerüler arteriyollerin kasılmasını uyarır. Süzme bariyerini geçemeyen immunoglobulinler ve komplement moleküller mezangial matrikse girebilirler. Matrikste immunoglobulinlerin birikimi, glomerülün sonuçta tıkanmasına yol açan immün yanıtın tetikleyicisi olan sitokinlerin mezangial hücrelerce üretimini artırır (10).

3.1.3.2 Proksimal tübül

Nefronun en uzun ve geniş kısmı olan proksimal tübül renal cisimciğin idrar kutbundan başlar. Yaklaşık olarak 60 µm çapında ve 14 mm uzunluğunda olup korteksin çoğunluğunu proksimal tübül kesitleri oluşturur. Proksimal tübülün kıvrıntılı ve düz parça olmak üzere iki kısmı vardır. Kıvrıntılı parça kortekste yer alırken kıvrıntılı parçanın devamı olan düz parça medullada seyrederek Bowman kapsülünün pariyetal yaprağının tek katlı yassı epiteli proksimal kıvrıntılı tübüllerde

tek katlı kübik epitel şeklinde devam eder. Bu epitel hücrelerinin yüksekliği fonksiyonel duruma bağlı olarak kübikten prizmatiğe değişebilir. Işık mikroskobu düzeyinde incelendiğinde proksimal kıvrıntılı tübül hücrelerinin eozinofilik ve granüllü bir sitoplazmaya sahip oldukları gözlenmektedir (11). Bu eozinofilik boyanma, epitel hücrelerinin sitoplazmalarında yoğun mitokondriyonlar içermelerinden kaynaklanmaktadır. Epitel hücrelerinin merkezinde küre biçiminde bir çekirdek bulunur. Her enine kesitte, üç ile beş adet hücre çekirdeği gözlenmektedir. Epitel hücrelerinin apeksinde fırçamsı kenarı oluşturan, yaklaşık 1 µm uzunluğunda çok sayıda mikrovilluslar bulunur. Hücrelerin apikal sitoplazmalarında mikrovillusların tabanları arasında makromolekülleri emme kapasitesinde etkin rol oynayan çok sayıda kanalikül bulunmaktadır. Apikal membranların içe doğru yaptığı girintiler pinositotik vezikülleri oluşturur. Makromoleküllerin parçalandığı yer olan lizozomlarla pinositotik veziküller kaynaşır ve oluşan monomerler dolaşıma geri dönerler (9).

Proksimal kıvrıntılı tübül hücreleri apikal sıkı bağlantılarla bir arada tutulan, geri emilim için uygun yapısal özelliklere sahip hücrelerdir. Yoğun hücre zarı kıvrımları ve interdijitasyonları içeren bir bazolateral bölgeye sahiptirler. Hücre zarı kıvrımları daha geniş bir yüzey oluşturarak iyon geçişini kolaylaştırmaktadır. İyonların, Mg^{+2} 'a bağımlı Na^+ , K^+ aktive olmuş pompa ile aktif transportu için adenosintrifosfatı sağlayan, hücre zarı kıvrımları arasına ve hücrenin uzun eksenine paralel olarak yerleşmiş uzun mitokondriyonlar bulunmaktadır (10). Komşu hücreler arasındaki lateral membran kenetlenmesinin çok sıkı olması yüzünden ışık mikroskopunda incelenen proksimal tübül hücreleri arasındaki hücre sınırları belirgin olarak seçilemez. (9).

3.1.3.3 Henle kulpu

Henle kulpu, proksimal ve distal kıvrıntılı tübüller arasındaki kısımdır. Proksimal tübülün düz kısmı, ince (ara) parça ve distal tübülün düz parçasından meydana gelmiş U şeklinde bir yapıdır. Başlıca dört kısımdan ibarettir; Proksimal tübülün düz kısmı, ince inen kol, ince çıkan kol ve kalın çıkan kol (8). Medullanın dış kısmında, dış çapı 60 μm olan kalın inen kol birdenbire 12 μm 'ye dek daralarak inen kolun ince bölümü olarak devam eder. Nefronun bu bölümünün lümeni, duvar epitelinin tek katlı yassı epitel olması nedeniyle geniştir. Epitelin yalnızca çekirdekleri lümene doğru hafif çıkıntı yapar.

Henle kulpu çok uzun olup medullanın derinliklerine dek inen jukstamedullar nefronların, medullar interstisyumda hipertonic gradyanı sağlama konusunda özel bir önemleri vardır. Medullar interstisyumdaki hipertonic ortam böbreğin hipertonic idrar üretme yeteneğinin temelini oluşturmaktadır (9). Henle kulpu idrarın konsantrasyon-dilüsyon işleminin oluşumunda etkili olan nefron segmentidir. İdrar maksimum 1200 miliosmol/litre (mosm/lit)'ye kadar konsantre edilebilirken, 50–100 mosm/lit'ye dek dilüe edilebilmektedir. Vücutta fizyolojik koşullarda sıvı ve solüt birikmemesi için çıkarılması gereken minimum idrar miktarı yaklaşık 0,5 lt'dir. İdrarın konsantre edilmesini sağlayan zıt akımlar, zıt akımlar arasındaki permeabilite farkı ve enerji kaynağı henle kulpunda mevcuttur. Girişte izotonik olan filtrat henle kulpunu terk ederken hipotonik olur. Henle kulpunun inen kolu suya geçirgen olup, sodyuma geçirgen değildir. Bunun sonucunda su interstisyel aralığa emilir ve henlenin tepesine kadar lümen içerisindeki filtrat giderek hipertonic olur. Susuzluk halinde bu 1200 mosm/lit'ye ulaşabilmektedir. Bu arada serbest su emilimi nedeniyle medulla ozmolalitesi ise azalır. Henle kulpunun çıkan kolu ise tam tersine sodyuma geçirgen olup, suya geçirgen değildir. Çıkan ince kolda NaCl interstisyel aralığa

medulla-tübül ozmolalite farkı nedeniyle pasif olarak emilirken, lümene üre salgılanır. Bu bölüm suya geçirgen olmadığından lümendeki sıvı gittikçe dilüe olur. Aynı NaCl emilimi henlenin kortikal çıkan kalın kolunda Na/K/Cl pompası ile devam eder. Henlenin çıkan kalın kısmı antidiüretik hormona (ADH) varlığında bile suya geçirgen değildir. Sonuç olarak; lümendeki sıvı distal tübüle ulaştığında hipotoniktir (yaklaşık 150 mosm/lt). Henle kulpunun inen kolundan suyun % 40'ı, çıkan kolundan da glomerüler filtrata geçen sodyumun % 40–45 'i geri emilir. Henle kulpunun inen koluna potasyum ve üre salgısı olurken, henle kulpunun çıkan kolunda potasyum geri emilimi olur. Magnezyumda en çok henle kulpundan geri emilir (12).

3.1.3.4 Distal tübüller

Henle kulpunun çıkan kalın kolu kortekse girdiğinde histolojik yapısını korur, ancak bükümlenerek nefronun son kısmı olan distal kıvrıntılı tübüllerini oluşturur. Bu tübüller tek katlı kübik epitelle döşelidir. Distal kıvrıntılı tübüllerin, 4–5 mm uzunluğu ve yaklaşık 25–45 µm çapı ile proksimal tübüller ile kıyaslandığında daha kısa ve dar lümenli olduğu görülmektedir. Distal tübül epitel hücreleri proksimal tübül epitel hücrelerinden daha küçüktürler ve fırçamsı kenarları bulunmaz. Histolojik kesitlerde proksimal tübüllerle karşılaştırıldığında ise, distal tübüller daha soluk ve geniş lümenli olarak gözlenmektedirler. Ayrıca proksimal tübüllerden daha kısa olduklarından, histoloji preparasyonlarında korteksde daha az sayıda distal tübül kesidi gözlenmektedir. Herhangi bir böbrek cisimciği çevresindeki alanda proksimal kıvrıntılı tübül kesitinin distal kıvrıntılı tübül kesitine oranı yaklaşık olarak yedide bir kadardır. Kesitlerde distal tübül duvarlarında daha fazla sayıda hücre çekirdeği izlenmektedir. Proksimal tübüllere özgü olan apikal kanalikül ve veziküller de distal tübül hücrelerinde görülmez. Distal kıvrıntılı tübül hücrelerinin bazal

membranlarındaki yoğun invajinasyonlar ve bunlarla ilişkili mitokondriyonlar, bu hücrelerin iyon taşınmasında rol oynadıklarını göstermektedir (9, 11).

Nefronun idrarın dilüe edilmesinden birinci derecede sorumlu olan kısmı, distal kıvrıntılı tübüldür. NaCl ve suyun % 3-5'i burada geri emilir. Bu bölgede sodyum geri emilimini etkileyen faktörler, idrarın dilüe edilmesini bozabilirler. Distal tübül son kısmı ve kortikal toplayıcı kanallar aldosteronun etki gösterdiği nefron kısımlarıdır. Aldosteron konsantrasyonu yeterince yüksek olduğunda distal tübüllerde sodyumun geri emildiği, potasyum iyonlarının dışarı verildiği bir iyon değişim bölgesi bulunur. Burası total su ve tuzları kontrol eden düzeneğin bulunduğu bölgedir. Distal tübül aynı zamanda tübüldeki idrara hidrojen ve amonyum iyonlarını salar. Bu etkinlik kandaki asit baz dengesinin korunmasında çok önemlidir. Distal tübülün ilk kısımları suya geçirgen değilken (ADH'a cevapsız), son kısım ve kortikal toplayıcı kanallarda ADH etkisi görülür ve ADH duyarlı su emilimi gerçekleşir. Ancak ADH yokluğunda bu kısım suya geçirgen değildir. Bu segmentte ayrıca bikarbonat, kalsiyum ve magnezyum geri emilimi de gerçekleşmektedir (9, 12).

Distal kıvrıntılı tübüller kortekste izledikleri yol boyunca kendi nefronlarına ait renal cisimciğin damar kutbuna değerkler. Bu değme noktasında afferent arteriyol ve distal tübül modifiye olur (9). Distal kıvrıntılı tübül hücreleri bu bölgede prizmatik hale dönüşürerek genellikle diğer distal tübül hücrelerinden daha dar ve uzun olarak gözlenirler. Hücrelerin çekirdekleride bir araya toplanarak adeta biri diğerinin üzerine yerleşmiş gibi bir görünüm almıştır. Mikroskopik preparatlarda hücre çekirdeklerinin yakın yerleşimi yüzünden daha koyu görünen bu distal tübül segmentine makula densa adı verilir (1, 8, 9, 11).

Elektron mikroskobu düzeyinde makula densa hücrelerinde organellerin daha az olduğu ve diğer distal tübül hücrelerinden farklı olarak golgi kompleksinin bazale

yakın yerleştiği gözlenmiştir. Ayrıca mitokondriyonlar da bazal yerleşimli değil, sitoplazmaya dağılmış bir halde bulunmaktadır (8–10). Makula densa nefron fonksiyonunun kontrolünde önemli rol oynar (13). Aynı bölgede afferent (nadiren efferent) arteriyolün tunika mediasındaki düz kas hücreleri de modifiye olmuştur. Normal düz kas hücrelerinin çekirdeklerinden farklı olarak yuvarlak çekirdeklere ve sitoplazmalarında Periodik Asit-Schiff (PAS) tekniği ile boyanabilen özel granüllere sahiptirler. Bu hücelere jukstaklomerüler hücreler adı verilmektedir (1, 8, 9, 11). Jukstaklomerüler hücreler renin sentezler, depolar ve serbest bırakırlar. Makula densa henle kulpunun kalın çıkan kolundan gelen idrardaki NaCl içeriğini algıladıktan sonra renin salınımını gerçekleştirir. NaCl'ün makula densa'ya aktarımı azaldığında renin salınımı artar. Tersine NaCl arttığında, renin salınımı azalır. Makula densa, jukstaklomerüler hücreler ve ekstraklomerüler mezangiyal hücreler (lacis hücreleri ya da polkissen) birlikte küçük bir endokrin yapı görevine sahip olan jukstaklomerüler aygıtı oluştururlar. Ekstraklomerüler mezangiyal hücreler birbirlerine ve jukstaklomerüler hücelere gap junctionlarla bağlanmışlardır (10).

Her iki böbreğin tüm nefronlarından birim zamanda geçen plazmadan üretilen glomerüler filtrat miktarı glomerüler filtrasyon değeri (GFD) olarak bilinir. Bu değer normalde yaklaşık olarak 120–125 ml/dk'dır (12). Arteriyel kan basıncında belirgin değişikliklere karşın böbrek içi feedback mekanizmalar normalde böbrek kan akımını ve GFD'yi oldukça sabit tutarlar. Örneğin kan basıncında 75 mmHg'ya kadar kadar varan düşme ve 160 mmHg'ye kadar yükselmeler GFD'de sadece yüzde bir- iki kadar bir değişiklik yapar. Böbrek kan akımı ve GFD'indeki bu görece sabitlik otopregülasyon olarak adlandırılır (13). Jukstaklomerüler aygıt, renal kan akışı ve glomerüler süzmenin otopregülasyonu ile ilgili tübüloglomerüler geri besleme (feedback) mekanizmasının bileşenlerinden biridir. Diğer bileşen ise

jukstaglomerüler hücreleri uyaran sempatik (adrenerjik) sinir lifleridir. Renin salınımı adrenerjik sinir liflerinden salınan norepinefrin ve dopaminle artırılır (10).

3.1.3.5 Toplayıcı tübül ve kanallar

Distal kıvrıntılı tübüllerden geçen idrar, birbirlerine bağlanarak daha büyük düz toplayıcı kanalları oluşturan toplayıcı tübüllere boşalır. Bu kanallar Bellini papiller kanalları adını alır ve piramidlerin uçlarına doğru giderek genişler. Küçük toplayıcı tübüller kübik epitelle döşelidir ve çapı ortalama 40 µm'dir. Bu tübüller medullanın derinliklerine doğru indikçe hücrelerinin boyu uzar ve prizmatik olurlar. Işık mikroskobu ile bakıldığında toplayıcı tübül ve kanal hücrelerinin hücrelerarası sınırları net olarak seçilebilir, çünkü bitişik hücreler arasında lateral kenetlenmeler bulunmamaktadır. Piramidlerin ucuna yakın bölümlerde toplayıcı kanalın çapı 200 µm'dir (9). Bellini papiller kanalları böbrek papillasının tepesinde sonlanır. Papilla yüzeyinde bu kanalların açıldığı çok sayıdaki delikler papilla yüzeyine elek biçiminde bir görünüm verdiği için bu bölgeye "area cribrosa" adı verilmektedir (11). Toplayıcı tübüller esas hücreler ve interkalat hücreler olmak üzere iki farklı hücre tipi içerirler. Esas hücreler soluk, açık renkli boyanan, interkalat hücreler ise koyu boyanan hücrelerdir. Esas hücreler, az sayıda mitokondriyon içerirler ve bazolateral yüzeyleri az sayıda katlantılara sahiptir. Sodyum ve suyu geri emerler, Na/K-ATPaz pompasına bağımlı durumdaki potasyumu salgırlar. İnterkalat hücrelerin mitokondriyonları yoğundur ve asit baz dengesinin önemli düzenleyicileridir. Aynı zamanda potasyumu da geri emer ve hidrojen salgırlar (10). Medullada gerçekleştirilen idrar yoğunlaştırma işleminde en önemli rolü toplayıcı kanallar oynamaktadır (9).

3.1.3.6 Böbrek interstisyumu

Nefronlar, kanallar, kan ve lenf damarlarını çevreleyen böbrek parenkiminin bağ dokusuna interstisyel doku adı verilmektedir. Bu doku miktarı korteksten medullanın iç tarafları ve papillaya doğru gidildikçe artmaktadır. Kortekste başlıca iki hücre tipi ayırtedilmektedir. Fibroblastlara benzeyen ve komşu peritübüler kapillerler ile tübüllerin bazal membranı arasında bulunan birinci tip hücreler interstisyumun ekstrasellular matriksinin glikozaminoglikan bileşenleri ve kollajeni sentezler. İkinci tip hücreler ise daha az sayıda bulunan makrofaj tipi hücrelerdir. Medulladaki başlıca interstisyel hücreler ise miyofibroblastlara benzeyen, sitoplazmalarında aktin filamanları bulunan hücrelerdir. İyi gelişmiş bir golgi kompleksi, lizozomlar ve bol granüllü endoplazmik retikulum içerirler. Sitoplazmalarındaki lipid damlacıkları diüretik durumla ilişkili olarak artmakta veya azalmaktadır. Bazı deneysel bulgular bu hücrelerin kan basıncını azaltan hormon benzeri bir madde salgılayabileceklerini önermesine rağmen bugüne kadar böyle bir madde izole veya karakterize edilememiştir. Ayrıca prostosiklin ve prostoglandinlerin de interstisyumdan sentezlenebildiği bildirilmektedir (1).

3.1.3.7 Böbreğin kan dolaşımı

Böbreğin temel görevi, inen aortadan dallanan böbrek arterlerinden sağlanan kanı süzmektir. Böbrekler dakikada kalp debisinin % 20'si kadarını alır ve dakikada kanın 1,25 litresi kadarını süzer. Vücudun tüm kanı her beş dakikada bir böbreklerden geçer. Kalp debisinin % 90'ı böbrek korteksine; kanın % 10'u ise medullaya gider. Dakikada yaklaşık olarak 125 ml filtrat üretilir fakat bu miktarın 124 ml'si geri emilir. 24 saatte 180 litre ultrafiltrat sıvısı üretilir ve idrar taşıyıcı tübüllerin içerisinden nakledilir. Bu miktarın 178,5 litresi tübüler hücrelerce tekrar alınarak kan dolaşımına geri dönerken sadece 1,5 litre kadarı idrar olarak atılır (10).

Her böbrek kanı aorta abdominalisin dalı olan renal arterden alır. Renal arter organa girmeden önce genellikle iki dala ayrılır. Bu dalların biri pelvis renalisin önünden, diğeri arkasından geçerek tekrar dallanır. Bu büyük segmental arterler arasında anastomozlar yoktur. Bu arterler tekrar dallanırlar, bu dallardan renal piramitlerin kenarları boyunca medullayı geçen birçok interlobar arterler oluşurlar. Korteks medulla kavşağında, interlobar arterler arkuat arterleri meydana getirmek için sağ taraflarından birçok dal verirler ve dikey yollarını yatay yönde değiştirerek kortikomedüller sınır boyunca akarlar. Arkuat arterlerden dik açılarla dallanan interlobüler arterler ise böbrek kapsülüne dik şekilde korteks içinde ilerlerler. İnterlobüler arterler arasında hiç anastomoz bulunmaz. Bu, renal patolojide arteriyel tıkanma sonucu ortaya çıkan fokal nekrozu anlamada önemli bir kavramdır. İnterlobüler arterlerden, glomerül kapillerlerine kan taşıyan çok küçük dallar ayrılır. Her bir dal bir glomerulusa girerek afferent arteriyolü oluşturur. Afferent arteriyolü, glomerül içinde dallanarak kapillerlere ayrılır. Bu kapillerler sonra tekrar birleşerek efferent arteriyolü oluşturur ve glomerülden çıkar (1, 8–11). Böbrek cisimciğinin yerleşimine bağlı olarak efferent glomerüler arteriyolü iki farklı kapiller ağ oluşturur. Bunlardan birincisi yüzeysel ünifer (idrara taşıyan) tübüllerin korteksdeki parçalarını çevreleyen ve stellat (yıldızsı) vene boşalan peritübüler kapiller ağıdır. İkincisi ise vaza rekta (düz damarlar) dır. Korteks medulla kavşağına yakın olarak yerleşik efferent arteriyollerin çok sayıda dallanması ile şekillenen vaza rektanın inen (arteriyel) bileşenleri, ünifer tübüllerin medulla kısımlarına paralel olarak, geriye doğru kıvrılarak medullaya doğru uzanır ve korteks medulla kavşağına çıkan (venöz) damarlar olarak geri döner (10). İnen damar sürekli tip kapiller özelliği gösterirken, çıkan damarın endoteli pencerelidir. Glomerülden süzülen kanı taşıyan bu damarlar medullanın beslenmesini ve oksijenlenmesini sağlarlar. Kangal biçiminde

yapılanmışlardır. Dış korteksteki ve böbrek kapsülündeki kapillerler, yıldızsı venleri oluşturmak üzere birleşirler. Venler de arterlerle aynı yolu izler ve aynı isimleri alırlar. Kan, interlobular venlerden arkuat venlere, oradan da interlobar venlere akar. İnterlobar venler birleşerek renal veni oluştururlar. Renal ven ise vena cava inferiora açılır (9).

3.1.3.8 Böbreğin lenfatik damar ve sınırları

Böbreğin lenfatik damarlanması bütünüyle anlaşılammıştır. Böbreklerin iki ana lenf damar ağı içerdiği bilinmektedir. Bu lenfatik damar ağları rutin histolojik kesitlerde gözlenemeyen ancak deneysel metodlarla gösterilebilen yapılardır. Birçok araştırmacıya göre böbreğin lenfatikleri sırasıyla subkapsüler bölgede ve medullada olmak üzere yüzeysel ve derin olarak lokalize olmuşlardır. Lenfatik damarların çoğu böbrek damarlarına eşlik ederler ve hilusdaki lenf pleksuslarına direne olarak böbreği terk ederler. Böbrek lenf sıvısını vena cava ve abdominal aorta çevresindeki lenf düğümleri toplar.

Başlıca çölyak ve aort gangliyonlarından kaynaklanan çoğu sempatik birçok otonom sinir lifleri böbrek arterlerine eşlik eden böbrek pleksusunu oluştururlar. Bu aksonlar damar düz kaslarında kontraksiyona sebep olarak gerektiğinde damarlarda vazokonstrüksiyon yaparlar. Böbrekte muhtemelen nervus vagus'dan gelen duysal ve parasempatik lifler de tanımlanmıştır (1, 11).

3.1.4 Böbrek Histofizyolojisi

Böbrekler en önemli görevlerini plazmayı filtre ederek ve filtrattan vücudun ihtiyacına göre maddeleri değişik hızda uzaklaştırarak yaparlar. Gerekli maddeleri kana geri döndürürken, istenmeyenleri idrarla itrah ederek filtrattan ve dolayısıyla kandan uzaklaştırırlar. Böbreklerin esas görevi idrar oluşumunu sağlamak olmakla birlikte bunun dışında da birçok fonksiyonları vardır. Bunlar;

Vücut sıvı ve elektrolit dengesinin korunması,
Metabolik artık ürünlerin atılımı,
Ekstrasellüler sıvı hacmi ve kan basıncının hormonal düzenlenmesi,
Metabolik etki (glukoneogenez, lipid metabolizması),
Asit baz dengesinin düzenlenmesi,
Hormon üretimi ve metabolizmasına katkı (eritropoetin, Vit-D₃, renin) veya bazı hormonların yıkımı (insülin, glukagon, parathormon, büyüme hormonu) (12, 13). Böbrekte idrar oluşumunda temelde üç mekanizma etkilidir:

- 1- Glomerüler filtrasyon,
- 2- Tübüler reabsorbsiyon,
- 3- Tübüler sekresyon.

İdrar oluşumundaki ilk temel mekanizma glomerüler filtrasyondur. Filtrasyon kan plazması ultrafiltratının oluştuğu glomerülde gerçekleşmektedir (8, 12, 13). Glomerül kapillerlerinin, vücutta bulunan diğer kapillerlerden iki önemli farkı vardır. Birincisi ve en önemlisi, iki arteriyel yatak arasında yer almalarıdır. Glomerül kapillerlerinin iki arteriyol arasında bulunmalarından ötürü oluşan glomerül içi yüksek basınç, sıvının Bowman kapsülü içine filtre olmasına sebep olur. Bu kapiller içindeki kanın hidrostatik basıncı (60 mmHg kadar), başka kapillerlerdeki hidrostatik basınçtan daha yüksektir. İkinci özellik, böbreğin süzücü membranının yapısına bağlı olarak geçirgenlik, diğer kapiller damarlardan daha fazladır. Bununla birlikte, kapiller endoteli ile podositin birlikte oluşturdukları morfolojik yapı kan hücrelerinin ve proteinlerin dışarı çıkmasını önlemektedir. Glomerüler filtrasyon işlemi izozmotiktir. Yani glomerüler filtrat yaklaşık olarak plazma ile aynı kompozisyona sahiptir. Tek fark glomerüler filtratın protein içeriğinin plazmaya oranla çok düşük olmasıdır. Bu da makromoleküllerin glomerül duvarını normal şartlar altında

geçememesinden kaynaklanır. Glomerüler kapillerler, epitel hücreleri ile örtülmüştür ve tüm glomerül Bowman kapsülü ile sarılmıştır. Glomerüler kapillerden filtre olan sıvı, Bowman kapsülü içerisine ve sonra da proksimal tübül içerisine akar. Sıvı, proksimal tübülden böbrek medullasının derinliklerine doğru inen henle kulpuna, henle kulpunun çıkan kalın kolunun sonunda nefron fonksiyonunun kontrolünde önemli bir rolü olan makula densaya ulaşır. Böylelikle distal tübüle ulaşmış olan sıvı oradan birleştirici tübül aracılığıyla kortikal toplayıcı tübüle ve kortikal toplayıcı kanala ulaşır. 8–10 adet kortikal toplayıcı kanalın başlangıç kısmı birleşerek medullada seyreden medüller toplayıcı kanalı oluştururlar. Toplayıcı kanallar birleşerek giderek daha genişleyen kanalları oluşturup sonunda papillanın tepesi aracılığıyla böbrek pelvisine boşalırlar. Her böbrekte, her biri 4000 nefrondan idrar toplayan 250 kadar geniş toplayıcı kanal vardır (9, 12, 13). Toplayıcı kanalların epiteli arka hipofizden salgılanan ADH duyarlıdır. ADH varlığında toplayıcı tübüllere ulaşan % 10 düzeyindeki glomerüler filtratın büyük kısmı geri emilirken (% 9,5) geriye kalan % 0,5' lik kısım atılır ve idrarı oluşturur. Su alımı azaldığında, ADH salgılanır ve toplayıcı kanalların epiteli suya geçirgen hale gelir. Böylece su glomerüler filtrattan geri emilip kan kapillerlerine aktarılır ve sonuçta vücut içerisinde kalmış olur (9, 10, 12). Böbrekler büyük hacimde sulandırılmış idrarı veya küçük hacimde konsantre idrarı, sodyum ve potasyum gibi erimiş maddelerin idrarla atılma hızında büyük değişiklikler yapmaksızın atabilirler. Su atılmasının erimiş madde atılmasından bağımsız düzenlenme yeteneğinin, özellikle sıvı alımının sınırlı olduğu durumlarda yaşamın sürdürülebilmesi açısından büyük önemi vardır (13).

Böbrekler arter basıncını ekstrasellüler sıvı hacmi değişiklikleri ile kontrol etme dışında çok güçlü başka bir basınç kontrol mekanizmasına da sahiptirler. Bu renin anjiyotensin sistemidir. Jukstaglomerüler hücrelerde sentezlenen protein

yapısında bir enzim olan renin salınımı başlıca; hipotansiyon gibi nedenlerle böbrek perfüzyonu düştüğünde, makula densaya ulaşan sodyum miktarı azaldığında ve sempatik aktivite artışında artmaktadır. Renin, anjiyotensinojeni anjiyotensin I'e çevirir. Akciğer damarlarının endotelinde bulunan anjiyotensin dönüştürücü enzim ise anjiyotensin I'i anjiyotensin II'ye çevirir. Oldukça güçlü bir vazokonstriktör olan anjiyotensin II, dolaşımında kaldığı süre içerisinde kan basıncını iki ayrı nedenle artırır. Bunlardan birincisi hızla oluşan vazokonstriksiyon, ikincisi ise böbreklerden su ve tuz atılımını azaltması yani su ve tuz tutulumudur. Böbreklerden su ve tuz atılımının azaltılması saatler ve günler içerisinde arter basıncının yükselmesine neden olur. Anjiyotensin böbreklerden su ve tuz tutulumunu ise başlıca iki mekanizma aracılığıyla sağlamaktadır. Birincisi direk böbrek üzerine etki göstermesi ikincisi ise anjiyotensinin sürrenal kortekste bulunan zona glomerüloza hücrelerinden aldosteron salgısını arttırması aracılığıyla. Aldosteronun da en önemli fonksiyonlarından biri böbrek tübüllerinden sodyum geri emilimini arttırmasıdır (12, 13).

Glomerüllerden filtre edilen sıvı (150- 180 lt/gün), tübüllerden geçerken su içeriğinin % 99'u ve solüt içeriğinin değişen miktarları vasküler sisteme geri emilirken, az sayıdaki bazı maddelerde tübüller içerisine sekrete edilir. Bu işlemler sonunda günde ortalama 1- 1,5 lt idrar oluşur. Renal cisimcikte oluşan glomerüler filtrat, absorpsiyon ve ekskresyonun başladığı yer olan proksimal kıvrıntılı tübüllere geçer. Proksimal kıvrıntılı tübüller filtrattaki glukoz ve aminoasitlerin tümünü, suyun ve sodyum klorürün % 85'ini ve ayrıca fosfat ve kalsiyumu emer. Glukoz, aminoasitler ve sodyum, proksimal tübül hücrelerinin bazolateral membranları üzerinde bulunan Na/K-ATPaz etkinliğine bağlı olarak emilirler. Su ise ozmotik gradyanı izleyerek pasif olarak emilir. Katekolaminler, anjiotensin II, paratiroid

hormon ve insülin sodyum ve su geri emilimini arttırırken, atrial natriüretik faktör azaltır. Filtratta az miktarda bulunan proteinin emilimi pinositozla gerçekleşir. Bikarbonat geri emiliminin % 85 -90 'ı proksimal tübülde olmaktadır. Bütün bu etkinliklere ek olarak proksimal kıvrıntılı tübüller kreatinin gibi maddeleri ayrıca para-aminohippurik asit, penisilin ve iodopyracet gibi vücuda yabancı olan maddeleri idrara salgılamaktadır. Bu olay tübüller sekresyon olarak tanımlanan aktif bir işlemdir. Bu maddelerin sekresyon hızının belirlenmesi böbrek işlevlerinin klinik açıdan değerlendirilmesine yarar (9, 10, 12).

Proksimal tübüllerden glukozun tekrar kana alınması, tübül hücrelerindeki özel bir taşıma sistemi ile olur. Glukoz ve sodyum, tübül hücresi membranında bulunan taşıyıcı bir moleküle bağlanarak hücre içerisine beraber taşınırlar. Glukoz buradan hücrelerarası sıvıya daha sonrada kana geçer. Filtre olan glukozun hepsi proksimal tübülden geri emildiğinden normal koşullarda idrarda ölçülebilir glukoz görülmez. Fakat filtre olan yük tübülün glukoz emebilme kapasitesini aştığı zaman idrarla glukoz atılır. Tübüler yük 220 mg/dakikanın üzerine çıktığında az miktarda glukoz idrarda görülmeye başlar ve bu noktaya glukoz için eşik değer denilmektedir. Normal bir bireyin plazma glukoz değeri asla idrarda glukoz atılmasına yetecek yükseklikte değildir. Oysa kontrolsüz diabetes mellitus (DM)'da plazma glukoz değeri filtre olan glukozun maksimal taşınma kapasitesini aşmaya yetecek ve idrarda glukoz atılmasına neden olacak kadar yükselebilir.

Böbreklerin metabolik etkilerinden olan glukoneogenez özellikle uzun süreli açlık sırasında çok önem kazanmaktadır. Uzun süreli açlık esnasında böbreklerin kana glukoz ilave etme kapasitesi karaciğerinki ile yarışır. Böyle durumlarda aminoasitlerden ve diğer öncüllerden glukoneogenez yoluyla glukoz sentezlendiği bilinmektedir (13).

3.2 Diabetes Mellitus

3.2.1 Diabetes Mellitus'un Tanımı ve Sınıflandırılması

DM, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasının kronik bir hastalığı olup, hatalı glukoz kullanımına yol açan, defektif ya da eksik insülin salgısı ile karakterize bir hastalıktır. Bu durum hiperglisemi ile sonuçlanır (14). İnsanların fiziksel aktivitelerinin azalması ve obezitenin artması ile DM insidansı ve prevalansında ciddi anlamda bir artış olmuştur (15). Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan çalışmalarda, 1985 yılında 30 milyon, 1995 yılında 135 milyon, 2000 yılında 177 milyon insanda DM görüldüğü ve 2025 ' li yıllarda bu sayının 300 milyon civarında olabileceği hesaplanmıştır. DM 'a bağlı ölümlerin sayısının 800.000 den fazla olduğu tahmin edilmektedir (16).

Son yıllardaki gelişmeler DM'un sınıflanmasında yeni düzenlemelerin gerekliliğini ortaya koymuştur. Bundan dolayı 1995 yılında Amerikan Diabet Cemiyetinin destekleriyle kurulan ve çalışmaya başlayan İnternational Expert Committee, 1980'li yıllardan beri yapılan bütün çalışmaları incelemiş ve yeniden değerlendirerek DM'un sınıflamasını gözden geçirmiştir. İnternational Expert Committee'nin önerdiği DM'un etyolojik sınıflaması şu şekildedir (17);

1. Tip 1 DM

A. Otoimmün,

B. İdiyopatik.

2. Tip 2 DM

Belirgin insülin direnci ile birlikte göreceli insülin eksikliği ve belirgin insülin salgılanma bozukluğu ile birlikte göreceli insülin direnci arasında değişebilir.

3. Gestasyonel DM

4. Diğer spesifik tipler

- A. Beta hücre fonksiyonunun genetik defektleri,
- B. İnsülin etkisindeki genetik defektler,
- C. Ekzokrin pankreas hastalıkları (pankreatit, travma, neoplazi, kistik fibrozis, hemokromatozis.),
- D. Endokrin hastalıklar (akromegali, cushing sendromu, glukagonoma, hipertiroidizm, somatostatinoma.),
- E. İlaç veya kimyasal maddelerin indüklediği (vacor, pentamidin, nikotinik asit, glukokortikoid, tiroid hormonları, dilantin, diazoksid.),
- F. Enfeksiyonlar (konjenital rubella, sitomegalovirus.),
- G. Otoimmüniteye bağlı nadir diabet formları,
- H. Diabetle birlikte olan diğer genetik sendromlar (Down sendromu, Klinefelter sendromu, Turner sendromu, Prader-Willi sendromu).

DM, metabolik anormalliklerin görüldüğü, gelişen ve sanayileşen ülkelerde morbidite ve mortaliteye neden olan bir hastalıktır (18). DM'un uzun dönem komplikasyonlarının neden olduğu morbidite ve mortalite; kapiller bazal membran kalınlaşmasıyla birlikte olan mikrovasküler hastalık, hızlanmış arteriol sklerozu ile birlikte görülen makrovasküler hastalık, somatik ve otonom sinir sisteminin ikisini de içeren nöropati, kas zayıflığı ile birlikte görülen nöromusküler disfonksiyon ve enfeksiyonlara direncin azalması ile karakterizedir. Böyle kronik komplikasyonlar göz, böbrek, kalp, sinir ve kan damarlarını etkilerler (19).

3.2.2. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları

DM, akut ve kronik komplikasyonlarla seyreder. Bu komplikasyonlar şunlardır (20);

1- Akut Komplikasyonlar

- A. Diyabetik ketoasidoz koması,
- B. Hiperosmolar nonketotik koma,
- C. Hipoglisemi,
- D. Laktik asidoz koması.

2- Kronik Komplikasyonlar

I- Mikrovasküler

- A. Diyabetik retinopati,
- B. Diyabetik nefropati,
- C. Diyabetik nöropati.

II- Makrovasküler

- A. Koroner arter hastalığı,
- B. Periferik damar hastalığı,
- C. Serebrovasküler hastalık,
- D. Diğerleri (gastrointestinal, genitoüriner, dermatolojik, enfeksiyon, katarakt, glukoma).

3.2.3 Diyabetik Nefropati

Bir grup diyabetik hasta böbreğinde, etyopatogenezi açıklıkla çözümlenememiş mekanizmalardan kaynaklanan, klinikte değişik karakterde proteinüri (albüminüri), arteriyel hipertansiyon, yumuşak ve yaygın ödemler ve zamanla böbrek yetersizliği ile sonuçlanan glomerülotübüler lezyonların bütününe

diyabetik nefropati ismi verilmiştir. Işık mikroskobu düzeyinde, kabaca; bazal membran kalınlaşması, glomerüllerde mezangium (kapiller yumağı destekleyen hücre ve matriks) artışı, santral mezangiumda PAS ile boyanan nodüler lezyonlarla (nodüler glomerüloskleroz) tanımlanan “Kimmelstiel-Wilson böbreği” bu sendromun patognomonik tablosunu oluşturmaktadır (21).

Tip 1 DM ve Tip 2 DM'nin rölatif olarak en sık görülen mikrovasküler komplikasyonu diyabetik nefropatidir. Diyabetik nefropati, diyabete bağlı mortalite ve morbiditenin en önde gelen nedenidir. Gelişmiş ülkelerde her yıl ilk kez renal replasman tedavisine başlayan hastaların üçte birinde tanı diyabetik nefropatidir. Yine bu ülkelerde son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) nedeniyle ilk kez diyalize giren hastaların yaklaşık % 50'sinde etyoloji DM'dir (22).

Diyabetik nefropati insüline bağımlı diyabetik hastaların 1/3 'ünde ortaya çıkar ve kronik diyaliz ve transplantasyon gerektiren son dönem böbrek hastalığına tek başına neden olur. Diyabetik nefropatinin patofizyolojisi iyi tanımlanamamıştır (23). Fakat yapılan çalışmalarda bazı başlıklar altında, etkili olan mekanizmaların incelenmesi diyabetik nefropati patogenezinin anlaşılmasına yardımcı olmaktadır. Diyabetik nefropatinin patogenezinin etkili olan faktörler aşağıdaki başlıklar altında incelenmektedir (21);

A. Hemodinami: Hemodinamik değişimler ve glomerül içi basınç artışı, büyüme hormonu (GH) ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1), eikosanoidler, bradikinin, renin-anjiyotensin sistemi, endotelin-1 ve reseptörü, nitrik oksit ve nitrik oksit sentaz, atrial natriüretik peptid ve sodyum-hidrojen ters akımı.

B. Hiperglisemi: Glukoz toksisitesi ve ileri glikasyon son ürünleri (İGSÜ) ve reseptörleri, polioliol yolu-aldoz redüktaz, glomerüler glikozaminoglikan

ve heparan sülfat içeriği, büyüme faktörleri, protein kinaz C aktivitesi, sitokinler ve kemokinler.

C. Hücre ve Moleküler Yapı Değişiklikleri: Nefrin ve glomerülopati ilişkisi, renal elastin-elastaz sistemi, albüminüri oluşmasında tübüler mekanizma (cubilin ve megalin), mononükleer hücrelerin glomerüler ve peritübüller kapiller endotel hücrelerinde birikimi ve adezyon moleküllerinin rolü, galectin.

D. Dislipidemi

E. İnsülin Direnci

F. Böbrek İçi Pıhtılaşma ve Fibrinoliz Defektleri

G. Metilentetrahidrofolat Redüktaz

GH, etkilerinin çoğunu, somatomedinler veya insülin benzeri büyüme faktörleri olarak da adlandırılan aracı maddeler yoluyla gerçekleştirir (13). Yapılan çalışmalarda IGF-1'in sadece glomerüler hemodinami üzerine değil, diyabetik nefropatinin patognomonik bulgularının başında gelen mezangial hücre hipertrofisinde de rol aldığı gösterilmiştir (21). İlk kez kardiyovasküler alanda çalışma yapan Japon bilim adamları tarafından midede keşfedilen ve GH salgılatıcı aktiviteye sahip olan ghrelinin, IGF-I ile de ilişkili olduğu görülmüştür (24, 25).

3.3 Ghrelin

Oreksijenik hormon olarak da bilinen ghrelin; insan ve hayvanlarda beslenmeyi stimule eder ve GH salgılatır. Bitkilerin parenkima hücreleri de dahil olmak üzere pek çok dokudan salgılanır (26). Günümüzde, ghrelin homologlarının balıklarda, kuşlarda ve birçok memelide bulunduğu belirlenmiştir (27). Ghrelin, 1999 yılında Kojima ve arkadaşları tarafından midede endojen bir ligant olarak keşfedilen, peptid yapıda bir hormondur (28). Ghrelin başlıca mide mukozasında yer alan endokrin fonksiyonlara sahip X/A hücreleri tarafından üretilmektedir (29). 28 aminoasit içeren ghrelinin 3. serin yan zinciri n-oktaonik asit içerir ve 3. serin yan zincirinin n-oktaonik asit ile açillenmesi, ghrelinin biyolojik aktivitesi açısından önemlidir (24, 30, 31, 32). Ghrelin mide dokusundan başka insanda, bağırsak, yanak mukozası, özefagus, hipofiz, tiroid, lenf düğümü, lenfositler, akciğer, karaciğer, safra kesesi, pankreas, kalp, dalak, testis, prostat, ovaryum, tuba uterina ve plasenta dokularında da bulunmaktadır. Cerrahi, endoskopi ve otopsi yoluyla elde edilen, insana ait tüm bu doku örneklerinde ghrelin mRNA'sının mevcut olduğu tespit edilmiştir (33). Ghrelinin, hem insan hem de kemiricilerde hipotalamus, hipofiz, karaciğer, pankreas, böbrek, testis, ovaryum ve plasentada bulunduğu da rapor edilmiştir (34, 35).

Geçmişte GH sekresyonunun; büyüme hormonu serbestleştirici hormon (GHRH) ve somatostatin olmak üzere başlıca iki peptid tarafından kontrol edildiği düşünülmekteydi (32, 36). GHRH, 44 aminoasitten oluşan ve GH sentez ve salınımını stimule eden hipotalamik bir peptittir. Somatostatin ise 14 aminoasitten oluşan GH sentezini inhibe eden, hipotalamusta sentezlenen peptid yapıda bir hormondur (13). Keşfinden sonra bunlara sıçan midesinde üretilen ghrelin de

eklenmiştir (37). Ghrelinin, GHRH salınımını arttırdığı (38) ancak pankreatik somatostatin salınımını ise azalttığı bildirilmiştir (39).

İmmünohistokimya yöntemleri kullanılarak, somatostatin immünreaktif hücrelerin, ghrelin immünreaktif hücrelerle temasta olduğu gösterilmiştir. Aynı şekilde ghrelin ve somatostatin arasında morfolojik bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. Somatostatinin tek doz intravenöz (i.v) enjeksiyonu sıçanlarda plazma ghrelin konsantrasyonunu azalmaktadır (40).

1976 yılında Bowers ve arkadaşları tarafından met-enkefalin opiyatı olan sentetik bir peptid analogu bulunmuştur. İn vitro şartlarda GH salınımına neden olan bu madde büyüme hormonu salgılatıcı (GHS) olarak isimlendirilmiştir (41, 42). Met-enkefalin derivativesi, büyüme hormonu serbestletici peptid (GHRP)'in doğal olmayan ilk molekülüdür (24). Met-enkefalinin ön hipofizden invitro GH salınımını stimüle etmesinin keşfi GHS denilen küçük sentetik peptidil ve nonpeptidil moleküllerin gelişmesine neden olmuştur (24, 32, 43). 1996'da GHRH reseptöründen farklı olarak, GHS reseptörü (GHS-R) tanımlanmıştır. GHS'in GHS-R üzerinden etki ettiği gösterilmiş bu da GH sekresyonunda tamamen yeni bir mekanizmayı oluşturmuştur (44). GHS-R'nin bulunuşundan üç yıl sonra ise, bu endojen ligand tanımlanarak, insanlarda ve hayvanlardaki güçlü GH salgılatıcı etkisinden dolayı, Hint-Avrupa dilleri ailesinde büyüme anlamına gelen "grow" kelimesinin kökü olan "ghre" ile salgılama anlamına gelen "relin" sözcüğü birleştirilerek "ghrelin" adı verilmiştir (28).

3.3.1 Ghrelin ve GHS-R Dağılımı

Ghrelinin biyolojik etkileri çoğunlukla hücre yüzey reseptörü olarak adlandırılan GHS-R ile etkileşim yoluyla gerçekleşir (44). GHS-R geni olmayan farelerde ghrelin enjeksiyonu sonucunda GH salınımı veya iştah indüklenmesi cevabı

görülmez. Bu da ghrelinin neden GHS-R yoluyla etki ettiğinin düşünülmesini ve GHS-R'ye ghrelin reseptörü adının verilme sebebinin açıklanmaktadır (45). Ghrelin keşfedilene kadar, ghrelinin GHS-R'nin endojen ligandı olduğu bilinmemekteydi.

Hipofizden GH salınımının hipotalamik GHRH ile stimule olduğu bilinmesine rağmen, eksojen GHS'ın farklı bir yolla GH salınımını indüklediği düşünülmektedir. GHRH ikincil bir mesenger görevi gören intraselüler cAMP'yi arttırmak için GHRH reseptörü üzerine etki eder, zıt olarak GHS ise inositol 1, 4, 5 trifosfat sinyal yoluyla intraselüler kalsiyum konsantrasyonunu arttıran farklı bir reseptör üzerinden etki eder (35, 43). GHS-R'nin aktivasyonu, protein kinaz C sisteminin aktivasyonu ve intraselüler kalsiyum konsantrasyonunun yükselmesi aracılığıyla gerçekleşmektedir (46). GHS-R'ye bağlanan ligand, fosfolipaz C'yi plazma membranında bulunan fosfatidilinozitol 4,5 bifosfatı diaçilgliserol ve inozitoltrifosfatı oluşturmak üzere hidrolize etmesi için aktive eder. İnozitoltrifosfatın GH sekretuar granüllerini, plazma membranına yapıştırarak GH salınımına yardımcı olduğu da ileri sürülmektedir. Mesaj sistemin diğer kolu plazma membranındaki protein kinaz C'yi aktive eden diaçilgliserol'ü içerir. Protein kinaz C, tirozin fosforilasyonu ile potasyum kanalını inhibe ederek depolarizasyona, daha sonra da voltaja bağlı L- tipi kalsiyum kanallarının açılmasına neden olur (47).

GHS-R, G protein bağlı reseptör ailesinin bir üyesidir (48). GHS-R geni 3q26.2. kromozomu üzerinde lokalize olmuştur (24, 49). GHS-R'nin bilinen iki tane formu vardır. Bunlar; GHS reseptör tip 1a (GHS-R 1a) ve GHS reseptör tip 1b (GHS-R 1b) dir. (24, 44, 49). GHS-R 1a fonksiyonel reseptör olup, 7 transmembran bölgelidir. GHS-R 1b ise 5 transmembran bölgesi olup, biyolojik olarak inaktiftir (44, 48, 50). GHS-R 1a 366 aminoasitten, GHS-R 1b ise 289 aminoasitten meydana gelmiştir (49). Birçok insan dokusunda ghrelin, polimeraz zincir reaksiyonu

kullanılarak incelenmiş ve ayrıca dokulardaki ghrelinin GHS-R 1a ve GHS-R 1b mRNA ekspresyonu da araştırılmıştır. GHS-R 1a çoğunlukla hipofizde, daha düşük seviyelerde ise pankreas, dalak, miyokard, tiroid ve adrenal bezde eksprese edilmiştir. GHS-R 1b ekspresyonu ise incelenen tüm dokularda; bağırsak, yanak mukozası, özefagus, hipofiz, tiroid, lenf düğümü, lenfositler, akciğer, karaciğer, safra kesesi, pankreas, kalp, dalak, testis, prostat, ovaryum, tuba uterina ve plasentada belirlenmiştir (33).

Oksintik bezler, mide korpus ve fundusunun iç yüzeyinde bulunurlar ve mide proksimalinin % 80'ini oluştururlar (13). Ghrelin; insan ve sıçan midesinde, oksintik bezlerde bol miktarda bulunmaktadır. Işık ve elektron mikroskobu düzeyinde, immünohistokimya yöntemleri kullanılarak, oksintik mukozada bugüne kadar başlıca dört tip endokrin hücre belirlenmiştir. Bunlar; enterokromoffin benzeri hücreler, delta hücreleri, enterokromoffin hücreler ve X/A benzeri hücrelerdir (51).

Sıçan oksintik bezlerindeki bu dört hücrenin karşılaştırmalı oranları şöyledir: % 60–70 enterokromoffin benzeri hücreler, % 20 X/A benzeri hücreler, % 2–5 delta hücreleri ve % 0–2 enterokromoffin hücreler. İnsan oksintik bezlerinde ise dağılım şu şekildedir: % 30 enterokromoffin benzeri hücreler, % 20 X/A benzeri hücreler, % 22 delta hücreleri ve % 7 enterokromoffin hücreler (52, 53). Görüldüğü gibi X/A benzeri hücreler hem insan hem de sıçanda % 20 oranında bulunmaktadır. Ghrelin immünreaktif hücrelerinde insan ve sıçan oksintik bezlerindeki endokrin hücre popülasyonunun % 20'sini oluşturdukları tespit edilmiştir. Bu oransal dağılım, X/A benzeri hücrelerle ghrelin immünreaktif hücrelerin eşit miktarda olduklarını göstermektedir. Sıçanlarda ghrelinin, X/A benzeri hücrelerin granüllerine uyumlu yapıda olan yuvarlak, elektron yoğun granüllerde mevcut olduğu tespit edilmiştir. Morfolojik analizler ghrelin immünreaktif hücrelerin X/A benzeri hücrelerle miktar,

lokalisasyon ve ultrastrüktür bakımından ortak özellikleri olduğunu ortaya çıkarmıştır. Tüm bu bilgiler, ghrelinin X/A benzeri endokrin hücreler tarafından üretildiğini göstermektedir. X/A benzeri hücrelerin fizyolojik fonksiyonları ve hormonal ürünleri henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Ayrıca, ghrelinin insan ve sıçanların bağırsak endokrin hücrelerinde de bulunduğu tespit edilmiştir (29). Ghrelin, sindirim sistemi boyunca duodenum, ileum, çekum ve kolonda da sentezlenir. Ghrelin pozitif bu hücreler arasında immünreaktivite açısından herhangi bir fark gözlenmemiş, ancak kalın bağırsaklara doğru gittikçe ghrelin immünreaktif hücre sayısının azaldığı tespit edilmiştir. Midedeki yuvarlak şekilli, küçük, ghrelin immünpozitif hücreler kapalı tip hücre olarak adlandırılmıştır. Bağırsaklarda bunlara ilave olarak, apikal sitoplazmaları ile lümenle ilişkisi olan üçgen şekilli ikinci bir hücre tipi tespit edilmiş ve bu hücreler ise açık tip olarak adlandırılmışlardır. Gastrointestinal sistem boyunca bütün ghrelin pozitif hücreler içerisinde açık tip hücrelerin sayısının mideden kalın bağırsaklara doğru gittikçe dereceli olarak arttığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar iki tip ghrelin hücrelerinin gastrointestinal sistemin çeşitli bölümlerinde farklı fizyolojik roller oynayabileceklerini ve gastrointestinal sistemin bu değişik bölümlerinden ghrelin sekresyonunun farklı uyaranlarla düzenlenebileceğini düşündürmektedir. (54).

Ghrelin ve GHS-R 1a reseptörü, hipofizer kortikotrop ve gonadotrop hücrelerde bulunmazken, büyük ölçüde somatotrop, laktotrop ve tirotrop hücrelerde mevcuttur (55). İmmünohistokimyasal yöntemler kullanılarak, fare ve sıçanların hipotalamuslarında ghrelinin; lateral hipotalamus, arkuat nukleus, ventromediyal nukleus, dorsomediyal nukleus, paraventriküler nukleus ve 3.ventrikülün ependimal tabakasında eksprese olduğu gösterilmiştir. Ghrelin ayrıca beyinde; akson

terminallerinde, stria terminalis, amygdala, talamus ve nukleus habenulada tespit edilmiştir (56).

Ghrelinin fizyolojik rolünün daha ayrıntılı anlaşılabilmesi için, insan ve sıçan dokularında GHS-R mRNA ekspresyonunun haritası çıkartılmıştır. Sıçan beyinde, hipofiz bezi kadar birçok hipotalamus nukleusunda ve hipokampusta güçlü ghrelin sinyalleri saptanmıştır. Sıçan beyindeki sonuçlara benzer olarak, insan dokularında da hipofiz, hipotalamus ve hipokampusta ghrelin sinyalleri belirlenmiştir. Hipotalamus ve hipofizde GHS-R lokalizasyonunun gösterilmesi GHS-R'nin GH salınımının düzenlenmesinde rolünün olmasıyla uyumlu bir bulgudur. Reseptörlerin beyindeki bu dağılımları ghrelinin henüz aydınlatılmamış ilave fonksiyonlarının da olabileceğini düşündürmektedir (57).

Ghrelinin kardiyovasküler sisteme etki ettiği ve reseptörlerinin sol ventrikül, sağ atrium, aorta, koroner arter, safen ven ve pulmoner vende bulunduğu bildirilmektedir (58).

Ghrelin ve GHS-R üreme organlarında ve plasentada tespit edilmiştir (59, 60). Hem ghrelin peptidi ve hemde ghrelin mRNA ekspresyonu insan ve sıçan plasentasında gösterilmiştir. İnsan ve sıçan plasentasının, ghrelin ekspresyonu açısından gebelik zamanıyla ilişkili bir dağılım gösterdiği bildirilmektedir. İnsan plasentasında, ilk trimesterde immünohistokimyasal olarak ghrelinin başlıca sitotrofoblastlarda ve çok az miktarda da sinsityotrofoblastlarda eksprese olduğu tespit edilmiştir. Ancak termde, plasentada immünohistokimyasal olarak ghrelin tespit edilememiştir. Gebe sıçanlarda ise ghrelin mRNA ekspresyonu erken gebelik döneminde belirlenememişken, 16. gebelik gününde bariz bir yükselme göstermekte ve gebeliğin son dönemlerinde giderek azalmaktadır (59).

Ghrelin ovaryumda da eksprese edilmektedir. En yoğun olarak corpus luteumda eksprese edildiği belirlenmiştir (61). Ghrelin ve fonksiyonel reseptörü olan GHS-R 1a'nın erişkin insan testisinde eksprese olduğu bildirilmiştir. Ghrelin immünreaktivitesi, normal testiste, leydig hücrelerinde ve daha az olarak sertoli hücrelerinde tespit edilmesine rağmen, spermatogenezisin hiçbir aşamasında gösterilememiştir (60). Ghrelin ekspresyonuna adrenal bezde de rastlanmıştır. Adrenal kortekste zona glomeruloza ve zona fasikülatanın dış kısmında eksprese edildiği bildirilmiştir (62).

Erişkin, çocuk ve fetüs akciğer dokularında da ghrelin eksprese olmaktadır. Ghrelin, embriyon döneminden fetal döneme doğru gittikçe azalan oranlarda akciğer dokusunda tespit edilmiştir. Ghrelin ekspresyonuna ağırlıklı olarak akciğer gelişiminin psödoglandüler ve kanaliküler evrelerinde rastlanmıştır (63, 64).

Ghrelin pankreasın endokrin hücrelerinde de üretilmektedir. İnsan ve sıçan pankreas dokularında ghrelin immünoreaktif hücrelerin Langerhans adacıklarının periferinde yerleşmiş olduğu belirlenmiştir. Ghrelinin sıçan adacık alfa hücrelerinde glukoganla beraber bulunduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda beta hücrelerindeki sitozolik serbest kalsiyum konsantrasyonunu arttırdığı ve izole sıçan pankreas adacık hücrelerine ilave edildiği zaman insülin sekresyonunu uyardığı tespit edilmiştir. Ghrelin mRNA'sı ve reseptörü de sıçan pankreas adacık hücrelerinde tanımlanmıştır. GHS-R'nin pankreas adacık hücrelerinde tanımlanmış olması endokrin ve parakrin etki ile insülin sekresyonun ayarlanmasıyla uyumlu ve önemli bir bulgudur (65). Pankreasla ilgili son yıllarda yapılan fizyolojik deneysel çalışmalar ghrelinin insülin sekresyonunu düzenlediğini göstermiştir. Bununla birlikte pankreasta ghrelinin etkili olduğu alanlar henüz açıklıkla aydınlatılamamıştır. İmmünohistokimyasal yöntemlerle beta hücrelerinde zayıf GHS-R benzeri aktivite belirlenmiştir. GHS-R

immünreaktivitesi glukagon benzeri immünreaktif hücrelerde belirlenmiştir. Üstelik ghrelin ve GHS-R benzeri immünreaktivite çoğunlukla Langerhans adacıklarının periferindeki aynı hücrelerde tespit edilmiştir. Bu bulgular ghrelinin, alfa hücrelerince üretilip salgılandığını ve tekrar alfa hücrelerini otokrin ve parakrin tarzda etkilediğini göstermektedir. İlave olarak, ghrelinin beta hücrelerine de GHS-R aracılığıyla etki ederek, insülin sekresyonunu düzenliyor olabileceği düşünülmektedir (48). Ghrelin ve insülinin, glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde daha karmaşık genetik bir mekanizma aracılığıyla da etkili olabileceği belirtilmiştir (66).

Ghrelin önemli miktarda böbrek dokularında da tespit edilen bir hormondur. Sıçanların böbrek dokularında pre-proghrelin gen ekspresyonu belirlenmiştir (67). Fare böbreğinde pre-proghrelin gen ekspresyonu glomerüllerde belirlenmiştir. Ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi ve radioimmünassay yöntemi ile fare böbreğinin ghrelin ürettiği tespit edilmiştir. Fare böbreğindeki ghrelin immünreaktivitesi plazmadan daha yüksek orandadır. Üstelik sıçan mezangial hücre ve fare podosit hücre kültürlerinde pre-proghrelin gen ekspresyonu da belirlenmiştir. Sıçan böbreklerinde ghrelin reseptör geni de eksprese olmaktadır. Bu bulgular ghrelinin lokal olarak böbrekte üretildiğini, glomerül ve renal hücrelerin pre-proghrelin geni eksprese ettiklerini açıkça göstermektedir (68). Böbrekte ghrelin peptidinin lokalizasyonu halen karmaşık olmasına rağmen, ghrelinin böbrekteki dağılımının incelenmesinin, fizyolojik ve klinik etkilerinin anlaşılması açısından yeni bir boyut getireceği düşünülmektedir (67).

Ghrelin normal dokular dışında neoplastik dokularda da bulunmaktadır. Ghrelin; pankreas endokrin tümörleri, iyi diferansiye Leydig hücreli tümörler, nöroendokrin tümörler, tiroid karsinomları, hipofiz adenomları ve akciğer

tümörlerinde tanımlanmıştır. (60, 69–72). Ghrelinin yaygın doku dağılımının önemi henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Tüm bu bilgiler ghrelinin, endokrin ve endokrin olmayan dokularda GHS-R'nin farklı ve kısmen tanımlanmış alt tipleri yoluyla geniş fizyolojik etkilerinin olabileceğini düşündürmektedir (33).

3.3.2 Ghrelinin Endokrin ve Periferik Etkileri

Ghrelinin endokrin ve periferik etkileri aşağıda özetlenmiştir. Tablo I (32).

Tablo I: Ghrelinin Etkileri

Hormon salgılatıcı etkisi	
Büyüme Hormonu (GH)	↑
Adrenokortikotropik hormon (ACTH)	↑
Kortizol	↑
Prolaktin	↑
Tiroid stimulan hormon (TSH)	↓ ? →
Luteinizan hormon (LH)	↑ ? →
Folikül stimulan hormon (FSH)	→
İnsulin	↑ ? ↓
Anabolik etkisi	
İştah	↑
Kilo alımı	↑
Kardiyovasküler fonksiyonlar	
Kardiyak output	↑
Kan Basıncı	↓
Kardiyomiyositlerin apoptozisi (in vitro)	↓
Gastrik fonksiyonlar	
Mide asidi sekresyonu	↑
Gastrik motilite	↑

↑ : Artma, ↓: Azalma, → : Değişiklik yok, ? : Belirsiz.

3.3.2.1 Ghrelinin Hormon Salgılatıcı Etkileri

Ghrelın, GH salınımını güçlü bir şekilde uyardır (28). Ghrelinin fizyolojik olarak GH salınımını, nervus vagus yoluyla in vivo stimüle ettiği de gösterilmiştir (65). Sıçanlarda; i.v, intraperitoneal (i.p), subkutan (s.c) ve intraserebroventriküler (i.c.v) yollarla verilen ghrelinin bol miktarda GH salınımına sebep olduğu görülmüştür (28, 29, 73). Ghrelin ve GHS'ler güçlü ve doza bağlı olarak GH salgılatıcı aktiviteye sahiptirler (24, 38). Sağlıklı insanlarda i.v olarak uygulanan ghrelin, kuvvetli bir şekilde GH salınımı yaptırmaktadır (38, 74). GHS'lerin GH salgılatıcı etkisi yaşı göre de farklılıklar göstermektedir (24).

GHRH uygulanması, sıçanların hipofiz bezindeki ghrelin reseptörlerinde belirgin bir artışa neden olmuştur (75). GHRH, ghrelinin GH üzerine etki göstermesi için gereklidir. Ghrelin ve GHRH'nın beraber uygulanması sonucunda GH sekresyonunda belirgin bir sinerjistik etki ortaya çıkmakta ve GH salınımı artmaktadır. GHRH antiserumu ile birlikte ghrelin verildiğinde ise GH düzeylerinde artış gözlenmemektedir (38). GHRH antagonistleri ghrelinin GH salgılatıcı aktivitesini azaltmaktadırlar (76). GHRH antagonisti verilerek GH seviyeleri baskılanmış sağlıklı kişilerde ghrelin seviyeleri normal bulunmuştur (77).

Ghrelinin sistemik uygulanmasının sağlıklı kişilerde adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve kortizol seviyelerini arttırdığı görülmüştür (78, 79). Ghrelinin, ACTH sekresyonu üzerine olan etkisi GHS'lerin etkisinden daha belirgindir (38, 78). GHS uygulanması sonrası gözlenen ACTH salınımı akut bir nöroendokrin etkidir (47, 57, 80).

Ghrelinin prolaktin salgılatıcı etkisi direk olarak hipofiz hücre kültürlerinde gösterilmiştir (81).

3.3.2.2 Ghrelinin Davranışla İlgili Etkileri

GHS-R hipokampüste eksprese edilmektedir. Sıçanlarda son zamanlarda yapılan çalışmalarda ghrelinin i.c.v uygulanmasının, anksiyeteyi indüklediği ve hafızayı olumlu etkilediği bulunmuştur (82). Periferik ghrelin enjeksiyonu, hipotalamusu etkileyerek artmış anksiyeteye neden olmaktadır (83). Bu bulgular ghrelinin, stres yapıcılara karşı nöroendokrin ve davranışsal cevaplarda rolü olabileceğini ve anksiyetenin düzenlenmesinde midenin önemli bir role sahip olabileceğini düşündürmektedir (84).

3.3.2.3 Ghrelinin Kardiyovasküler Sisteme Etkileri

Ghrelinin kardiyovasküler sistemde, kardiyak disfonksiyona karşı korunmada dahil olmak üzere birkaç rolü vardır. Gönüllü insan deneklerinde, i.v ghrelin uygulanmasının, ortalama arteryel basıncı, kalp atım hızını değiştirmeden düşürdüğü tespit edilmiştir (74). İnsanlarda, i.v ghrelin uygulanması, sistemik vasküler direnci azaltarak, kalp yetmezlikli hastalarda kardiyak output'u arttırmaktadır. Ghrelin in vitro olarak, endotel hücreleri ve kardiyomiyositlerin apoptozisini inhibe etmektedir. Ayrıca ghrelinin sol ventrikül disfonksiyonu olan sıçanlarda ise iyileşme sağladığı görülmüştür (85, 86). Kaşektik kronik kalp yetmezlikli hastalarda, kaşeksisi olmayanlara göre, plazma ghrelin seviyelerinin anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir (87). Kronik kalp yetmezlikli sıçanlarda ise kronik s.c ghrelin uygulanmasının, sol ventrikül disfonksiyonunu düzelttiği, aynı zamanda da kardiyak kaşeksi gelişimini azalttığı bildirilmiştir (88). Ghrelin, memeli arterlerindeki endotelin-1'in damar daraltıcı etkisini de ortadan kaldırmaktadır (85, 89). Teorik

olarak ghrelin ve GHS analogları mikroanjiopati ve endotel disfonksiyonunun gelişimini azaltmada, kardiyak performansı artırarak dilate kardiyomyopatiyi önlemede ve koroner iskemiden korunmada faydalı olabilirler. Ghrelin ve sentetik GHS'lerin kardiyovasküler aktiviteleri, güçlü farmakoterapötik ajanlar olarak kullanılabilirlerini düşündürmektedir (24).

3.3.2.4 Ghrelinin Üreme Sistemine Etkileri

Ghrelinin endometriyumda ekspresyonu ve plasentada sentezlendiği gösterilmiştir. Ghrelin verilen sıçanların yavrularının daha büyük olmasından dolayı fetal büyümede ghrelinin rolü olabileceği düşünülmektedir (59, 90, 91). Embriyonik implantasyon konusunda da ghrelin ve GHS'lerin muhtemel endokrin ve parakrin rolleri olabileceği üzerinde durulmaktadır (27). Aynı zamanda ghrelinin erkekte testiküler fonksiyonda da önemli rollere sahip olabileceği bildirilmiştir (60).

3.3.2.5 Ghrelinin İskelet Sistemine Etkileri

Dişi sıçanlara büyüme hormonu salgılatıcı peptid- 6 veya analogu ipamorelin verilmesinin in vivo kemik mineralizasyonunu arttırdığı, kemik dansitometre ölçümleriyle gösterilmiştir. GHS'lerin kemik üzerine pozitif etkilerinin direk ya da GH salınımı aracılığıyla olduğu net olarak ortaya çıkarılmamıştır (84). Ghrelin uygulanması osteoblastların proliferasyonuna ve farklılaşmasına yardımcı olmakta ve apoptozisini ise inhibe etmektedir (92).

3.3.2.6 Ghrelinin Gastrointestinal Sisteme Etkileri

Ghrelinin i.v uygulanması sıçanlarda bazal gastrik asit sekresyonunu ve gastrik motiliteyi doza bağlı olarak artırırken, s.c uygulanmasının bazal gastrik asit sekresyonuna etkisi görülmemiştir (93–96). Bu etkiler hem vagotomi hem de atropin uygulanmasıyla engellenmiş olmasına rağmen, histamin H2-reseptör antagonisti uygulanmasının gastrik asit sekresyonuna ve gastrik motiliteye bir etkisi olmadığı

tespit edilmiştir. Buna dayanarak, ghrelinin gastrik fonksiyonları, nervus vagus aracılığıyla etkilediği düşünülmektedir (29, 43, 95).

3.3.2.7 Ghrelinin İştah ve Gıda Alımına Etkileri

Ghrelinin sekresyonunun düzenlenmesindeki en önemli faktör beslenmedir. Plazma ghrelinin seviyeleri açlıkta artar ve gıda alımından sonra düşer (97, 98).

Ghrelinin besinlerin kullanımı ve metabolizmaya ait hormon salgılanmasında da etkili olduğu bilinmektedir (99).

Ghrelinin kilo alımı ve yağlanmayı indükler (100). Ghrelinin sıçanlara i.c.v olarak uygulanması, gıda alımını doza bağlı şekilde arttırmıştır. Ghrelinin genetik olarak GH eksikliği olan sıçanlara i.c.v olarak uygulanması gıda alımını stimüle eder, bu bilgiler ghrelinin oreksijenik aktivitesinin GH sinyal yolundan bağımsız olduğunu göstermektedir. Ghrelinin devamlı i.c.v olarak uygulanması, gıda alımı ve yağ kitlesindeki artışı stimüle ederek kilo alımına neden olur (96, 101). Ghrelinin sağlıklı insanlara uygulanması görsel iştahı artırır (102). Ghrelinin iştah üzerine etkisinin üç şekilde olabileceği görüşü kabul edilmektedir. Bunlardan birincisi midede üretilen ghrelinin dolaşıma geçmesi ve kan beyin bariyerinide aktif transportla geçip iştahı uyarmasıdır. İkincisi, periferal sentezlenen ghrelinin, vagal afferent sinir uçlarını uyarması sonucu GHS-R ekspresyonunu arttırarak nukleus solitarius aracılığıyla hipotalamusun uyarılmasıdır. Üçüncü ve sonuncusu ise ghrelinin lokal olarak hipotalamustan salgılanarak, direkt nöropeptid Y ve agouti ilişkili protein ve diğer hücreleri uyarmasıdır (84).

3.3.2.8 Ghrelinin İnsülin ve Karbonhidrat Metabolizmasına Etkileri

Ghrelinin iştahın ve vücut ağırlığının fizyolojik olarak düzenlenmesinin yanı sıra, insülin ve glukoz metabolizmasında da önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür (103). Ghrelinin dolaşımdaki glukoz seviyelerini, GH salınımıyla, insülin direncini

arttırarak ve glukoneogenezisi stimüle ederek ayarlar (104). Ghrelinin insülin sekresyonundaki etkisi ile ilgili bazı çelişkili sonuçlar bildirilmiştir (105, 106). Yapılan bir çalışmada, ghrelinin, normal ve diyabetik sıçanların pankreasından insülin sekresyonunu uyardığı tespit edilmiştir. Diyabetik sıçanların Langerhans adacıklarındaki ghrelin immünreaktif hücre sayısının da arttığı gözlenmiştir (106). İzole sıçan pankreasında, in situ perfüzyonla ghrelin enjeksiyonunun, insülin salınımını inhibe ettiği görülmüştür (39). Ancak insülin sekresyonunda ghrelinin rolü halen tartışmalı bir konudur (27). Ghrelinin i.v uygulanmasının, hem normal, hemde obez insanlarda glukoz seviyesini arttırdığı bildirilmiştir (105, 107). İnsanda GH reseptör antagonistiyle birlikte uygulanmasıyla ise insülin direncini bariz şekilde arttırdığı görülmüştür (108).

3.3.3 Ghrelin Düzeyini Etkileyen Faktörler ve Hastalıklar

İnsanlarla ilgili bazı veriler, kadınlarda daha yüksek ghrelin seviyeleri olduğunu ileri sürmesine rağmen (77), toplumun büyük bir kesiminde dolaşımdaki ghrelin seviyelerinde cinsiyete bağlı anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (109, 110). Kemiricilerde yapılan çalışmalarda ise dişilerde; postnatal dönemde mide ghrelin mRNA seviyeleri daha yüksek olarak tespit edilmiştir (111).

İnsan ve fareler üzerinde yapılan çalışmalarda yaş ile ghrelin seviyeleri arasında negatif bir ilişki olduğu gösterilmiştir (112–114). Yaşın ghrelin seviyeleri üzerine etki eden bağımsız bir faktör olup olmadığı ise tartışmalıdır (110, 115). Glukozun i.v uygulanması, insan ve kemiricilerde ghrelin seviyelerini baskılamak (116), insanlarda oral olarak verilen glukozun, insülininden bağımsız olarak ghrelin seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (117).

Obez kişiler, zayıf kişilere oranla daha düşük ghrelin seviyelerine sahiptir (118). Diyete bağlı kilo kaybı ise dolaşımdaki ghrelin seviyelerini arttırır (119).

Yüksek yağlı diyet, farelerde mide ghrelin gen ekspresyonunu artırırken (120), düşük yağlı diyetin ghrelin sekresyonunu inhibe edici etkisi olabileceğini gösteren çalışmalarda yapılmıştır (121). Sıçanlarda düşük proteinli diyetin, ghrelin seviyesini indüklediği görülmüştür (122, 123). Leptin eksikliği olan insanlarda ghrelin seviyelerinin düşük olduğu belirlenmiştir (124).

Lipopeptid yapıdaki ghrelinin seviyesi, hastalıklara bağlı olarak da değişim göstermektedir (26). Anoreksia nervosa (125), bulimia nervosa (126) ve kansere bağlı kaşekside (127) plazma ghrelin seviyelerinin arttığı tespit edilmiştir. GH defektli hastalarda, akut GH uygulanması, ghrelin seviyelerini düşürmesine rağmen (128) uzun dönem GH replasmanının ghrelin seviyeleri üzerine etkisi olmadığı belirlenmiştir (129). Ghrelin seviyeleri hipertiroidizmde düşük ancak antitiroid tedavi gören ötroidlerde normal düzeydedir (130). Non alkolik hepatosteozda düşük ghrelin seviyeleri tespit edilmişken (131), ileri evre sirozlu hastalarda ghrelin seviyeleri yüksek bulunmuştur (132). Ghrelinin *Helicobacter pylori* enfeksiyonundaki düzeyi ise çelişkilidir (26).

Tip II diyabetliler ve insülin direncine sahip diyabetli hastalarda ghrelin seviyeleri düşük bulunmuştur (110, 133). Ancak, streptozotosin (STZ) ile oluşturulmuş DM'lu sıçanlarda dolaşımdaki ghrelin seviyeleri yüksek bulunmuş, bu durum muhtemel negatif enerji dengesine bağlı olarak açıklanmış ve insülin tedavisiyle normale döndüğü gösterilmiştir (134). Diyabette, ghrelinin patofizyolojik bir öneme sahip olabileceği ileri sürülmektedir (135).

Diyabetik nefropati, günümüzde sık olarak karşımıza çıkan DM'un morbidite ve mortalite açısından en önemli komplikasyonlarından biridir. Ghrelin ise önemli miktarda böbrekte tespit edilen yeni bir peptid hormon olup, diyabetik nefropatinin oluşmasında rol oynayabilir. STZ ile oluşturulacak DM'lu sıçanların

böbrek dokusunda belirli dönemlerde bakılacak olan ghrelin immünreaktivitesi, bu konuda bir bakış açısı oluşturabilecektir. Bu çalışmada STZ ile oluşturulmuş DM'un sıçan böbrek dokusuna ve böbrek dokusundaki ghrelin immünreaktivitesine etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1 Deney Hayvanları ve Beslenmeleri

Çalışmamızda Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (FÜDAM) temin edilen erişkin, Wistar tipi erkek sıçanlar kullanıldı. 21 °C oda ısısında 12 saat ışık (7:00–19:00) ve 12 saat karanlıkta (19:00–7:00) tutulan sıçanlar her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Yemler; çelik kaplarda, su; cam biberonlarda (normal çeşme suyu) verildi. Hayvan yemleri Yem Sanayi T.A.Ş. Elazığ Yem Fabrikasında hazırlandı. Yemlerin terkibi aşağıdaki tabloda gösterilmektedir (Tablo II).

Tablo II : Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin terkibi.

Buğday (%)	15
Mısır (%)	10
Arpa (%)	27
Kepek (%)	8
Soya (%)	29,4
Balık Unu (%)	8
Tuz (%)	0,6
Kavimix VM 23-Z (%) *	0,2
Methionin (%)	0,2
DCP (%)**	1,6

*1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D₃, 12 mg E, 0,8 mg K₃, 0,8 mg B₁, 2,4 mg B₂, 1,2 mg B₆, 0.006 mg B₁₂ vitaminleri, 16 mg Nicotin amid, 3,2 mg Cal. D. Panth. 0.32 mg Folic acid, 0.02 mg D-Biotin, 50 mg Cholin Chloride, 20 mg Zinc Bacitracin, 32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0,8 mg I, 0,2 mg Co, 0.06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca.

**% 18 fosfor, %25 kalsiyum, %0,2 flor'dan oluşur.

4.2 Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneysel Uygulamalar

Deneysel alışmalar, toplam 54 adet sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Tüm sıçanlar aynı ortamda gözetim altında tutuldu ve aynı standart sıçan yemi verilerek add-libitum su, yiyecek alımları sağlandı. Tüm sıçanlar 12 saat a bırakıldıktan sonra kuyruk venlerinden kan örneklere alındı ve bazal kan glukoz düzeyleri tesbit edildi. İlk tartımları yapılarak ağırlıkları kaydedildi. Sıçanlar, çalışmanın 2., 4. ve 6. haftalarının her birinde; kontrol, i.p. 0,1 M Fosfat-sitrat verilen kontrol ve i.p 50 mg/kg STZ verilen diyabetik olmak üzere 9 gruba ayrıldı;

Kontrol₂ grubu (Grup I): Bu grupta 6 adet sıçan, çalışmanın iki haftalık kontrol grubu olarak kullanıldı. Bu gruba deney süresince hiçbir uygulama yapılmadı. Çalışmanın başlangıcında ve sonunda düzenli bir şekilde ağırlık değişimleri ve glukoz düzeyleri kaydedildi.

Tampon₂ grubu (Grup II): Bu grupta 6 adet sıçan, çalışmanın iki haftalık tampon-kontrol grubu olarak kullanıldı. Bu gruba sadece 0,1 M Fosfat-sitrat tamponu i.p olarak enjekte edildi. 72 saat sonra, 12 saat açlık sonrasında kuyruk veninden alınan kanın glukometre cihazındaki ölçümü sonucu açlık kan glukoz düzeylerine bakıldı. Çalışmanın başlangıcında ve sonunda düzenli bir şekilde ağırlık değişimleri ve glukoz düzeyleri kaydedildi

Diyabet₂ grubu (Grup III): Bu grupta 6 adet sıçan, çalışmanın iki haftalık diyabetik grubu olarak kullanıldı. Bu gruba 50 mg/kg olacak şekilde tek doz STZ (Sigma Chemical Co Louis Missouri) 0,1 M Fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4,5) zdrlerek i.p olarak uygulandı. 72 saat sonra, 12 saat açlık sonrasında kuyruk veninden alınan kanın glukometre cihazındaki ölçümü sonucu açlık kan glukoz düzeyi 250 mg/dl'yi geçen sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi. Çalışmanın

başlangıcında ve sonunda düzenli bir şekilde ağırlık değişimleri ve glukoz düzeyleri kaydedildi

Kontrol₄ grubu (Grup IV): Bu grupta 6 adet sıçan, çalışmanın dört haftalık kontrol grubu olarak kullanıldı. Bu gruba deney süresince hiçbir uygulama yapılmadı. Çalışmanın başlangıcında ve sonunda düzenli bir şekilde ağırlık değişimleri ve glukoz düzeyleri kaydedildi.

Tampon₄ grubu (Grup V): Bu grupta 6 adet sıçan, çalışmanın dört haftalık tampon-kontrol grubu olarak kullanıldı. Bu gruba sadece 0,1 M Fosfat-sitrat tamponu i.p olarak enjekte edildi. 72 saat sonra, 12 saat açlık sonrasında kuyruk veninden alınan kanın glukometre cihazındaki ölçümü sonucu açlık kan glukoz düzeylerine bakıldı. Çalışmanın başlangıcında ve sonunda düzenli bir şekilde ağırlık değişimleri ve glukoz düzeyleri kaydedildi.

Diyabet₄ grubu (Grup VI): Bu grupta 6 adet sıçan, çalışmanın dört haftalık diyabetik grubu olarak kullanıldı. Bu gruba 50 mg/kg olacak şekilde tek doz STZ (Sigma Chemical Co Louis Missouri) 0,1 M Fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4,5) çözdürülerek i.p olarak uygulandı. 72 saat sonra, 12 saat açlık sonrasında kuyruk veninden alınan kanın glukometre cihazındaki ölçümü sonucu açlık kan glukoz düzeyi 250 mg/dl'yi geçen sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi. Çalışmanın başlangıcında ve sonunda düzenli bir şekilde ağırlık değişimleri ve glukoz düzeyleri kaydedildi.

Kontrol₆ grubu (Grup VII): Bu grupta 6 adet sıçan, çalışmanın altı haftalık kontrol grubu olarak kullanıldı. Bu gruba deney süresince hiçbir uygulama yapılmadı. Çalışmanın başlangıcında ve sonunda düzenli bir şekilde ağırlık değişimleri ve glukoz düzeyleri kaydedildi.

Tampon₆ grubu (Grup VIII): Bu grupta 6 adet sıçan, çalışmanın altı haftalık tampon-kontrol grubu olarak kullanıldı. Bu gruba sadece 0,1 M Fosfat-sitrat tamponu i.p olarak enjekte edildi. 72 saat sonra, 12 saat açlık sonrasında kuyruk veninden alınan kanın glukometre cihazındaki ölçümü sonucu açlık kan glukoz düzeylerine bakıldı. Çalışmanın başlangıcında ve sonunda düzenli bir şekilde ağırlık değişimleri ve glukoz düzeyleri kaydedildi

Diyabet₆ grubu (Grup IX): Bu grupta 6 adet sıçan, çalışmanın altı haftalık diyabetik grubu olarak kullanıldı. Bu gruba 50 mg/kg olacak şekilde tek doz STZ (Sigma Chemical Co Louis Missouri) 0,1 M Fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4,5) çözdürülerek i.p olarak uygulandı. 72 saat sonra, 12 saat açlık sonrasında kuyruk veninden alınan kanın glukometre cihazındaki ölçümü sonucu açlık kan glukoz düzeyi 250 mg/dl'yi geçen sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi. Çalışmanın başlangıcında ve sonunda düzenli bir şekilde ağırlık değişimleri ve glukoz düzeyleri kaydedildi.

4.3 Örneklerin Alınması

Tüm gruplardaki sıçanlar deney sonunda tartıldıktan sonra, grup I, II, III' dekiler deneyin 2. haftasının sonunda, grup IV, V, VI' dakiler deneyin 4. haftasının sonunda ve grup VII, VIII, IX'dakiler deneyin 6. haftasının sonunda ketamin (75mg/kg) + xylazine (10mg/kg) i.p uygulanarak anestezi altında dekapite edildiler. Dekapitasyonun ardından sıçanların böbrek dokuları hızla çıkarıldı. Çıkarılan böbrekler kurutma kâğıdı ile kurutulduktan hemen sonra hassas terazi ile tartıldı. Her bir sıçan için ayrı ayrı tüm böbrek ağırlığı tüm vücut ağırlığına bölünerek, böbrek / vücut ağırlığı indeksi tespit edildi. Bütün deney hayvanlarında böbrek / vücut ağırlığı indeksi için sol böbrek kullanıldı. Daha sonra böbrek dokuları % 10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi.

4.4 Biyokimyasal Çalışma

Kan glukoz düzeyleri çalışma süresince glukometre (GlukoDr süper sensor, All Medicus co. Ltd.-Korea) ile ölçüldü.

4.5 Histolojik Çalışma

Her gruptan alınan böbrek dokuları, % 10'luk formaldehit tespit solüsyonunda 24 saat süresince tespit edildikten sonra musluk suyu altında yıkamaya alındı. Musluk suyunda 24 saat yıkanan dokular daha sonra rutin histolojik takip serilerinden geçirildi (Tablo III). Daha sonra dokular parafin bloklara gömüldü. Bu parafin bloklardan 5–6 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E), Masson Trikrom, Toluidin mavisi ve PAS metodları ile boyandı. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskobunda (Olympus BH–2) incelenip fotoğraflandı.

Tablo III: Histolojik takip serileri

Sıra	İşlem	Süresi
1	%70 Alkol	2 saat
2	%80 Alkol	1,5 saat
3	%96 Alkol I	30 dakika
4	%96 Alkol II	30 dakika
5	%100 Alkol I	30 dakika
6	%100 Alkol II	30 dakika
7	Alkol + Xylol	15 dakika
8	Xylol I	15 dakika
9	Xylol II	15 dakika
10	Yumuşak parafin + Xylol	45 dakika
11	Yumuşak parafin	1 saat
12	Yumuşak parafin + Sert parafin	1,5 saat
13	Sert parafin	3 saat
14	Gömme	

4.6 İmmünohistokimyasal Çalışma

Böbrek dokusunda ghrelin immünreaktivitesinin belirlenmesi için Avidin-Biotin-Peroksidaz Kompleksi yöntemi uygulandı. Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo IV).

Tablo IV. İmmünohistokimyasal boyama prosedürü

Sıra	İşlem	Süre
1	Xylol I	10 dakika
2	Xylol II	10 dakika
3	Xylol III	10 dakika
4	% 100 Alkol	10 dakika
5	% 96 Alkol	10 dakika
6	% 80 Alkol	10 dakika
7	Distile su	5 dakika
8	Mikrodalga	7+5 dakika
9	Oda ısısında soğutma	20 dakika
10	PBS (Phosphate Buffered Saline)	3X5 dakika
11	H ₂ O ₂	10 dakika
12	PBS	3X5 dakika
13	Normal serum	60 dakika
14	Primer antikor	+4°C bir gece
15	PBS	3X5 dakika
16	Sekonder antikor	30 dakika
17	PBS	3X5 dakika
18	Streptavidin HRP (Horse radish peroksidaz)	20 dakika
19	PBS	3X5 dakika
20	AEC (3-Amino-9-ethyl carbazole)	5 dakika
21	Distile su	5 dakika
22	Zıt boya olarak Mayer's hematoksilen	10 saniye
23	Akarsuda	5 dakika
24	Özel kapatma maddesi ile kapatma	

Parafin bloklardan 5–6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildikten sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için H₂O₂ ile muamele edildi. Zemin boyasını engellemek için %20'lik normal eşek serumuyla muameleden sonra primer antikor (Ghrelin goat poliklonal IgG, Santa Cruz Biotechnology, California, USA) ile +4 °C de nemli ortamda bir gece inkübe edildi. Ertesi gün sekonder antikor (donkey anti-goat IgG, Santa Cruz Biotechnology, California, USA), streptavidin horseradish peroksidaz ve 3-Amino-9-ethyl carbazole kromojeni uygulandıktan sonra Mayer's hematoksilenle zıt boyama yapıldı. Negatif kontrol için hazırlanan dokularda primer antikor yerine phosphate buffered saline kullanıldı, diğer basamaklar aynı şekilde uygulandı. Pozitif kontrol için mide dokusu kullanıldı. Phosphate buffered saline ve distile sudan geçirilen dokular uygun kapatma solusyonu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus BH–2) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı.

İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde boyanmanın şiddeti esas alındı. Sitoplazmik immün boyanmanın şiddeti 0'dan +3'e kadar sayı ile semikantitatif olarak skorlandı (Tablo V).

Tablo V: İmmünohistokimyasal boyanma yoğunluğunun derecesi.

Derece	Anlamı
0	Yok
+1	Hafif
+2	Orta
+3	Şiddetli

4.7 İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler ortalama \pm standart hata olarak belirlendi. Elde edilen verilerin istatistiksel anlamlılık düzeyleri student t ve ANOVA testi ile belirlendi. $p < 0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

5.1 Klinik Bulgular

Diyabet₂ grubundaki sıçanların ağırlıklarında deneyin sonunda başlangıca göre bir azalma meydana geldi ($p<0.001$). Böbrek / tüm vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında Diyabet₂ grubunda kontrollere göre anlamlı artış tespit edildi ($p<0.001$). Fosfat-sitrat verilen Tampon₂ grubunda ise tüm parametrelerde Kontrol₂'ye göre anlamlı bir değişiklik görülmedi (Tablo VI).

Tablo VI. STZ uygulamasının 2. haftasında deney hayvanlarının başlangıç ve final vücut ağırlıkları ile böbrek/tüm vücut ağırlığı.

	Kontrol₂ (n=6)	Tampon₂ (n=6)	Diyabet₂ (n=6)
Başlangıç vücut ağırlığı (gr)	198±10	191±5	190±13
Final vücut ağırlığı (gr)	230±11	233±6	161±10 ^a
Böbrek / Tüm vücut ağırlığı ($\times 10^{-3}$)	3,8±0,2	3,6±0,1	5,6±0,2 ^a

Değerler ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

^a Kontrol gruplarına göre anlamlı olarak farklı ($p<0.001$).

Diyabet₄ grubundaki sıçanların ağırlıklarında deneyin sonunda başlangıca göre bir azalma meydana geldi ($p<0.05$). Böbrek / tüm vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında Diyabet₄ grubunda kontrollere göre anlamlı artış tespit edildi ($p<0.01$). Fosfat-sitrat verilen Tampon₄ grubunda ise tüm parametrelerde Kontrol₄'e göre anlamlı bir değişiklik görülmedi (TabloVII).

Tablo VII. STZ uygulamasının 4. haftasında deney hayvanlarının başlangıç ve final vücut ağırlıkları ile böbrek/tüm vücut ağırlığı.

	Kontrol₄ (n=6)	Tampon₄ (n=6)	Diyabet₄ (n=6)
Başlangıç vücut ağırlığı (gr)	189±6	193±6	232±17
Final vücut ağırlığı (gr)	259±9	273±13	210±15 ^b
Böbrek / Tüm vücut ağırlığı (x10 ⁻³)	3,8 ±0,1	3,8±0,2	5,1±0,2 ^a

Değerler ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

^a Kontrol gruplarına göre anlamlı olarak farklı (p<0.01).

^b Kontrol gruplarına göre anlamlı olarak farklı (p<0.05).

Diyabet₆ grubundaki sıçanların ağırlıklarında deneyin sonunda başlangıca göre bir azalma meydana geldi (p<0.001). Böbrek / tüm vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında Diyabet₆ grubunda kontrollere göre anlamlı artış tespit edildi (p<0.001). Fosfat-sitrat verilen Tampon₆ grubunda ise tüm parametrelerde Kontrol₆ 'ya göre anlamlı bir değişiklik görülmedi (Tablo VIII).

Tablo VIII. STZ uygulamasının 6. haftasında deney hayvanlarının başlangıç ve final vücut ağırlıkları ile böbrek/tüm vücut ağırlığı.

	Kontrol₆ (n=6)	Tampon₆ (n=6)	Diyabet₆ (n=6)
Başlangıç vücut ağırlığı (gr)	197±5	192±4	234±9
Final vücut ağırlığı (gr)	308±6	296±3	197±4 ^a
Böbrek / Tüm vücut ağırlığı (x10 ⁻³)	3,8±0,2	3,8± 0,1	5,2±0,1 ^a

Değerler ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

^a Kontrol gruplarına göre anlamlı olarak farklı (p<0.001).

5.2 Biyokimyasal Bulgular

Diyabet₂ grubundaki sıçanların kan glukozunun kontrollere göre anlamlı olarak yükseldiği belirlendi ($p<0.001$), (Tablo IX).

Tablo IX. STZ uygulamasının 2. haftasında deney hayvanlarının başlangıç ve final kan-glukoz değerleri.

	Kontrol₂ (n=6)	Tampon₂ (n=6)	Diyabet₂ (n=6)
Başlangıç kan-glukoz değerleri(mg/dl)	94±8	104±6	91±9
Final kan- glukoz değerleri (mg/dl)	100±4	108±7	434±31 ^a

Değerler ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

^a Kontrol gruplarına göre anlamlı olarak farklı ($p<0.001$).

Diyabet₄ grubundaki sıçanların kan glukozunun kontrollere göre anlamlı olarak yükseldiği belirlendi ($p<0.001$), (Tablo X).

Tablo X. STZ uygulamasının 4. haftasında deney hayvanlarının başlangıç ve final kan-glukoz değerleri.

	Kontrol₄ (n=6)	Tampon₄ (n=6)	Diyabet₄ (n=6)
Başlangıç kan-glukoz değerleri(mg/dl)	94±8	99±6	84±8
Final kan- glukoz değerleri (mg/dl)	104±2	104±4	452±40 ^a

Değerler ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

^a Kontrol gruplarına göre anlamlı olarak farklı ($p<0.001$).

Diyabet₆ grubundaki sıçanların kan glukozunun kontrollere göre anlamlı olarak yükseldiği belirlendi ($p<0.001$), (Tablo XI).

Tablo XI. STZ uygulamasının 6.haftasında deney hayvanlarının başlangıç ve final kan-glukoz değerleri.

	Kontrol₆ (n=6)	Tampon₆ (n=6)	Diyabet₆ (n=6)
Başlangıç kan-glukoz değerleri(mg/dl)	103±9	95±6	115±14
Final kan- glukoz değerleri (mg/dl)	111±6	102±4	471±33 ^a

Değerler ortalama±standart hata olarak verilmiştir.

^a Kontrol gruplarına göre anlamlı olarak farklı (p<0.001).

5.3 Histolojik Bulgular

Işık mikroskobu incelemelerinde, her iki kontrol grubu arasında herhangi bir farklılık gözlenmedi.

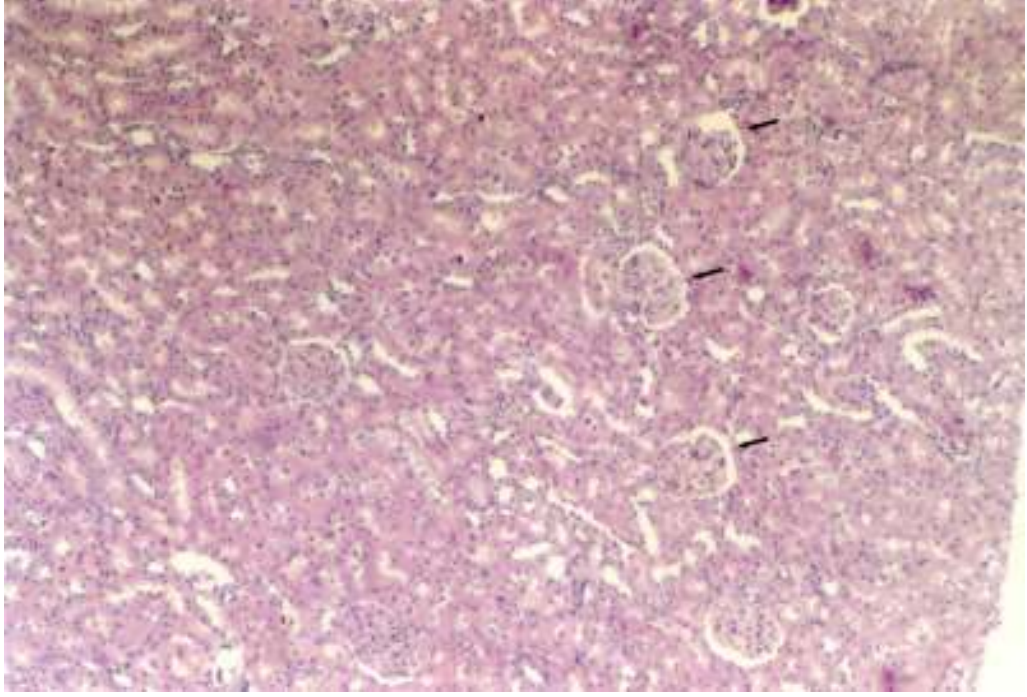
Kontrol grubuna ait böbrek dokularında, glomerül ve tübül yapıları normal olarak izlendi (Şekil 5). Diyabetin ikinci, dördüncü ve altıncı haftalarında ise glomerül ve tübüllerde bazı histopatolojik değişiklikler belirlendi (Şekil 6, 7, 8).

Diyabetin ikinci haftasında, kontrollerle karşılaştırıldığında sadece bazı glomerüllerde daha bariz olan hafif bir mezangial matriks artışı izlendi (Şekil 9, 10, 11, 12). Diyabetin dördüncü haftasında ise glomerüllerde hipertrofi ve mezangial matriks artışı belirgin bir görünümdeydi. Ayrıca glomerül kapillerlerinin bazal membranları bazı glomerüllerde belirgin olarak kalınlaşmıştı (Şekil 13, 14). Bazı glomerüllerde ise Bowman mesafesinde daralma dikkati çaktı (Şekil 13), ancak bu durum en belirgin olarak altıncı haftada gözlemlendi (Şekil 15, 17, 18). Öyleki altıncı haftada bazı glomerüllerin etrafında daralmış olan Bowman mesafesi nedeniyle küçük büyütmelemlerde glomerül yapıları neredeyse seçilememekteydi (Şekil 8). Diyabetin altıncı haftasında az sayıda glomerülde Bowman mesafesinde izlenen kollajenöz madde birikimi de dikkati çaktı (Şekil 16). Glomerüllerde mezangial matriks ve hücre artışı en belirgin olarak altıncı haftada gözlemlendi (Şekil 15, 17).

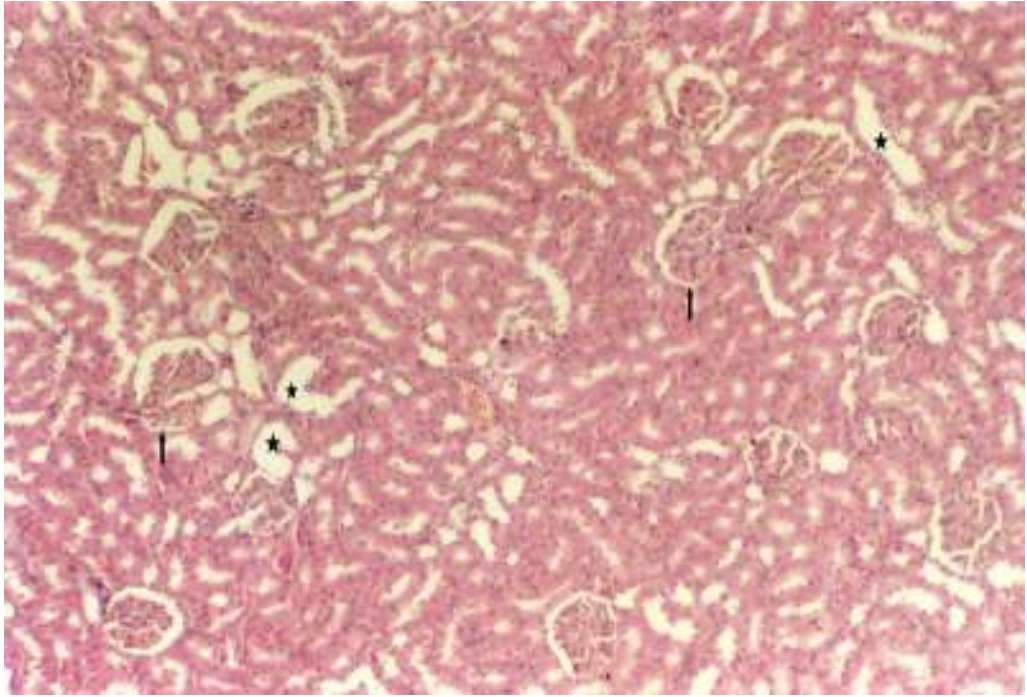
Ayrıca diyabetin altıncı haftasında bazı glomerüllerde Bowman kapsülünün periyetal yaprağındaki kalınlaşma belirgindi (Şekil 16, 17).

Diyabetin ikinci haftasında böbrek tübüllerinde, az sayıda tübül kesitinde gözlenen dilatasyon ve glukojenik vakuolizasyon dışında belirgin bir histolojik değişiklik izlenmedi (Şekil 6, 19). Böbrek korteksinde diyabetin ikinci haftasından itibaren gözlenen ve diyabetin altıncı haftasına doğru gittikçe artan glukojenik vakuolizasyonu gösteren, şeffaf görünümlü tübüller (Armani-Ebstein lezyonları) dikkati çekti (Şekil 19, 20, 21). Armani-Ebstein lezyonları en yoğun olarak diyabetin altıncı haftasında gözlendi (Şekil 21, 22, 23). Farklı boyamalarda da glikojen birikimine bağlı olarak şeffaf görünümlü, boya almamış hücre sitoplazması belirgin olarak izlendi (Şekil 22, 23).

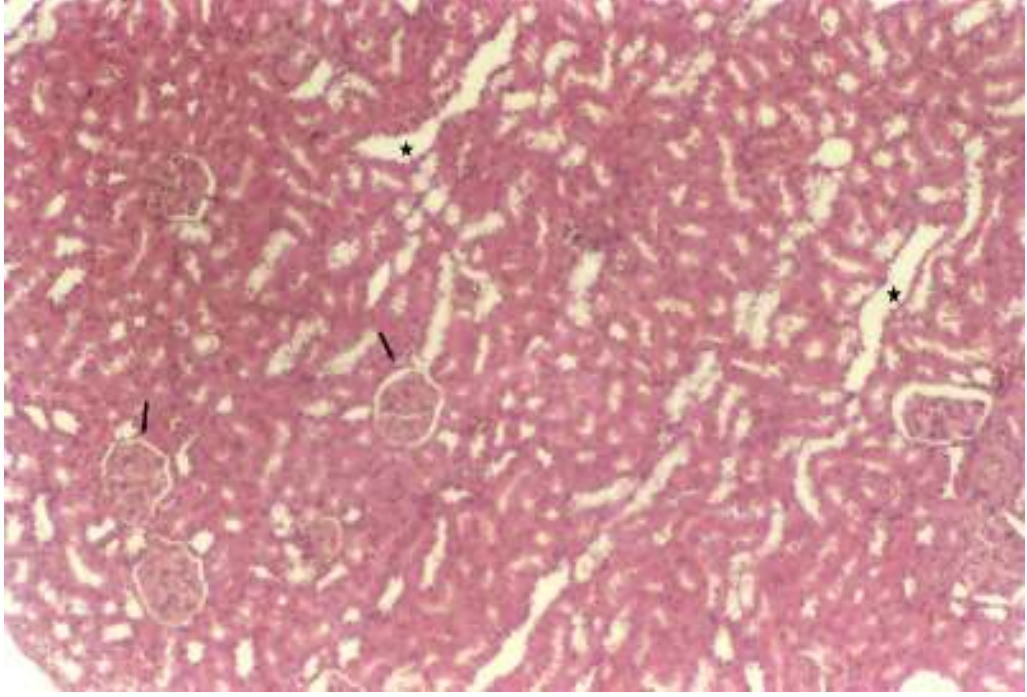
Kontrollerle karşılaştırıldığında, tübül epitellerinin fırçamsı kenarlarında, diyabetin ikinci haftasından başlayarak, diyabetin altıncı haftasına doğru giderek artan ayrılma ve bozulmalar belirlendi (Şekil 24, 25, 26, 27). Ayrıca diyabetin altıncı haftasında, tübül bazal membranlarında kalınlaşma dikkati çekti (Şekil 27). Tübüler dilatasyon da en belirgin olarak altıncı haftada izlendi (Şekil 8). Kontrollerle karşılaştırıldığında diyabetin dördüncü haftasından itibaren, bazı tübüllerin epitel hücre sitoplazmalarında toluidin mavisi boyama yöntemi ile belirgin halde ve fazla sayıda koyu boyanmış, farklı irilikte tanecikler dikkati çekti (Şekil 28, 29a). Bu tanecikler böbrek tübül hücrelerinin sitoplazmalarında en yoğun olarak diyabetin altıncı haftasında gözlendi (Şekil 29b). Ayrıca diyabetin altıncı haftasında, böbrek dokusunda perivasküler ödem de mevcuttu (Şekil 30).



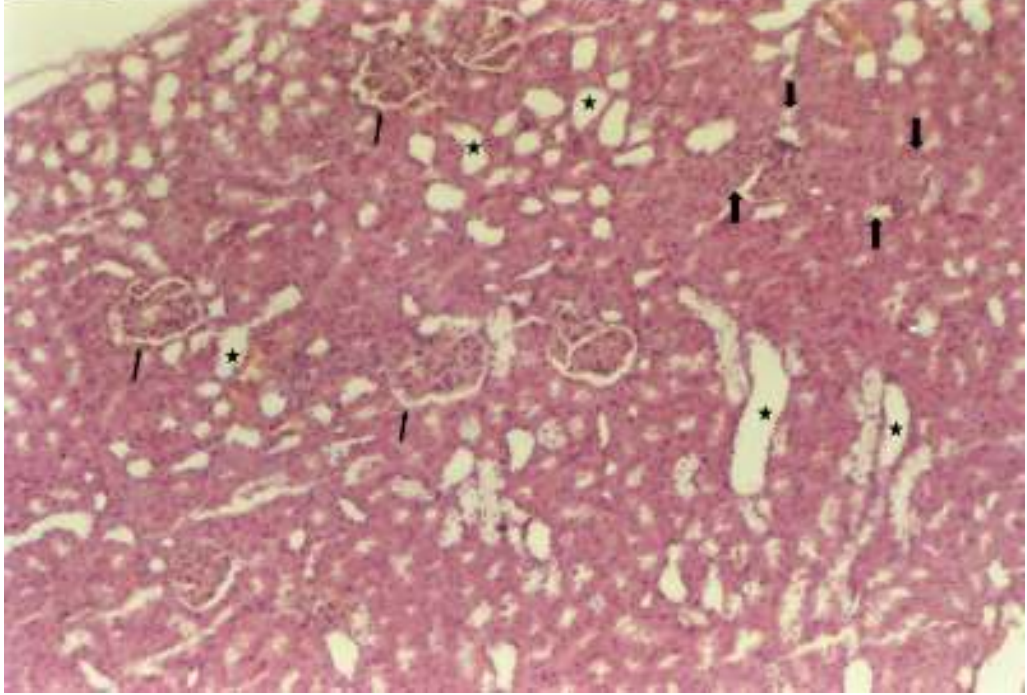
Şekil 5. Kontrol grubunda normal böbrek histolojisi. Glomerüller (→). H&E X 4.



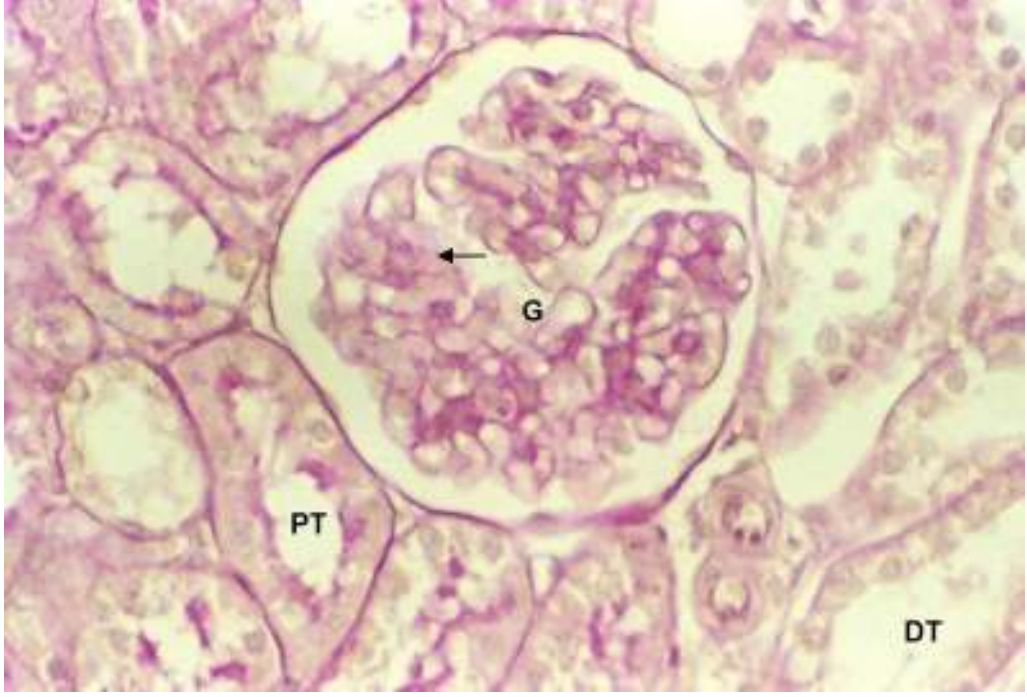
Şekil 6. Diyabetin II. Haftasında böbrek dokusu. Glomerüller (→) ve tübüler dilatasyon (★). H&E X 4.



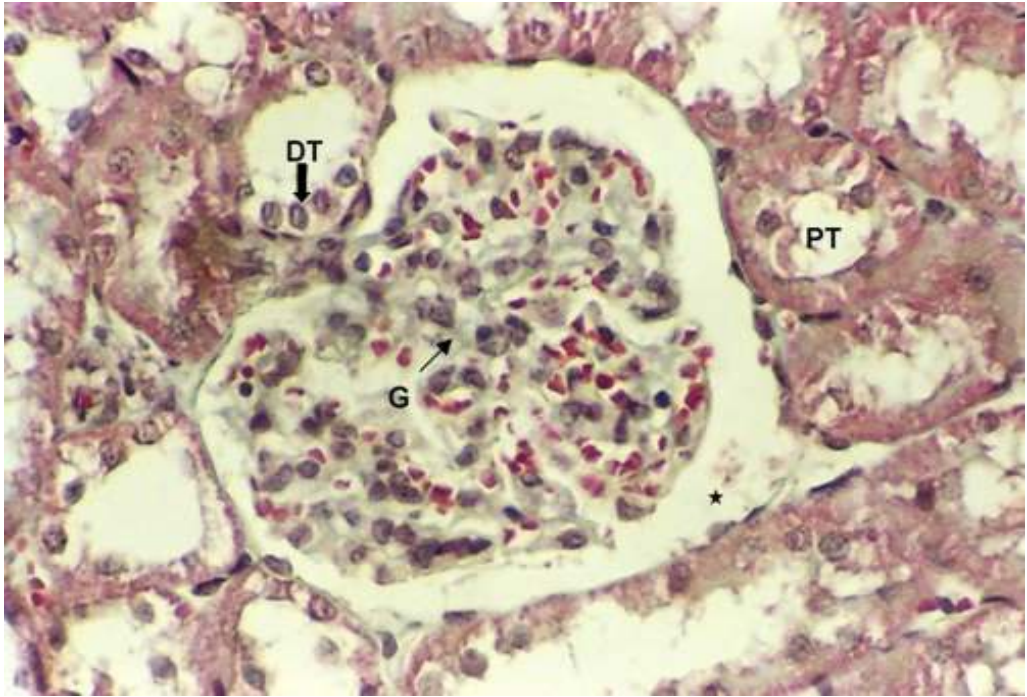
Şekil 7. Diyabetin IV. Haftasında böbrek dokusu. Glomerüller (→) ve tübüler dilatasyon (★). H&E X 4.



Şekil 8. Diyabetin VI. Haftasında böbrekte glomerüller (→), ayırt edilemeyen glomerüller (▲) ve tübüler dilatasyon (★). H&E X 4.



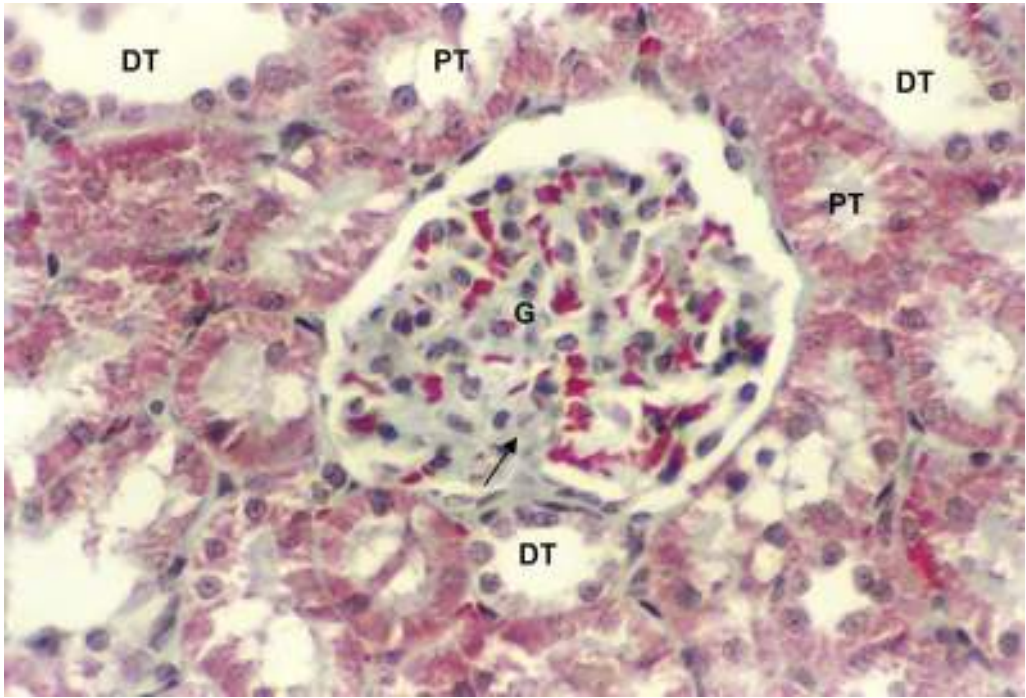
Şekil 9. Kontrol grubunda bir glomerül (G), proksimal (PT) ve distal (DT) tübüller. Mezangial matriks (→). PAS X 20.



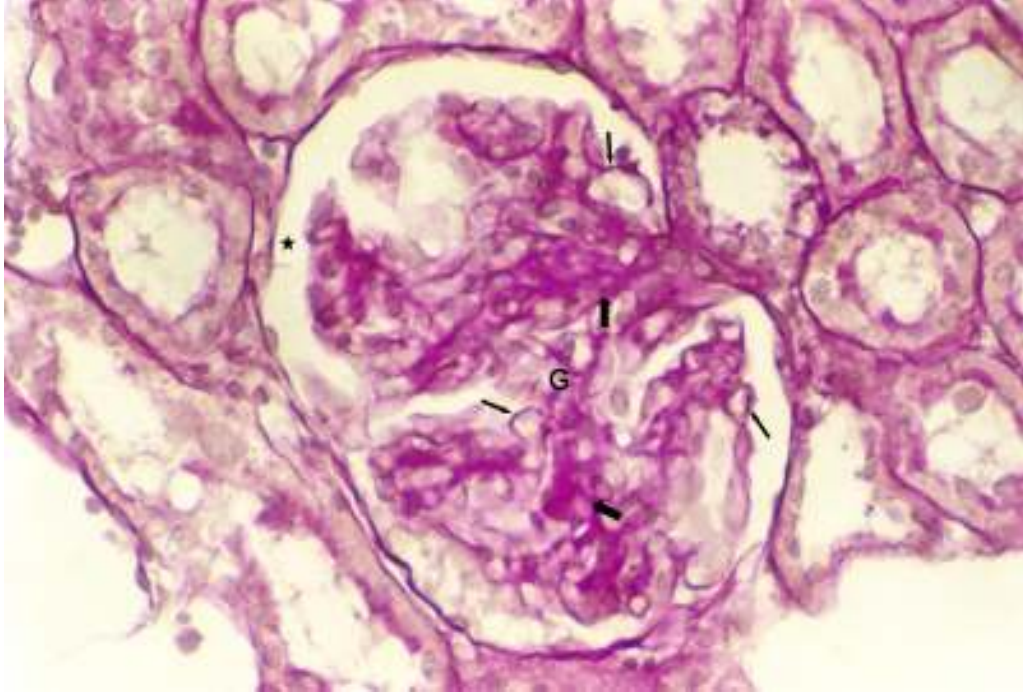
Şekil 10. Kontrol grubunda bir glomerül (G), proksimal (PT) ve distal (DT) tübüller ve Makula Densa (▲). Bowman mesafesi (★). Mezangial matriks (→). Masson Trikrom X 20.



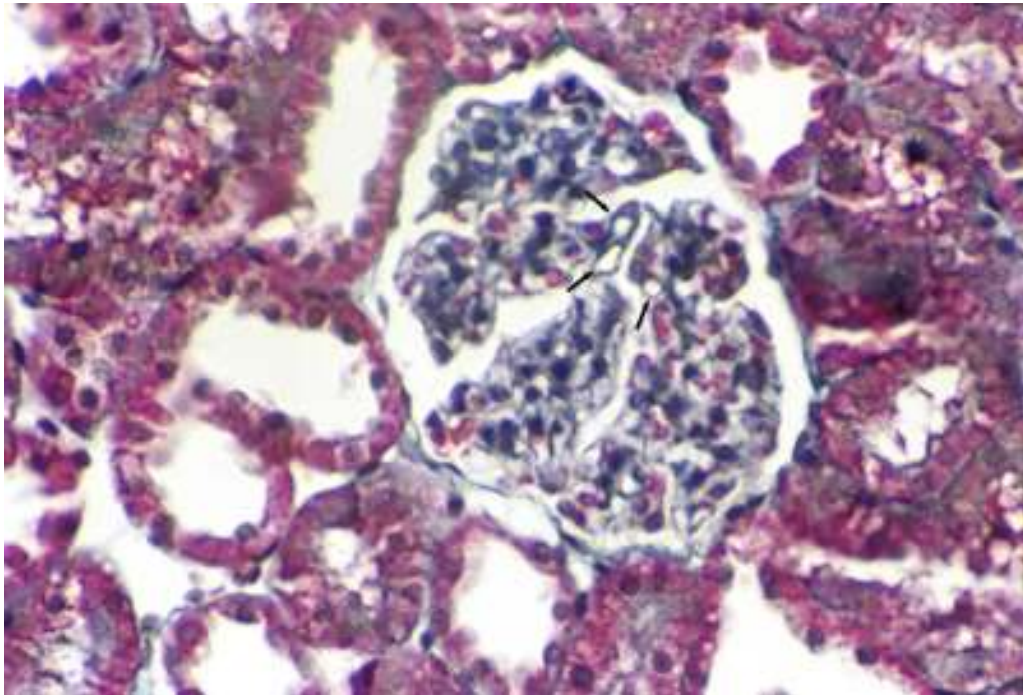
Şekil 11. Diyabetin II. Haftasında bir glomerülde (G) hafif mezangial matriks artışı (→). PAS X 20.



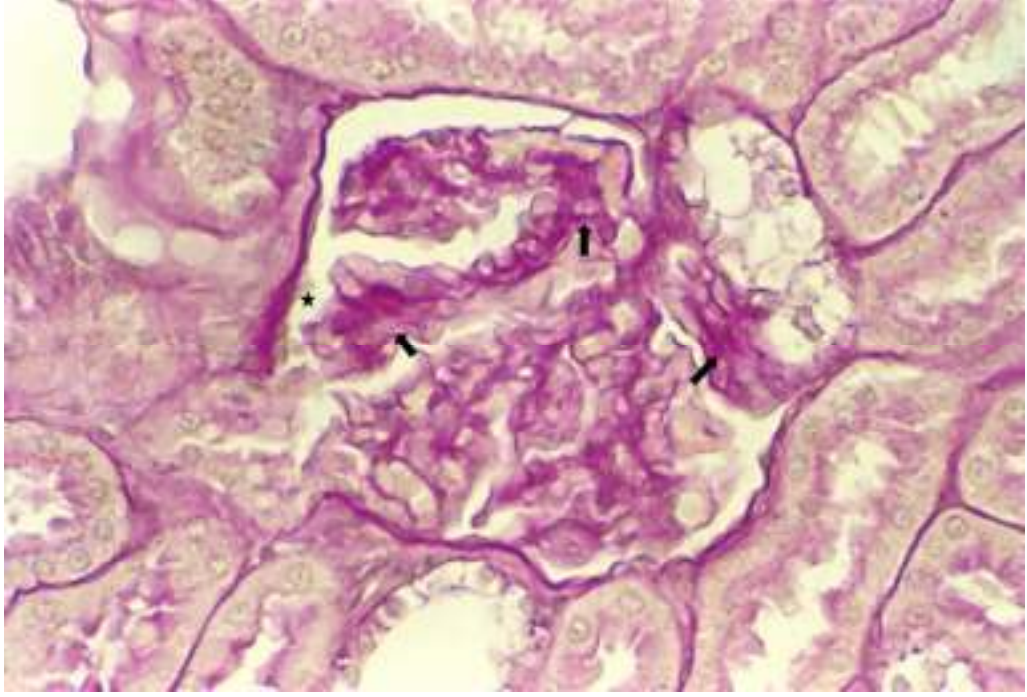
Şekil 12. Diyabetin II. Haftasında bir glomerül (G), proksimal (PT) ve distal (DT) tübüller. Hafif mezangial matriks artışı (→). Masson Trikrom X 20.



Şekil 13. Diyabetin IV. Haftasında hipertrofik bir glomerülde (G) kapiller bazal membran kalınlaşması (→) ve mezangial matriks artışı (⬆). Bowman mesafesi (★). PAS X 20.



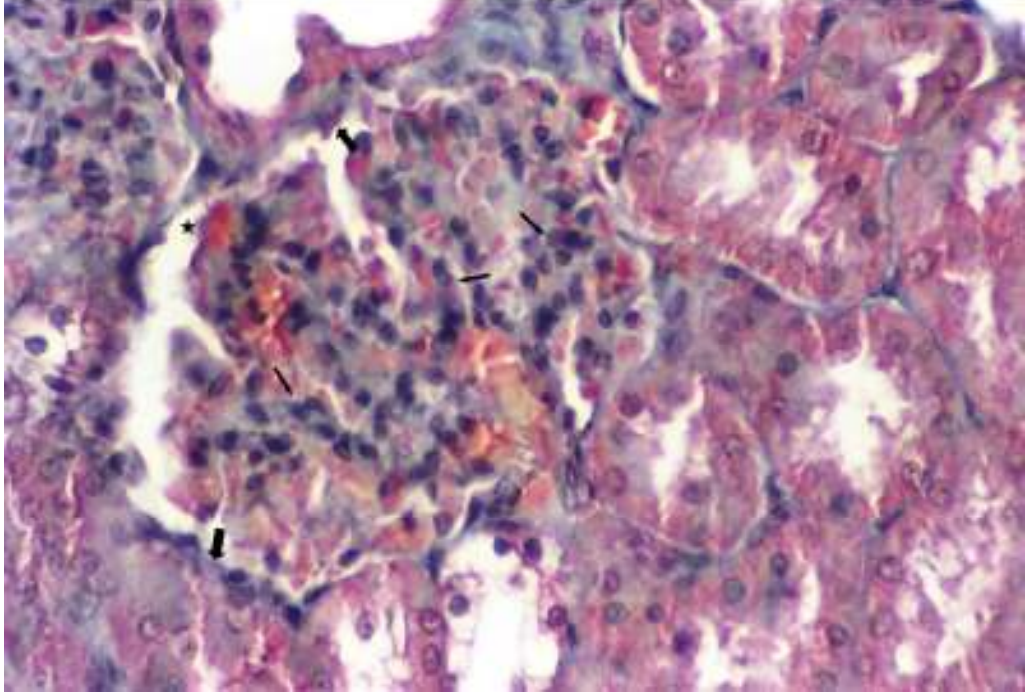
Şekil 14. Diyabetin IV. Haftasında glomerüler kapiller bazal membranında kalınlaşma (→). Masson Trikrom X 20.



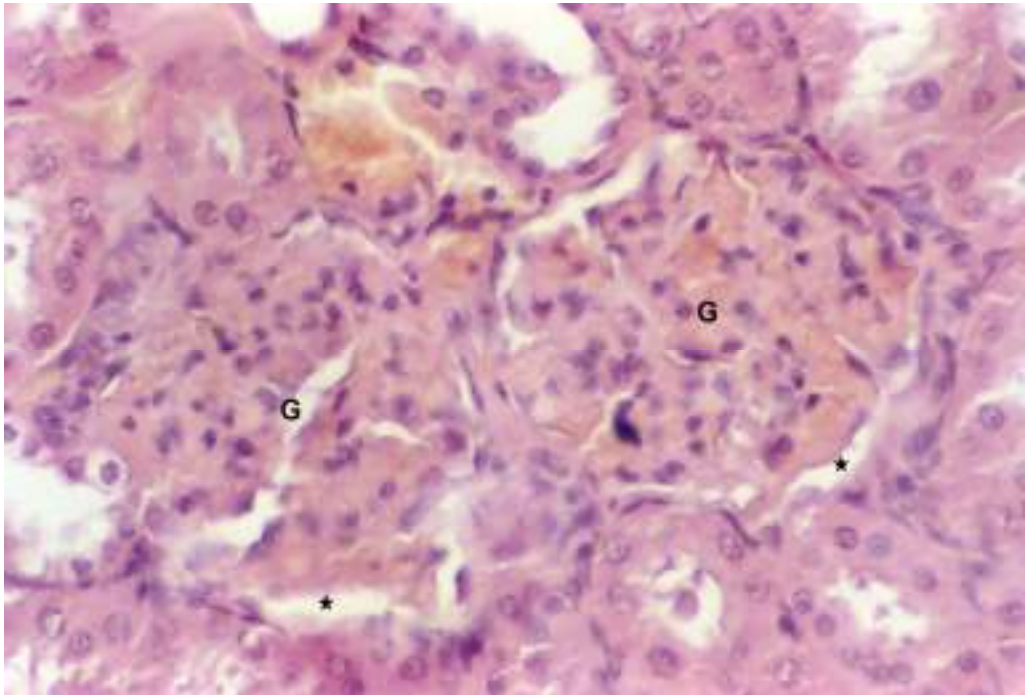
Şekil 15. Diyabetin VI. Haftasında bir glomerülde mezangial matriks artışı (↑) ve Bowman mesafesinde daralma (★). PAS X 20.



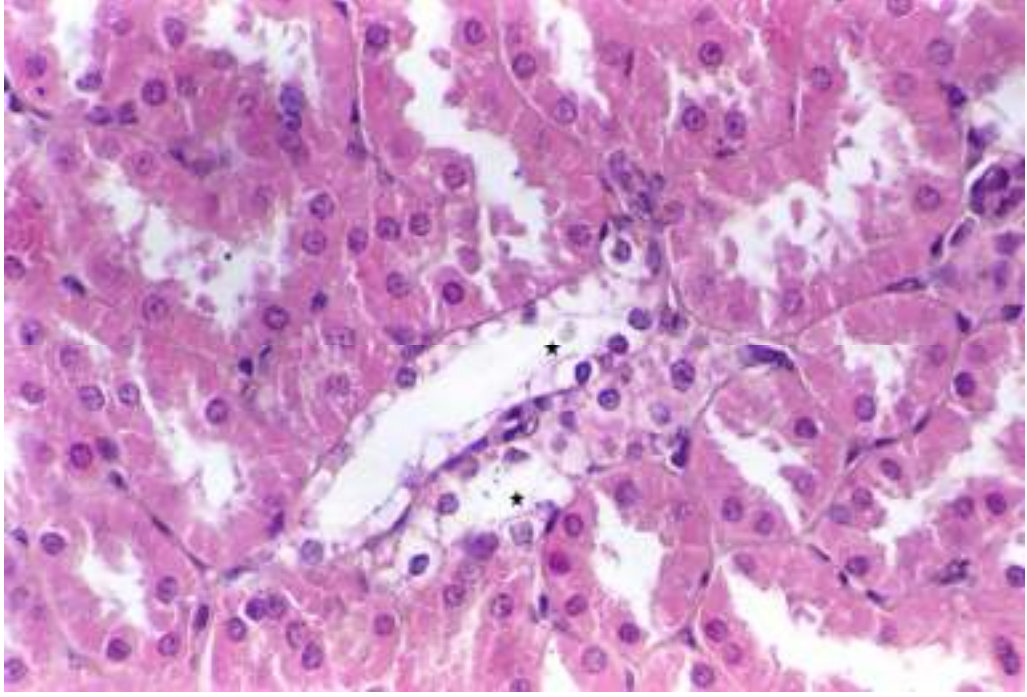
Şekil 16. Diyabetin VI. Haftasında bir glomerülde kollajenöz madde birikimi (→) ve Bowman kapsülünün pariyetal yaprağında kalınlaşma (★). PAS X 20.



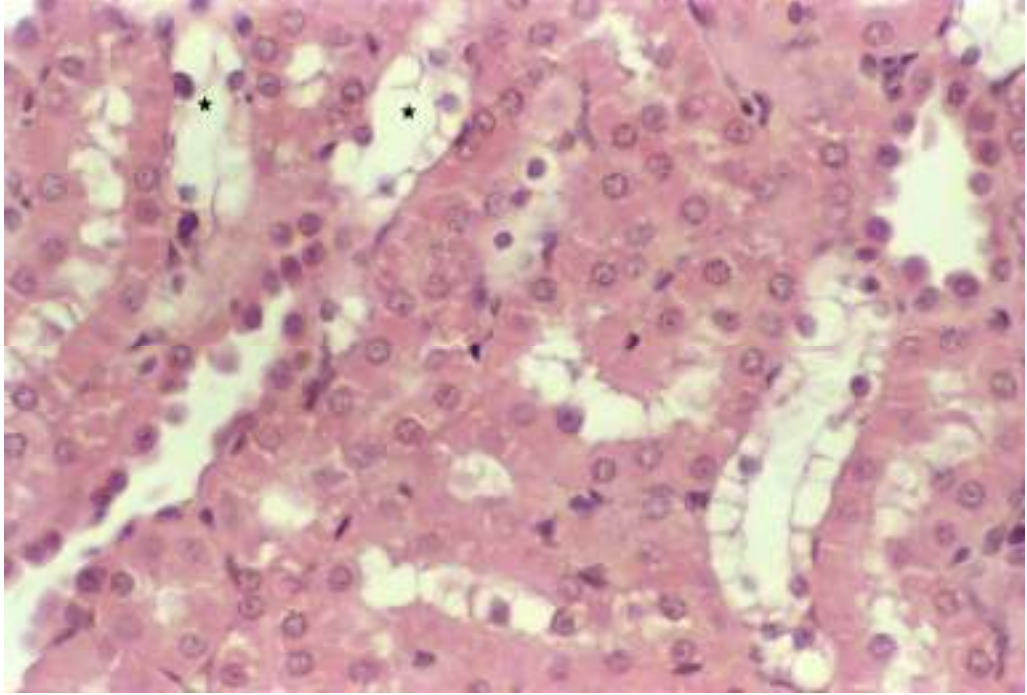
Şekil 17. Diyabetin VI. Haftasında bir glomerülde mezangial hücre artışı (→), Bowman kapsülünün pariyetal yaprağında kalınlaşma (▲) ve Bowman mesafesinde daralma (★). Masson Trikrom X 20.



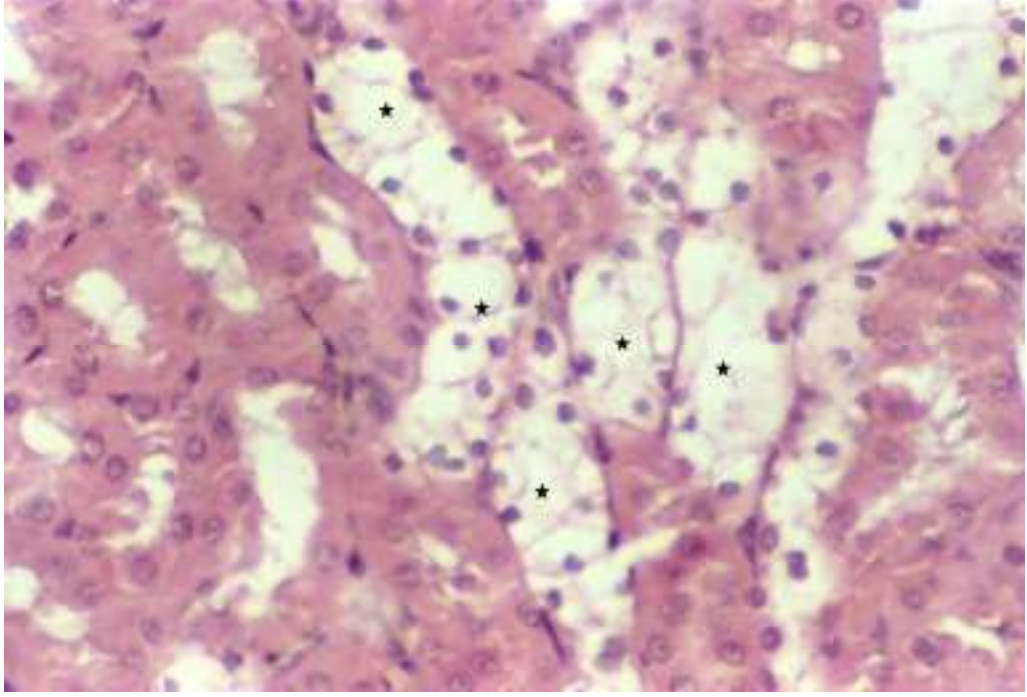
Şekil 18. Diyabetin VI. Haftasında böbrek korteksinde glomerüllerde (G) Bowman mesafesinde ileri derecede daralma (★). H&E X 20.



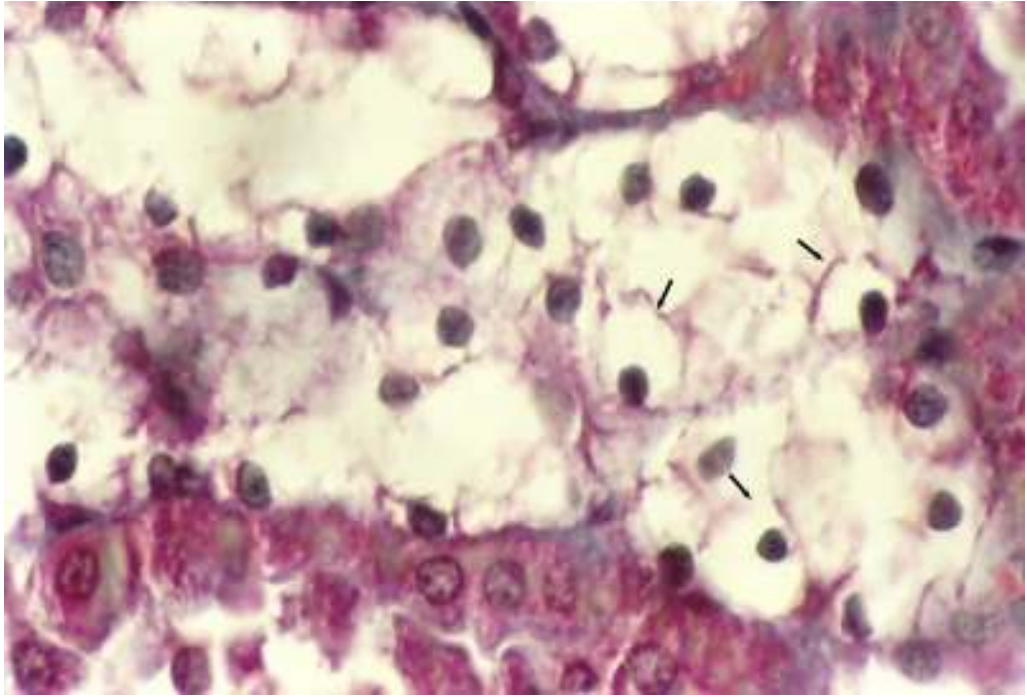
Şekil 19. Diyabetin II. Haftasında glikojenik vakuolizasyon izlenen böbrek tübülleri (★). H&E X 20.



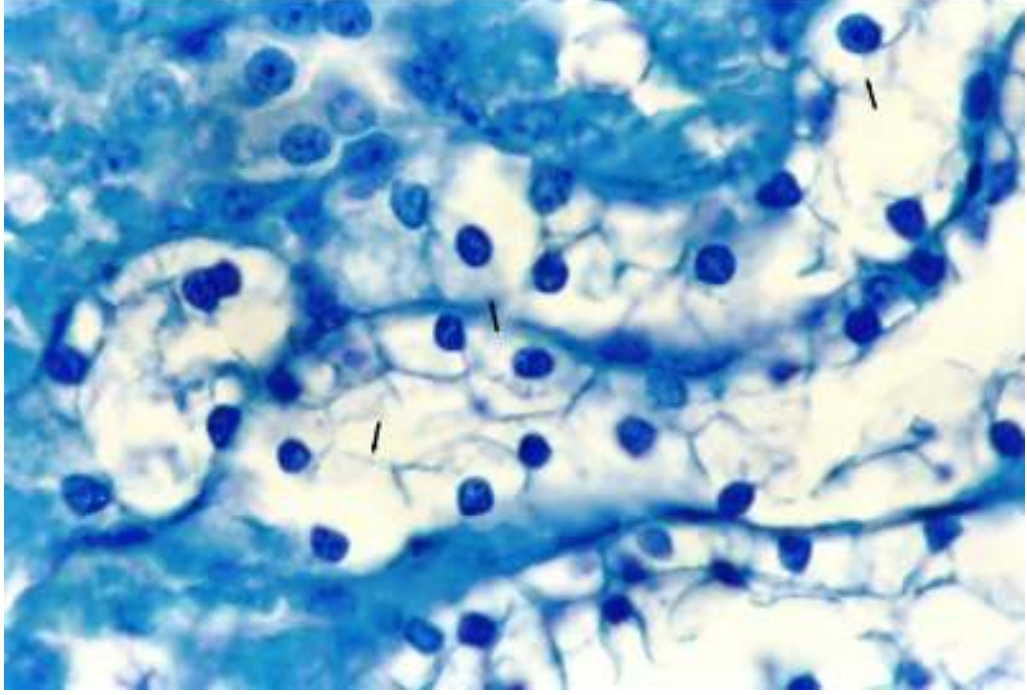
Şekil 20. Diyabetin IV. Haftasında böbrek tübüllerinde Armani-Ebstein lezyonları (★). H&E X 20.



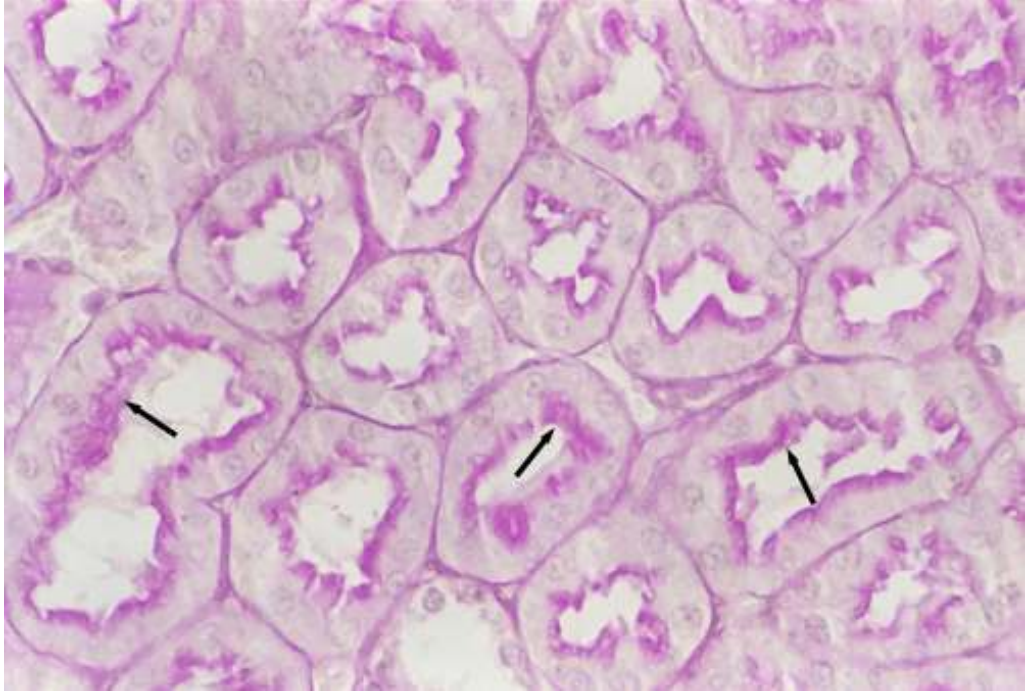
Şekil 21. Diyabetin VI. Haftasında böbrek tübüllerinde Armani-Ebstein lezyonları (★) yoğun olarak izlenmekte. H&E X 20.



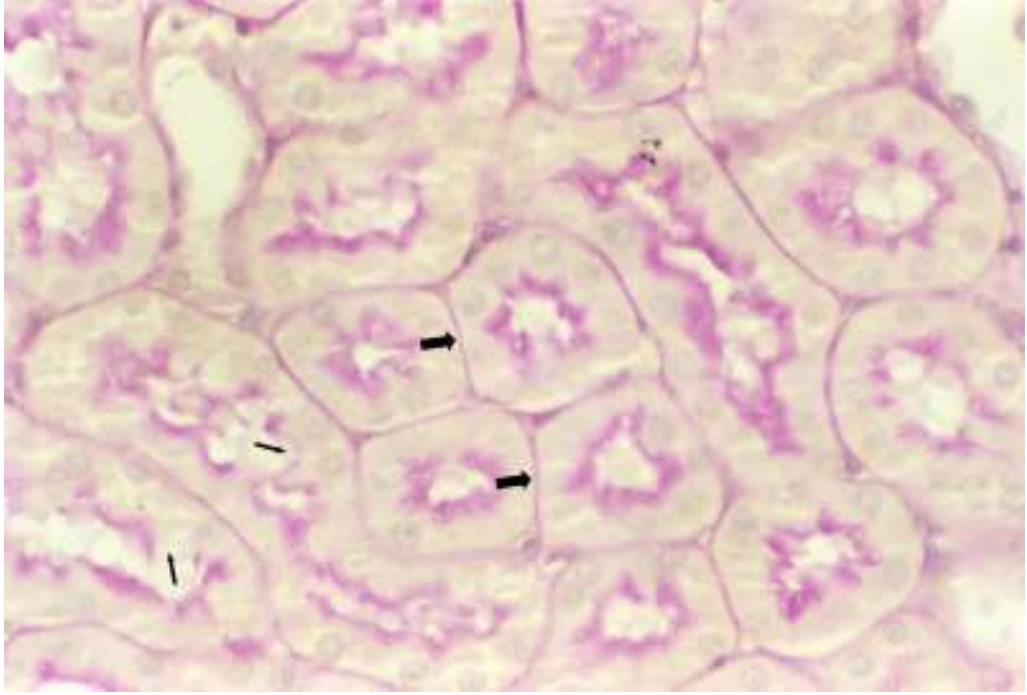
Şekil 22. Diyabetin VI. Haftasında Armani-Ebstein lezyonlarında şeffaf görümlü tübül hücreleri (→). Masson Trikrom X 40.



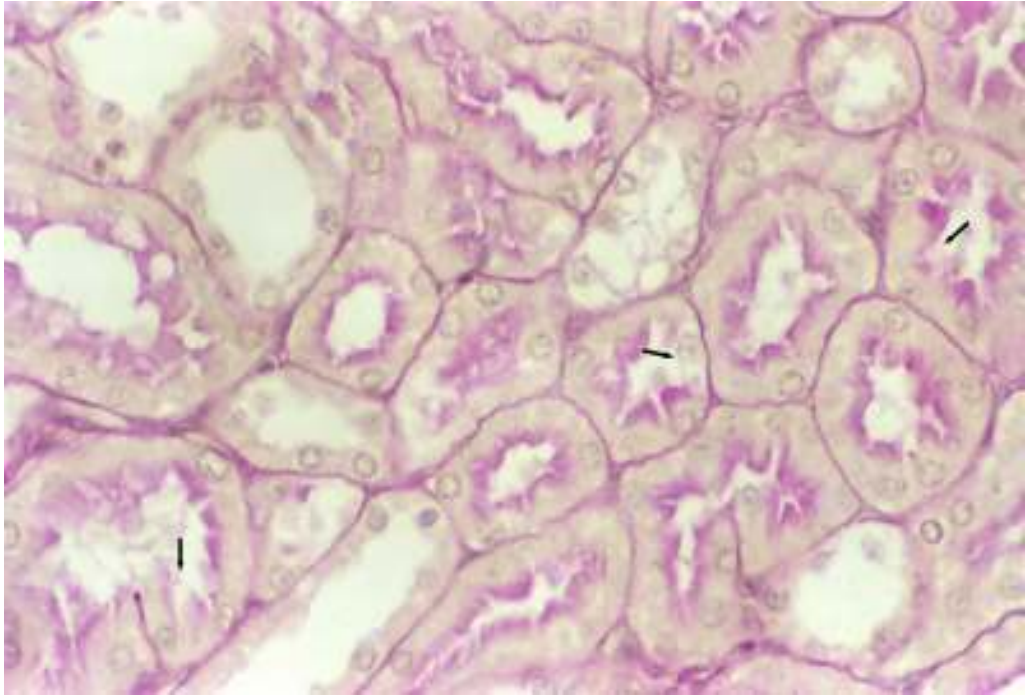
Şekil 23. Diyabetin VI. Haftasında Armani-Ebstein lezyonlarında şeffaf görünümlü tübül hücreleri (→). Toluidin Mavisi X 40.



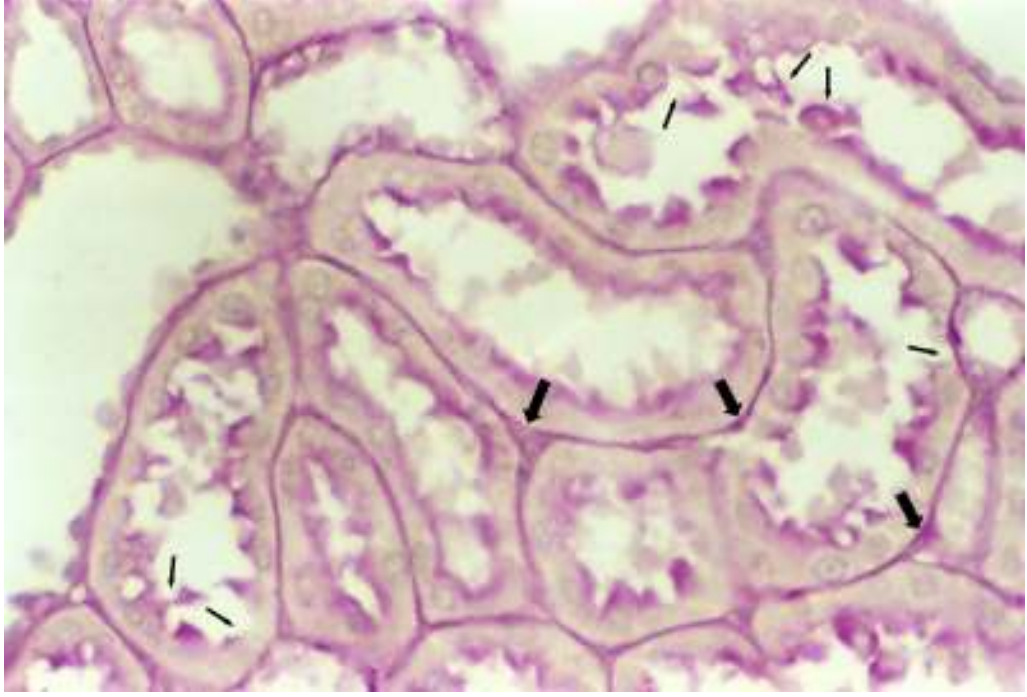
Şekil 24. Kontrol grubunda tübül epitelleri ve fırçası kenarın (→) görünümü. PAS X 20.



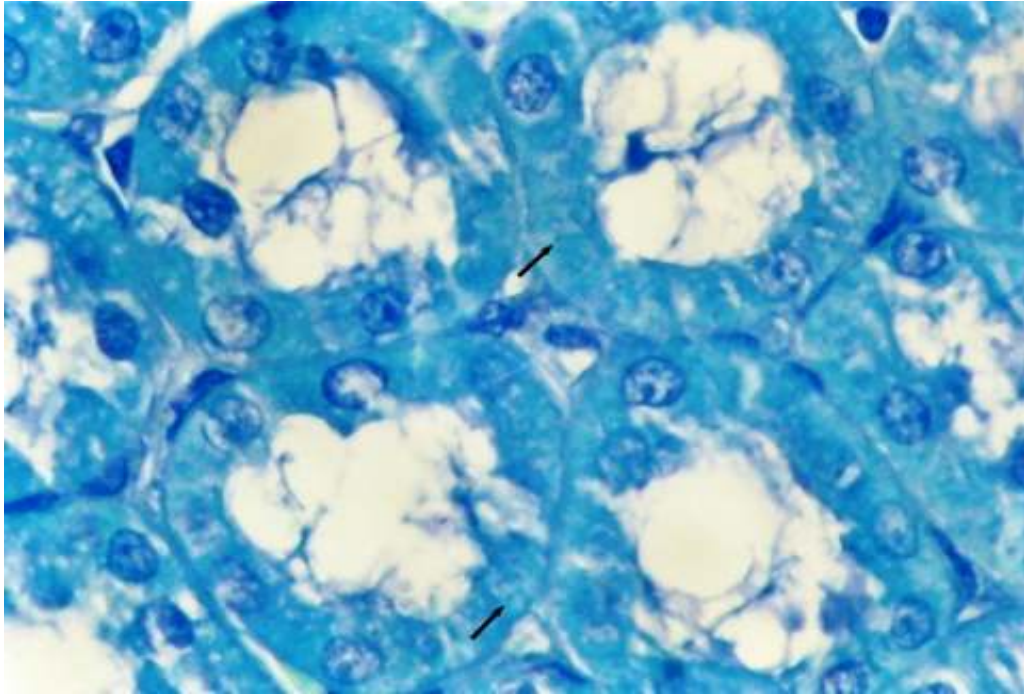
Şekil 25. Diyabetin II. Haftasında az sayıda tübül kesitinde fırçasmsı kenarda ayrılma ve bozulmalar (→). Tübül bazal membranı (↗). PAS X 20.



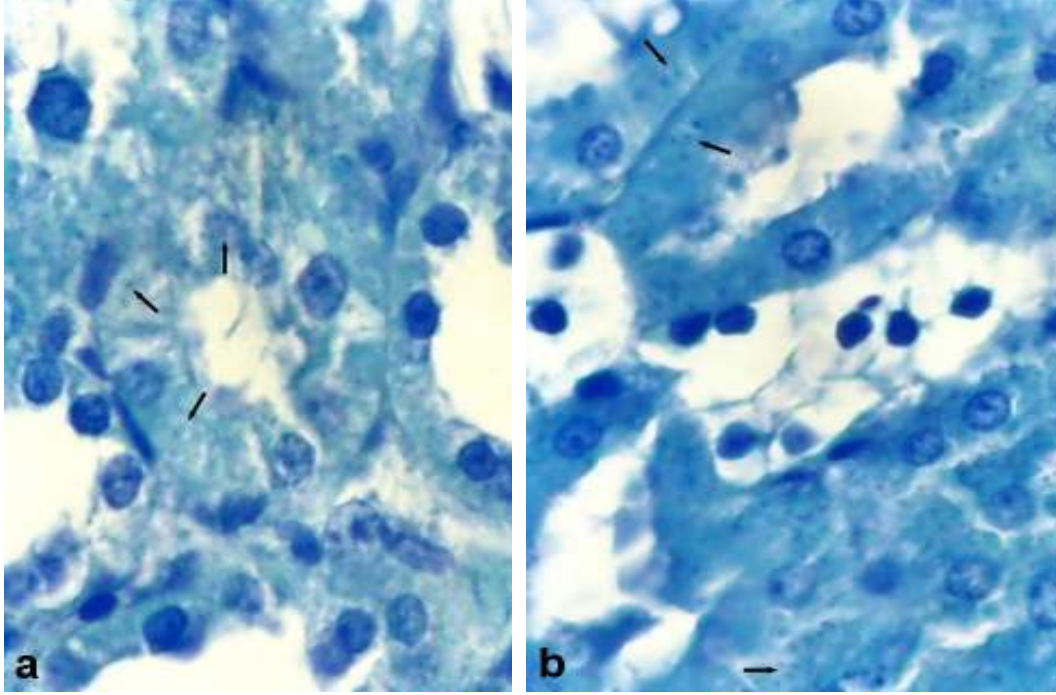
Şekil 26. Diyabetin IV. Haftasında fırçasmsı kenarda ayrılma ve bozulmalar (→). PAS X 20.



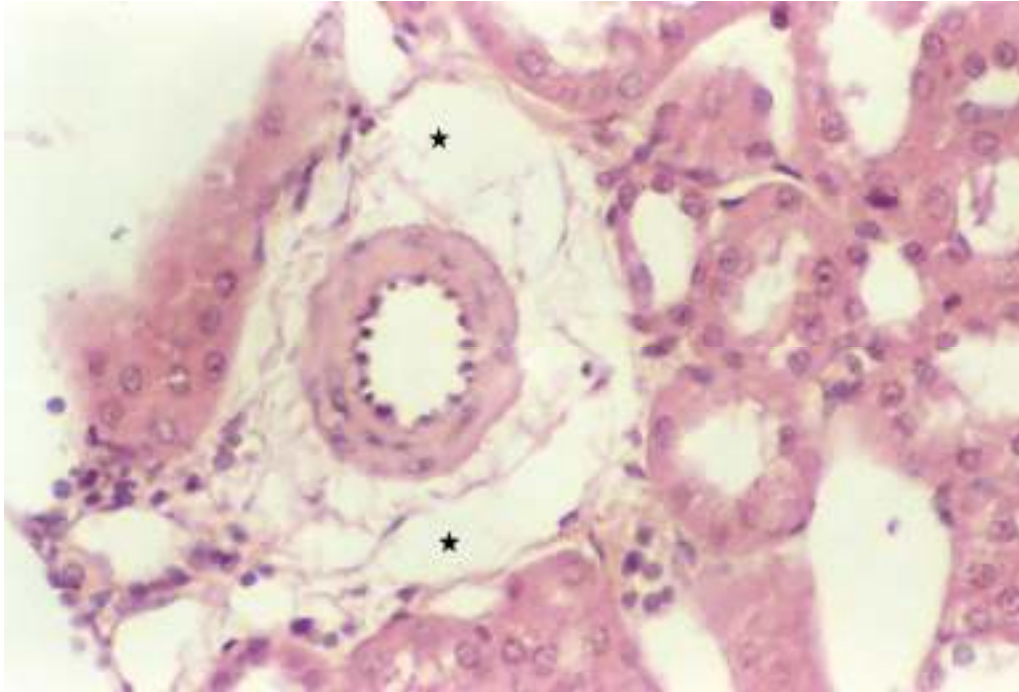
Şekil 27. Diyabetin VI. Haftasında çok sayıda tübül kesitinde fırçamsı kenarda ayrılma ve bozulmalar (→). Tübül bazal membranında kalınlaşma (▲). PAS X 20.



Şekil 28. Kontrol grubunda böbrek tübül hücrelerinin sitoplazmasında çok seyrek İzlenen granül benzeri tanecikler (→). Toluidin Mavisi X 40.



Şekil 29a,b. Diyabetin IV. Haftasında (a) ve VI. Haftasında (b) böbrek tübül hücrelerinin sitoplazmasında granül benzeri tanecikler (→). Toluidin Mavisi X 40.



Şekil 30. Diyabetin VI. Haftasında böbrek korteksinde perivasküler ödem (★). H&E X 20.

5.4 İmmünohistokimyasal Bulgular

Işık mikroskobu incelemelerinde ghrelin immünreaktivitesi açısından, kontrol grupları arasında herhangi bir farklılık gözlenmedi.

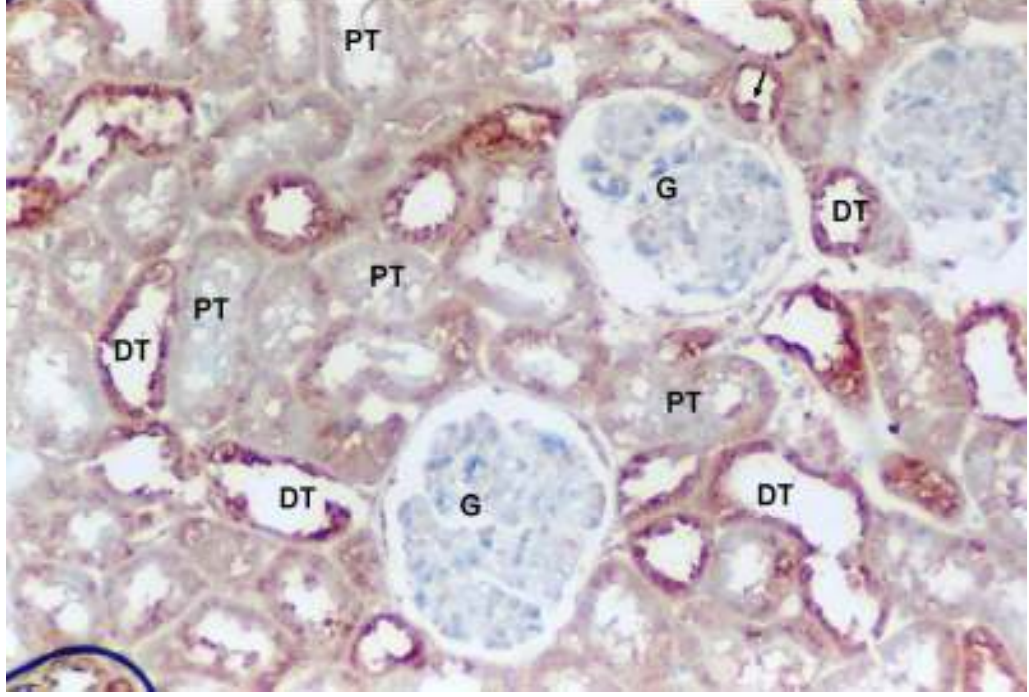
Kontrol grubuna ait kesitlerde böbrek korteksinde pozitif boyanma belirgin olarak makula densa bölgesini de içeren distal tübüllerde izlendi (Şekil 31). Aynı şekilde böbrek medullasında da ghrelin immünreaktivitesi distal tübül kesitlerinde gözlemlendi (Şekil 33). Distal tübüllerdeki ghrelin immünreaktivitesi orta şiddette (++) olarak değerlendirildi (Şekil 31, 32, 33). Glomerüller, proksimal tübül, henle kulpunun ince parçası ve toplayıcı kanallarda ghrelin immünreaktivitesi gözlenmedi (Şekil 32, 33, 34).

Diyabetin ikinci haftasında, böbrek korteks ve medullasında ghrelin immünreaktivitesi kontrollerdekine benzer bir görünümdeydi (Şekil 35, 36, 37). Aynı şekilde distal tübüllerde orta şiddette (++) ghrelin immünreaktivitesi izlenirken, glomerüller, proksimal tübül ve henle kulpunun ince parçasında ghrelin immünreaktivitesi gözlenmedi (Şekil 35, 36, 37). Böbrek papillasında toplayıcı kanal kesitlerinde hafif (+) bir ghrelin immünreaktivitesi izlendi (Şekil 38).

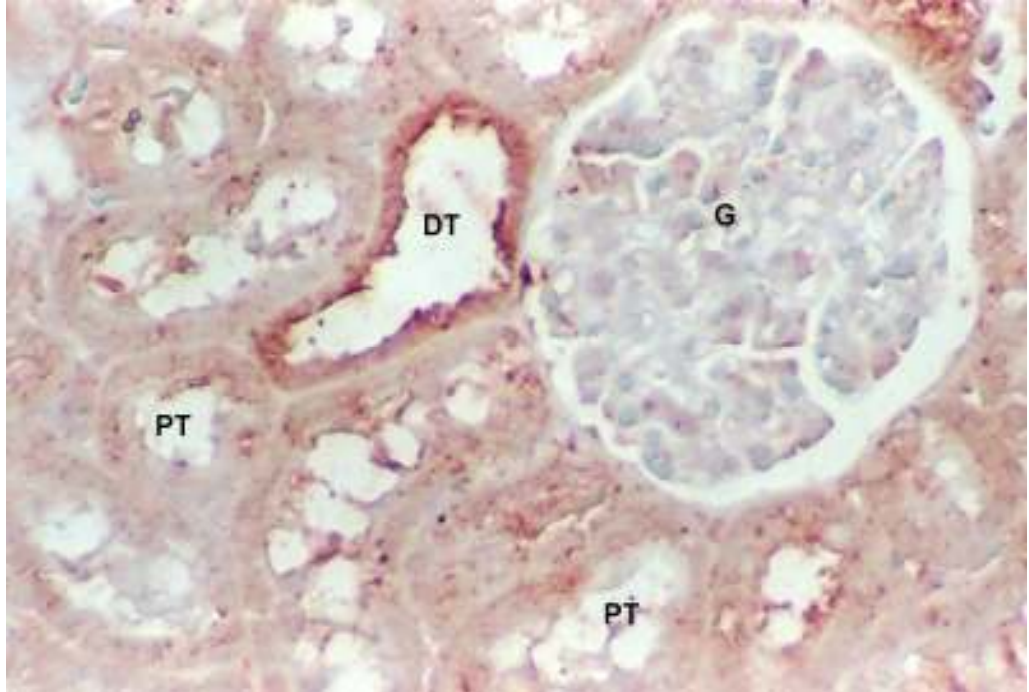
Diyabetin dördüncü ve altıncı haftasında ise böbrekte ghrelin immünreaktivitesi açısından önemli farklılıklar belirlendi. Diyabetin dördüncü ve altıncı haftasında böbrek korteksinde distal tübüllerde şiddetli (+++) ghrelin immünreaktivitesi izlendi (Şekil 39, 40, 43, 44). Aynı şekilde diyabetin dördüncü ve altıncı haftasında böbrek medullasında da distal tübüllerde şiddetli (+++) ghrelin immünreaktivitesi izlendi (Şekil 41, 45). Diyabetin dördüncü ve altıncı haftasında glomerüller, proksimal tübül ve henle kulpunun ince parçasında ise ghrelin immünreaktivitesi gözlenmedi (Şekil 40, 41, 44, 45). Dördüncü haftada toplayıcı kanallarda orta şiddette (++) ghrelin immünreaktivitesi gözlemlendi (Şekil 42). Altıncı

haftada böbrek papillasında toplayıcı kanallarda gözlenen ghrelin immünreaktivitesi ise şiddetli (+++) olarak değerlendirildi (Şekil 46).

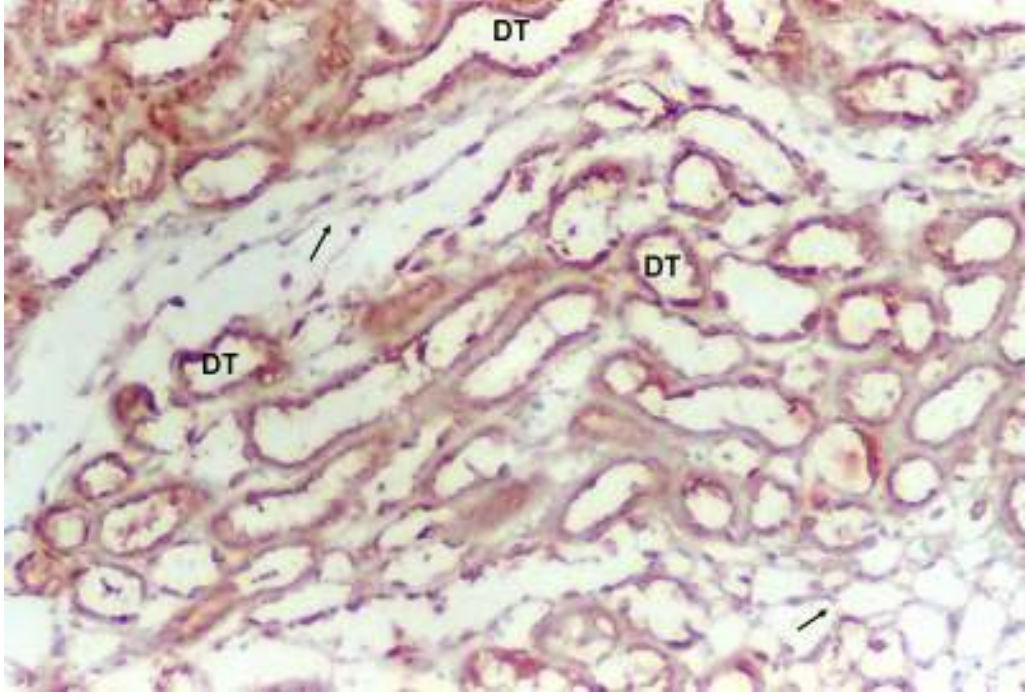
Negatif kontrol için yapılan boyamalarda böbrek dokusunda herhangi bir immünreaktivite gözlenmedi (Şekil 47). Pozitif kontrol olarak ise mide dokusunda ghrelin immünreaktif hücreler belirlendi (Şekil 48).



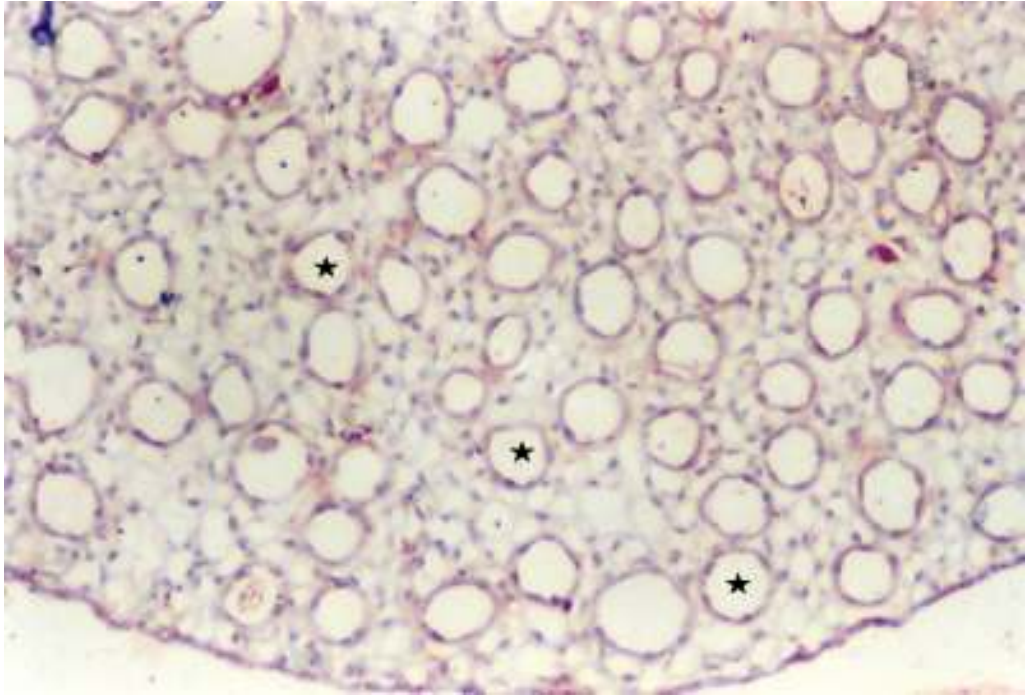
Şekil 31. Kontrol grubu böbrek korteksinde distal tübüllerde (DT), (++) ghrelin immünreaktivitesi. Makula Densa (→), Proksimal tübül (PT), Glomerül (G). X 10.



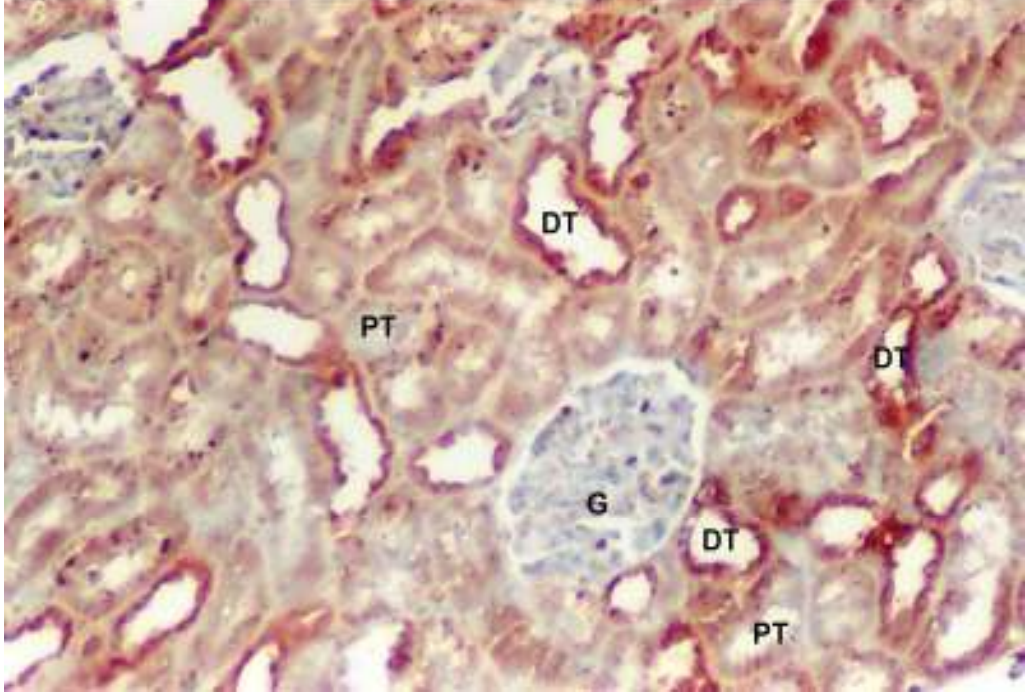
Şekil 32. Kontrol grubu böbrek korteksinde distal tübülde (DT), (++) ghrelin immünreaktivitesi. Proksimal tübül (PT), Glomerül (G). X 20.



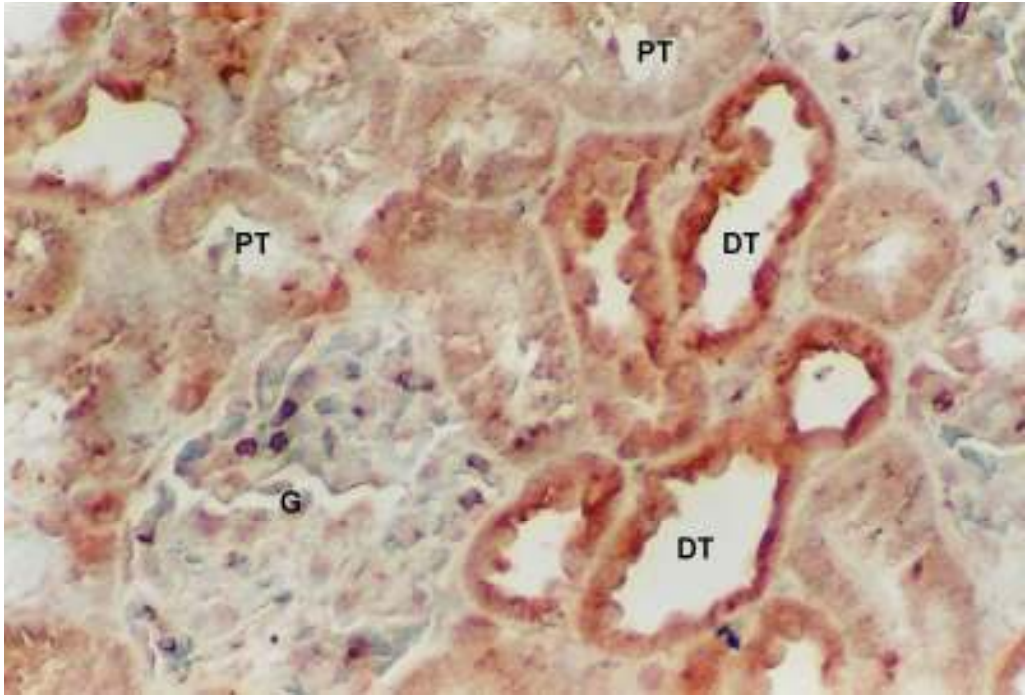
Şekil 33. Kontrol grubunda böbrek medullasında, (++) ghrelin immünreaktivitesi. Distal tübül (DT), İnce parça (→). X 20.



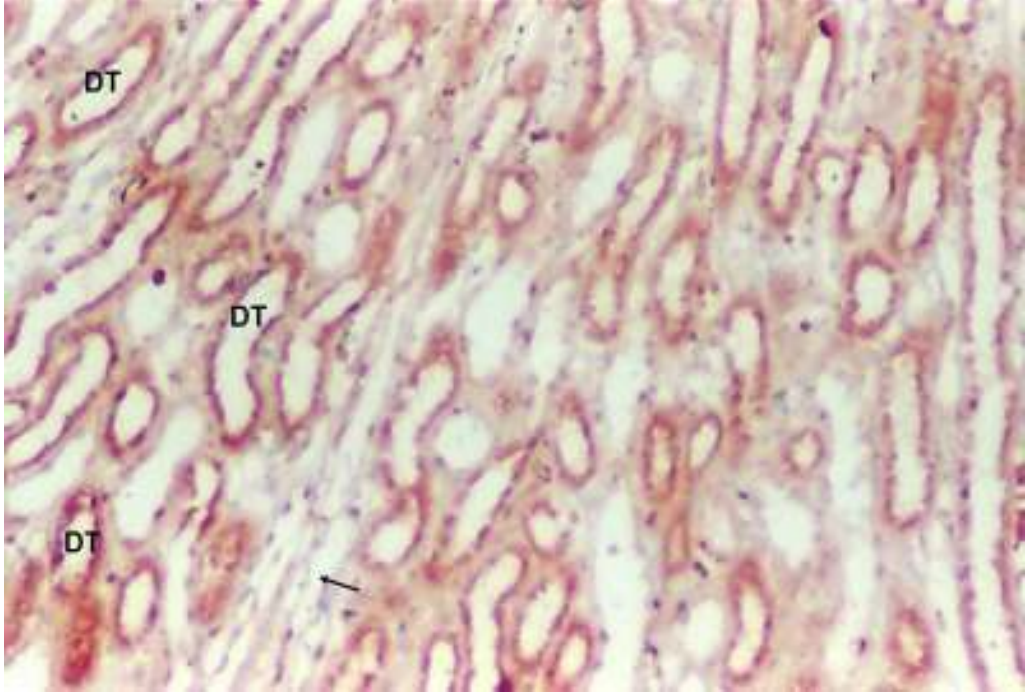
Şekil 34. Kontrol grubu böbrek papillasında toplayıcı kanallarda (★), (0) ghrelin immünreaktivitesi. X 10.



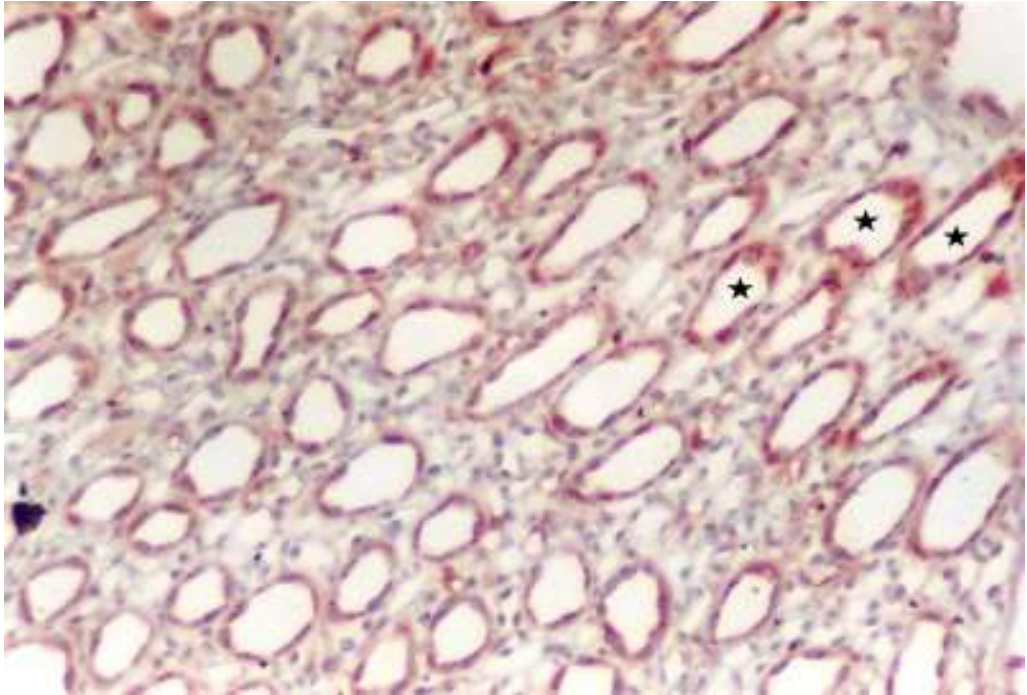
Şekil 35. Diyabetin II. Haftasında böbrek korteksinde distal tübüllerde (DT), (++) ghrelin immünreaktivitesi. Proksimal tübül (PT), Glomerül (G). X 10.



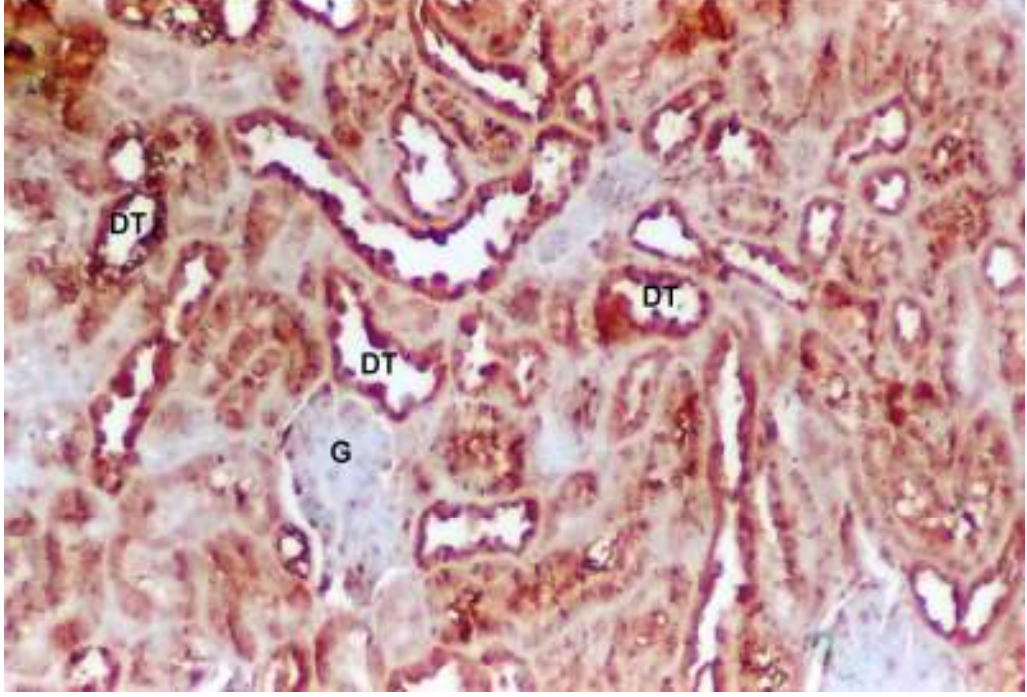
Şekil 36. Diyabetin II. Haftasında böbrek korteksinde distal tübüllerde (DT), (++) ghrelin immünreaktivitesi. Proksimal tübül (PT), Glomerül (G). X 20.



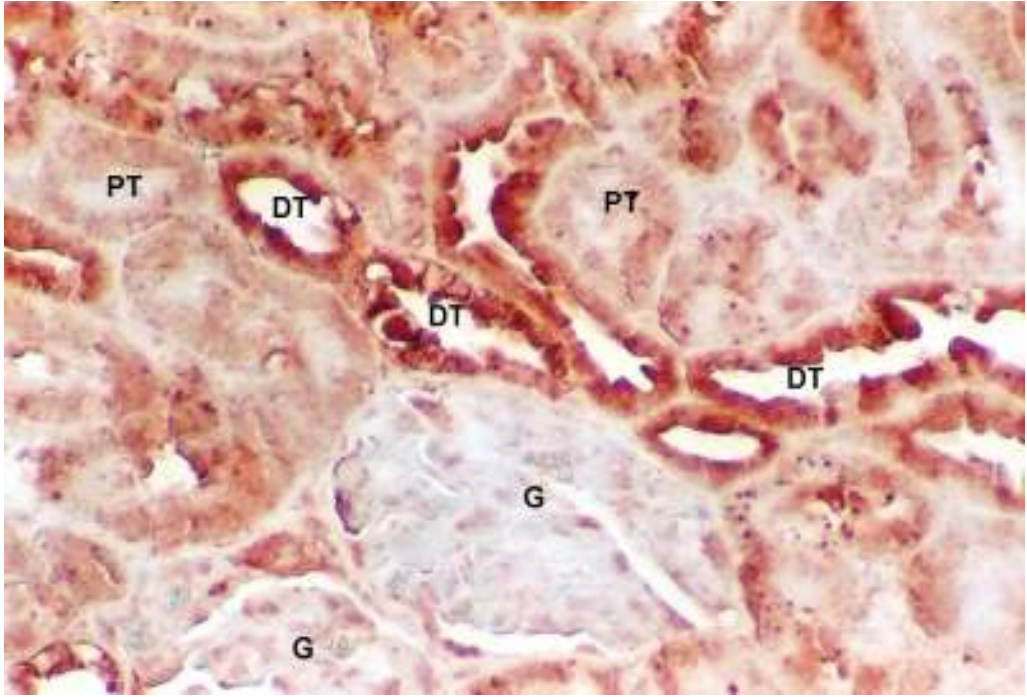
Şekil 37. Diyabetin II. Haftasında böbrek medullasında, (++) ghrelin immünreaktivitesi. Distal tübül (DT). İnce parça (→). X 10.



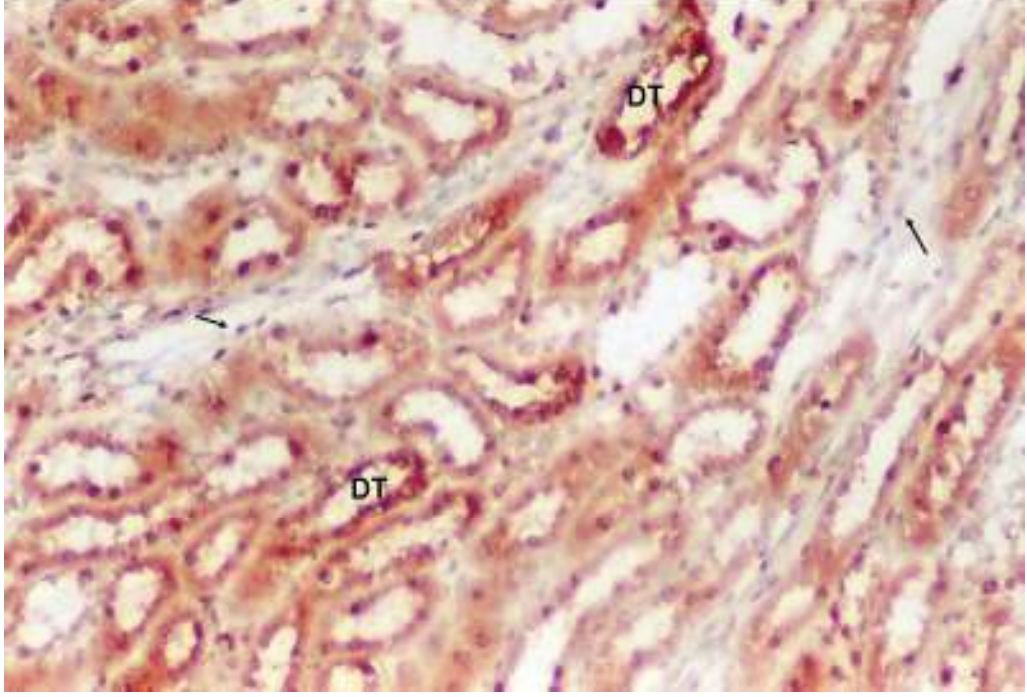
Şekil 38. Diyabetin II. Haftasında böbrek papillasında toplayıcı kanallarda (★), (+) ghrelin immünreaktivitesi. X 10.



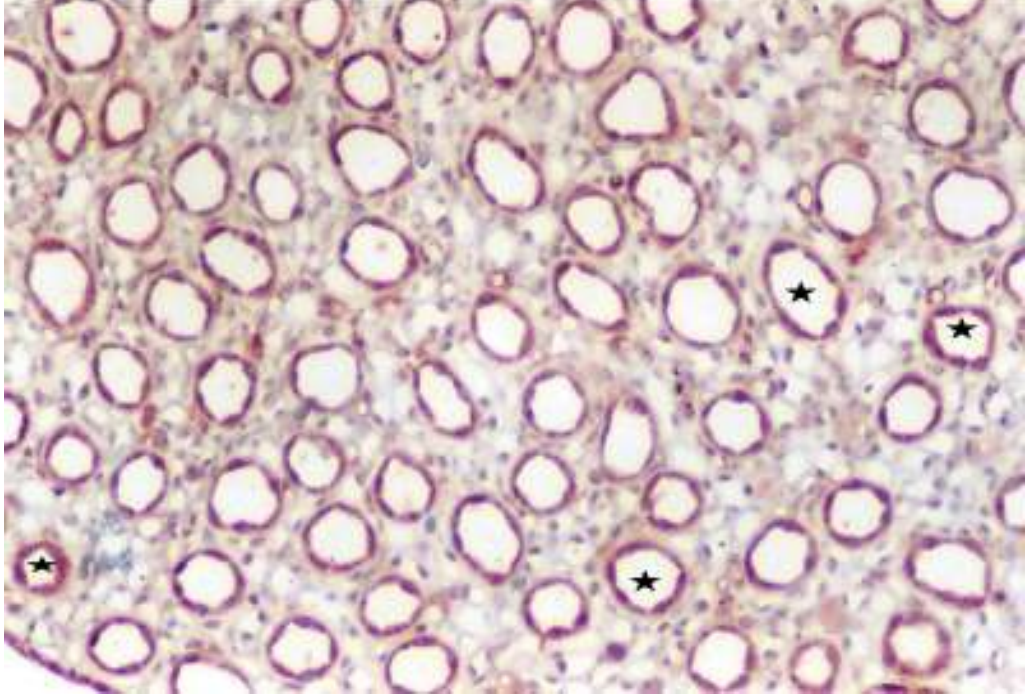
Şekil 39. Diyabetin IV. Haftasında böbrek korteksinde distal tübüllerde (DT), (+++) ghrelin immünreaktivitesi. Glomerül (G). X 10.



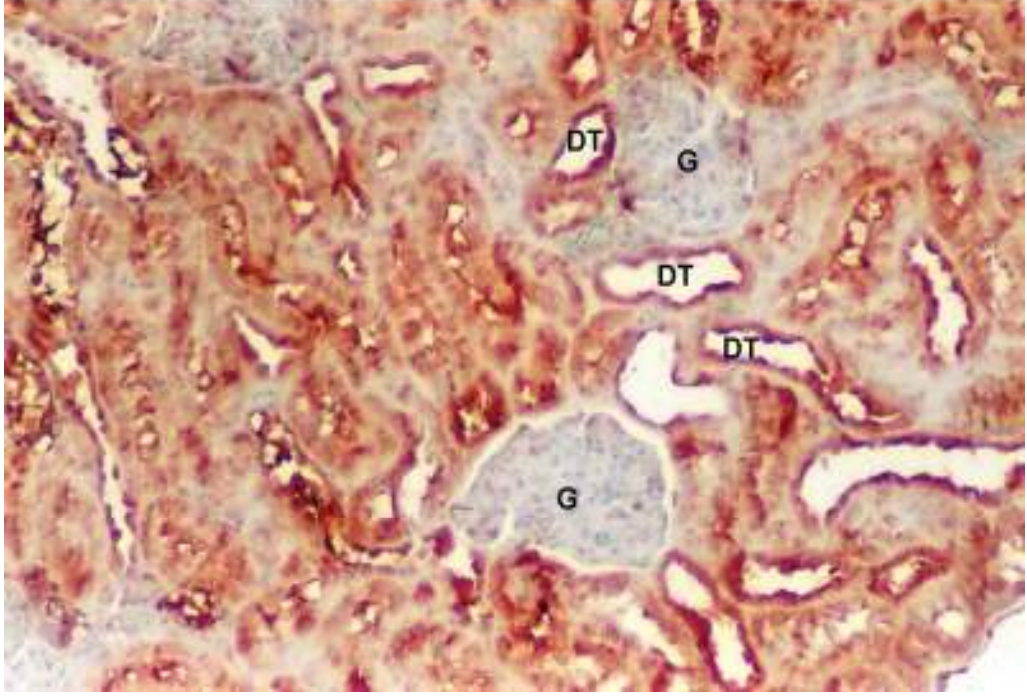
Şekil 40. Diyabetin IV. Haftasında böbrek korteksinde distal tübüllerde (DT), (+++) ghrelin immünreaktivitesi. Proksimal tübül (PT), Glomerül (G). X 20.



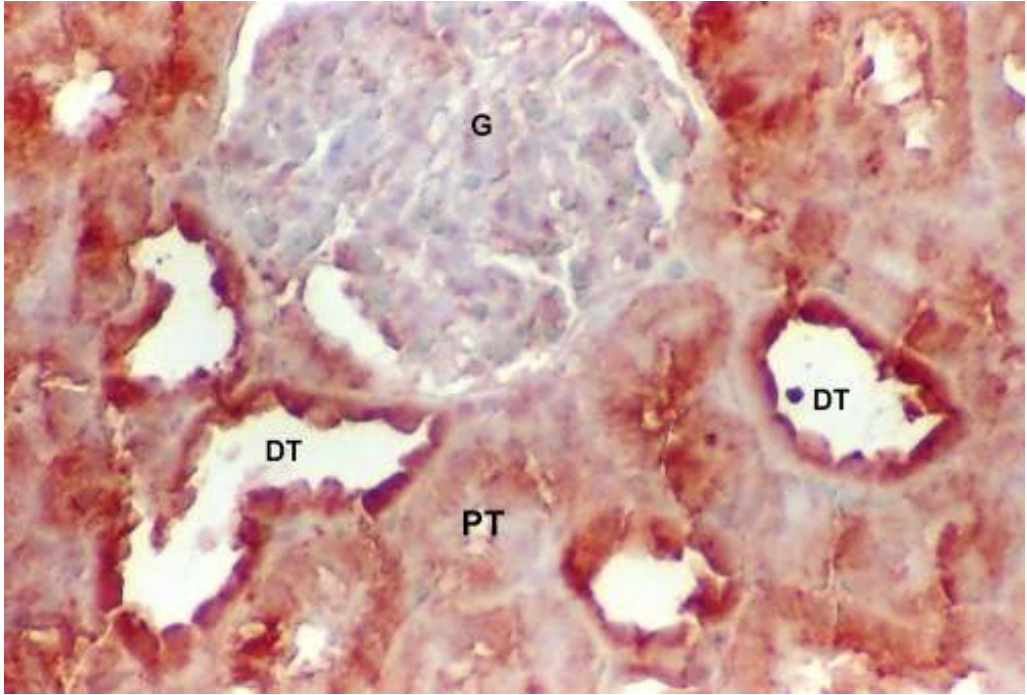
Şekil 41. Diyabetin IV. Haftasında böbrek medullasında (+++) ghrelin immünreaktivitesi. Distal tübül (DT). İnce parça (→). X 10.



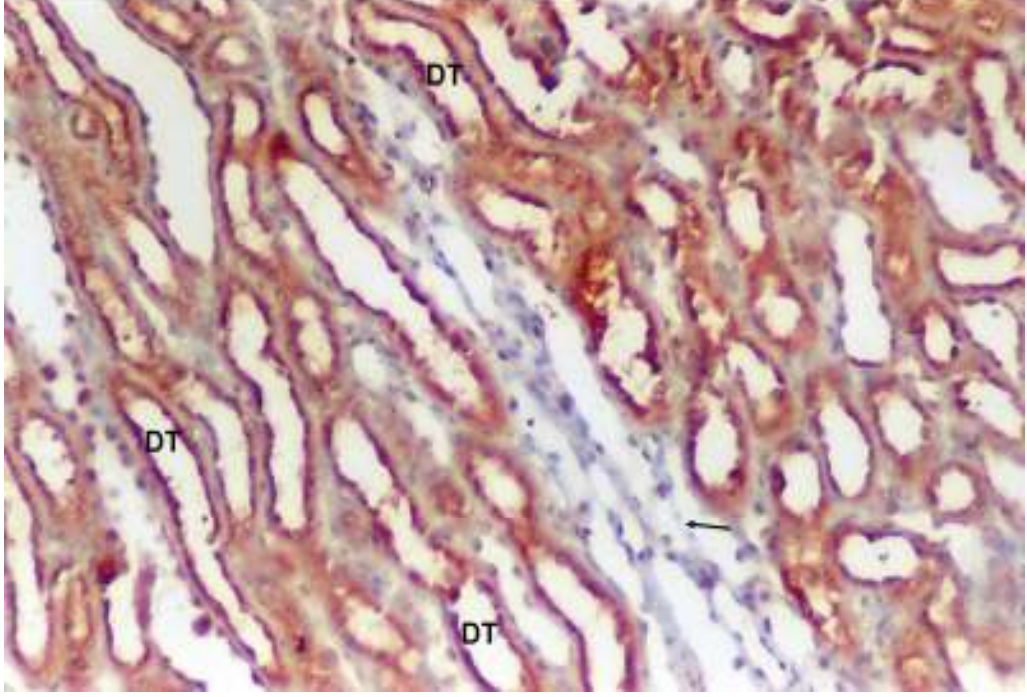
Şekil 42. Diyabetin IV. Haftasında böbrek papillasında toplayıcı kanallarda (★), (++) ghrelin immünreaktivitesi. X 10.



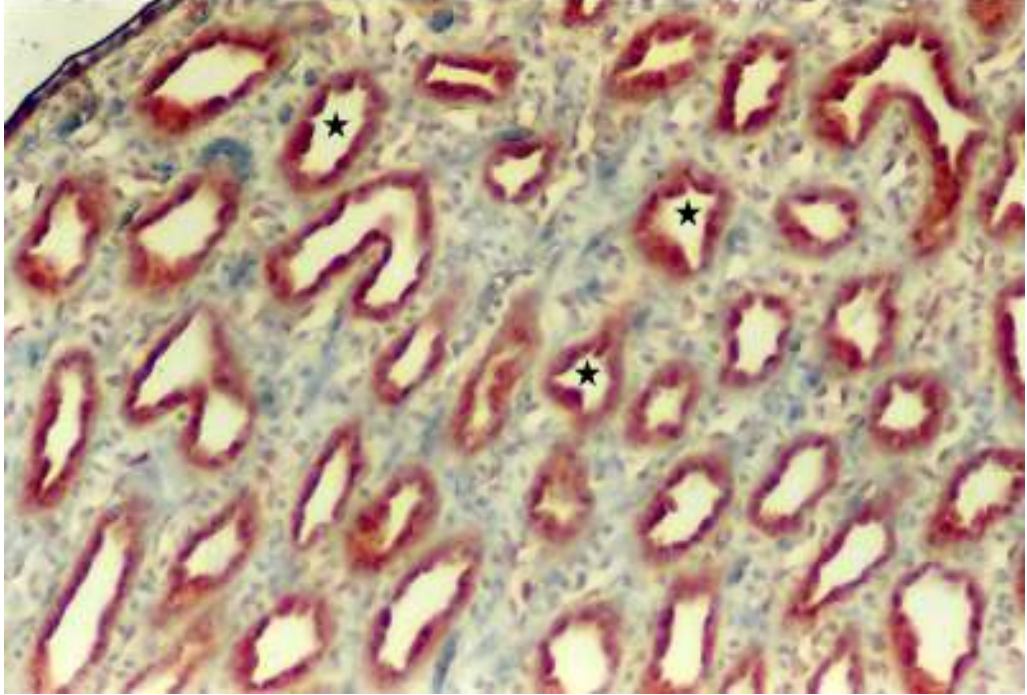
Şekil 43. Diyabetin VI. Haftasında böbrek korteksinde distal tübüllerde (DT), (+++) ghrelin immünreaktivitesi. Glomerül (G). X 10.



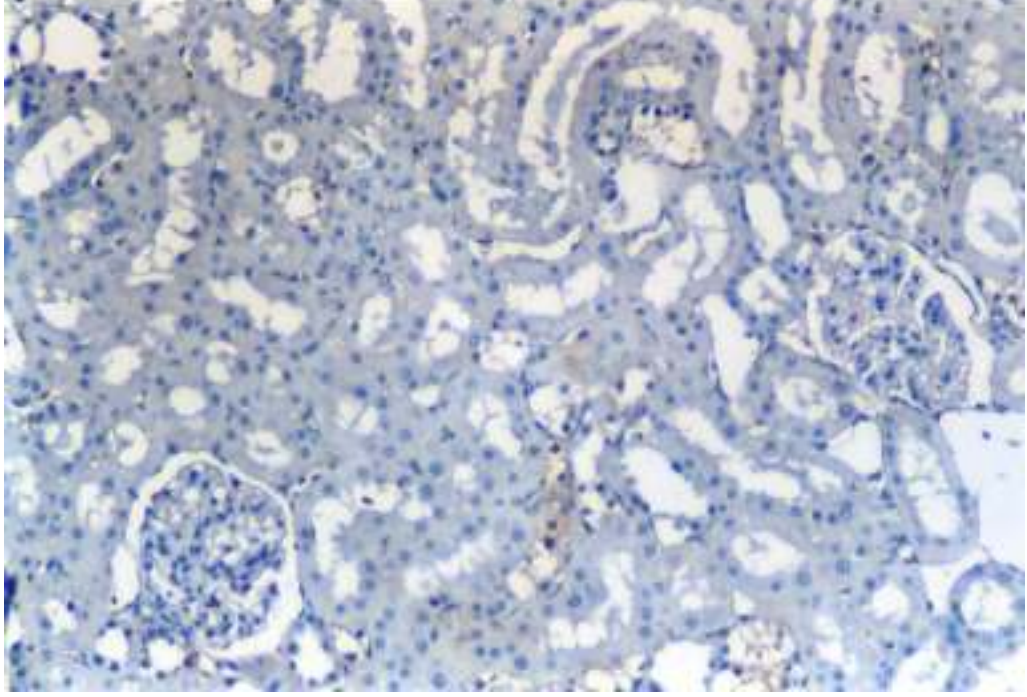
Şekil 44. Diyabetin VI. Haftasında böbrek korteksinde distal tübüllerde (DT), (+++) ghrelin immünreaktivitesi. Proksimal tübül (PT), Glomerül (G). X 20.



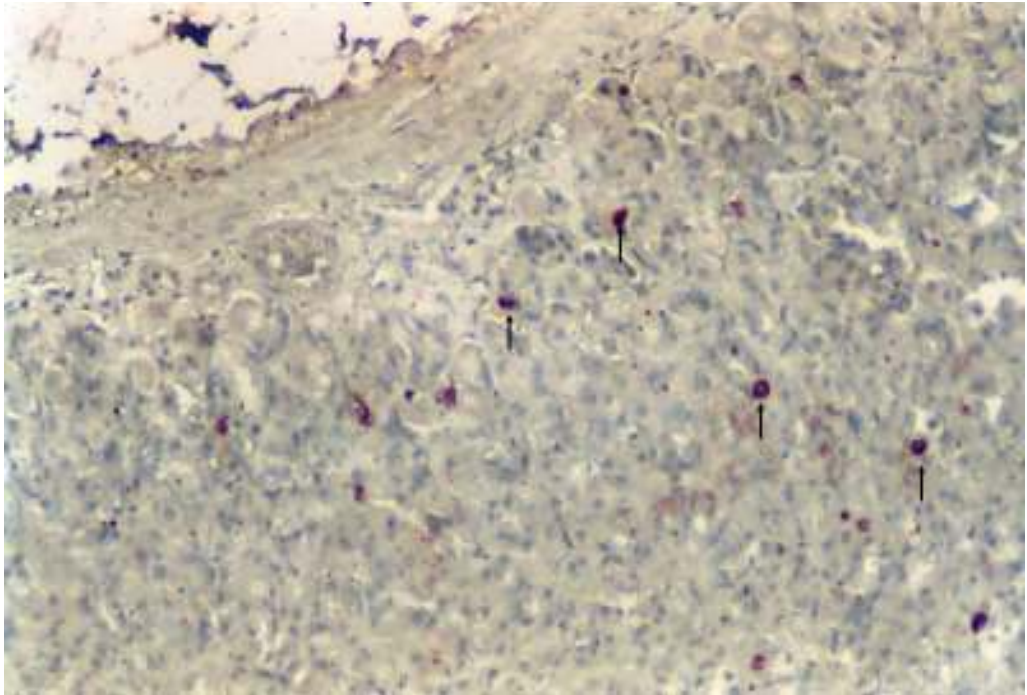
Şekil 45. Diyabetin VI. Haftasında böbrek medullasında (+++) ghrelin immünreaktivitesi. Distal tübül (DT). İnce parça (→). X 10.



Şekil 46. Diyabetin VI. Haftasında böbrek papillasında toplayıcı kanallarda (★), (+++) ghrelin immünreaktivitesi. X 10.



Şekil 47. Negatif kontrol. (0) ghrelin immünreaktivitesi. X 10.



Şekil 48. Pozitif kontrol. Midede ghrelin immünreaktif hücreler (→). X 10.

6. TARTIŞMA

Bu çalışmada deneysel diyabet modeli, *Streptomyces achromogenes* tarafından üretilen ve aynı zamanda pankreas beta hücrelerine toksik etkili bir antibiyotik olan STZ ile oluşturulmuştur (136).

Diyabetin başta gelen hedefi böbreklerdir ve böbrek yetmezliği, diyabete bağlı ölüm nedenleri arasında miyokard enfarktüsünden sonra ikinci sırada yer almaktadır (14). Etiyolojisi ve patogenezi henüz tam anlamıyla aydınlatılmamış bir bilimceles yumağı olan diyabetik nefropati, son dönem böbrek yetersizliğinin önemli bir nedeni olup, nefropati sıklığı diyabet süresi uzadıkça artış göstermektedir (21, 137). Tip 1 ve tip 2 diyabette gözlenen böbrek değişiklikleri arasında belirgin bir fark olmayıp, diyabetik nefropatide her iki tipte de glomerüler ve interstisyel lezyonların gelişmesi ortak bulgudur (138, 139).

Deneysel ve klinik bulguların çoğu, diyabetin komplikasyonlarının, metabolik dengesizliklerin, özellikle de hipergliseminin sonucu olduğunu göstermektedir. Hiperglisemi ile uzun süreli diyabetin komplikasyonları arasında bağlantı kuran birçok mekanizma araştırılmıştır. Araştırmalar, hiperglisemi kontrolü ile diyabetin komplikasyonlarının gelişmesinin geciktirilebildiğini göstermektedir (14). Sürekli hipergliseminin böbreklerde kalıcı ve giderek yaşamsal tehlike oluşturan yapısal değişikliklere yol açtığı bilinmektedir. Ancak hiperglisemiyi nefropatinin başlaması için vazgeçilmez bir faktör olarak kabul etmek yerine, şayet nefropati geliyecekse, bu faktörü, patolojiyi şiddetlendiren bir etken olarak değerlendirmek daha uygun görünmektedir (21). STZ ile deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, insülin ile hiperglisemi kontrolü sağlandığında, glomerül bazal membran kalınlaşması ve mezangial matriks artışı gibi diyabetik nefropati

bulgularının önlenebildiği bildirilmiştir (140, 141). Diyabetik nefropati, böbreğin bütün bölümlerini kapsayan yapısal değişiklikleri içerir, ancak en karakteristik değişiklikler glomerüllerde belirlenmiştir (142). En önemli glomerüler lezyonlar, kapiller bazal membran kalınlaşmaları, diffüz glomerüloskleroz ve nodüler glomerülosklerozdur. Diffüz glomerüloskleroz, mezangial hücre proliferasyonu ve beraberinde mezangial matrikste diffüz artış olarak tanımlanabilir ve her zaman bazal membran kalınlaşması ile ilişkilidir (14). Bu çalışmada da, diyabetin dördüncü haftasından itibaren glomerüllerdeki diffüz mezangiyal artış ve kapiller bazal membran kalınlaşmaları belirgin bir biçimde gözlenmiştir.

Diyabetik nefropatinin erken dönemde; glomerül ve tübüllerde hipertrofi, tübüler vakuolizasyon, glomerül ve tübül bazal membranlarında kalınlaşma, glomerüllerde mezangial matriks ve hücre artışı gibi histopatolojik değişiklikler gösterdiği bilinmektedir (143–145). Çalışmamızda da ışık mikroskobu düzeyinde glomerüllerde hipertrofi ve PAS (+) mezangial matrikste artış, tübüler vakuolizasyon ve tübül bazal membranlarında kalınlaşma gözlenmesi literatür bilgileri ile uyum göstermektedir. Aynı zamanda; sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında diyabetik grupta böbrek ağırlıklarının anlamlı olarak artmış olduğu tespit edilmiştir. Böbrek ağırlık artışı ile ilgili bu bulgular, diyabetiklerde erken dönemde ortaya çıkan böbrek ağırlığında artış ve renal doku hipertrofisi bulguları ile büyük bir uyum içerisinde (146). Bu çalışmada, diyabetik böbrekte bazı histopatolojik değişiklikler ikinci haftadan itibaren izlenmiş, ancak en belirgin değişiklikler ise altıncı haftada gözlenmiştir. Bu durum diyabetin şiddet ve süresi ile ilişkili olabilir. Nitekim, diyabetteki mezangial matriks artışı daha önceki çalışmalarda diyabetin şiddet ve süresine göre derecelendirilmiştir (143, 147). Çalışmamızda, glomerüllerde mezangial matriks ve hücre artışı da altıncı haftada en yüksek düzeyde gözlenmiştir. Diyabette mezangial

matriks artışı, hiperglisemi sonucu oluşan İGSÜ, hücrel ve hemodinamik faktörler gibi birçok mekanizma ile ilişkili bir durumdur (148). İkinci hafta ile karşılaştırıldığında, altıncı haftada Armanni-Ebstein lezyonlarının da bariz bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Kontrol altına alınamayan glukozürisi olan hastalarda, tübüler epitelde glukozun reabsorbe edilerek, glikojen olarak depolandığı bilinmektedir (14). Günümüzde Armanni-Ebstein lezyonlarının bir hastalık belirtisi olmaktan çok, tübüler sıvıda yüksek yoğunluktaki glukozun geri emilimi sonucu glikojen birikiminin bir işareti olduğu anlaşılmıştır (21).

Diyabetik nefropati patogeneğinde İGSÜ'nün rolü olabileceği düşünülmektedir (149). İGSÜ renal glomerüler bazal membranın artmış geçirgenliğinden de sorumludur ve bu geçirgenlik mikroalbüminüri ve makroalbüminüriye neden olur (150). Çalışmamızda, bazı tübüllerin epitel hücre sitoplazmalarında toluidin mavisi boyama yöntemi ile belirgin halde izlenen koyu boyanmış, farklı irilikte taneciklerin, özellikle diyabetin altıncı haftasında daha fazla sayıda oldukları dikkati çekmiştir. Araştırmalar, İGSÜ peptidlerinin glomerüllerden kolaylıkla filtre edildiğini ve proksimal kıvrıntılı tübüllerde reabsorbe edilerek, endolizozomal sistem tarafından metabolize olduğunu göstermektedir (151, 152). Vardı ve ark. bu taneciklerin İGSÜ peptidleri ile yüklenen tübüler lizozom yoğunluklarındaki artışlara bağlı olarak gözlenebileceklerini bildirmişlerdir (153). Diyabetli hastalarda arteriyoller hyalin ve intima kalınlaşma alanlarında da İGSÜ belirlenmiştir (149).

Büyüme hızlandırması ve proliferatif etkileri yanında, diyabetik böbrek hastalığının oluşumundaki fonksiyonel ve yapısal değişimlere katkıları nedeniyle, diyabetik nefropati patogeneğinde büyüme faktörleri de çok özel bir yere sahiplerdir. Diyabetik nefropatide rol alan başlıca büyüme faktörleri; GH, IGF-1, vasküler endotelial büyüme faktörü, transforming büyüme faktörü, epidermal büyüme

faktörü, platelet kökenli büyüme faktörüdür. Bunlardan, GH /IGF sistemini oluşturan moleküller; dolaşımında, ekstrasellüler mesafede ve çoğu dokuda bulunmakta ve büyüme ile ilgili önemli görevler üstlenmektedir (21). Araştırmalar, bu sistemin diyabetik nefropatide önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir (154). GH, diyabetik mikroanjyopatinin oluşumunda rol almakta, GH ve IGF'nin diyabetik nefropatide patojenik bir rol oynayabileceği düşünülmektedir (155, 156). Tip I diyabet modeli oluşturulmuş non-obez diyabetik farelerde ve STZ ile oluşturulmuş diyabetik sıçanlarda, serumda oldukça belirgin bir şekilde GH artışı olduğu bildirilmiştir (134, 157). GH reseptör antagonistlerinin uygulanması ile hem non-obez diyabetik ve hemde STZ ile deneysel diyabet oluşturulmuş farelerde, renal ve glomerüler hipertrofi ve albüminürinin önlenemediği gösterilmiştir (157, 158). Masaoka ve ark. ise çalışmamızdakine benzer bir şekilde Wistar sıçanlarında STZ ile diyabet oluşturmuş, serum insülin ve IGF- 1 düzeylerinde anlamlı bir azalmaya karşılık; serum GH, serum total ve aktif ghrelin seviyelerinde bariz bir artış olduğunu bildirmişlerdir (134). Oldukça güçlü bir GH salgılatıcı aktiviteye sahip olan ghrelin, midede üretildikten sonra ön hipofiz ve hipotalamik bölgedeki reseptörlerine ulaşarak, GH salınımını uyarmaktadır (28, 159). STZ ile oluşturulmuş diyabetik sıçanlarda yapılan bir çalışmada, diyabet grubunda plazma ghrelin konsantrasyonlarının oldukça yüksek olmasına karşılık, mide ghrelin gen ekspresyonunun kontrol grubu değerleri ile anlamlı bir farklılığı olmadığı bildirilmiştir. STZ ile oluşturulmuş diyabetik sıçanlardaki yükselmiş plazma ghrelin konsantrasyonunun mekanizması büyük ölçüde bilinmemektedir (135). Masaoka ve ark. artmış plazma ghrelin konsantrasyonundan, midedeki ghrelin immünreaktif hücreleri sorumlu tutmasına rağmen, diyabette mide dışında bir organda da ghrelin sentezinin artmış olabileceği ihtimali gözönünde bulundurulmalıdır (134). Mori ve

ark. ilk kez gastrointestinal sistem ve beyin dışında fare böbreğinde prepro-ghrelin gen ekspresyonunu göstererek, böbrekte ghrelinin lokal olarak üretilebildiğini, ayrıca ghrelinin bu organda endokrin ve/ veya parakrin rollere sahip olabileceğini ileri sürmektedirler (68). Tüm bu bilgilerin ışığında, diyabette ghrelin dinamiklerinde meydana gelen değişikliklerin sonucu olarak, böbreklerden de ghrelin sentezinin artabileceği ve bunun diyabetin patofizyolojik mekanizmasında etkisi olabileceği düşünülebilir. Zaten DM'un karakteristik özelliği olan hiperfajinin de yüksek ghrelin seviyesinden kaynaklanabileceği düşünülmüş ve ghrelin reseptör antagonisti verilerek kısmen gerilediği gözlenmiştir (135). Tip I diyabetli çocuklarda yemek alımından önce ve sonra (insülin tedavisi başlamadan) yapılan çalışmada, ghrelin seviyelerinde yemeğe bağlı düşme gözlenmemiştir, buda tip I diyabette anormal ghrelin dinamiklerinin varlığını göstermektedir (160). Ayrıca tip I diyabetli hastalarda pernisiyöz anemi ve ghrelinin ana kaynağı olan mide korpusunda tip A kronik atrofik gastrit prevalansı yüksektir. Ancak kronik atrofik gastriti olan tip I diyabetiklerde yapılan bir çalışmada ilginç bir şekilde bu hastalardaki plazma ghrelin konsantrasyonlarının azalmadığı tespit edilmiştir (161).

Çalışmamızda diyabetin dördüncü ve altıncı haftasında böbrekte distal tübüllerde şiddetli (+++) ghrelin immünreaktivitesi izlenmesi ve aynı zamanda kontrollerden farklı bir şekilde altıncı haftada toplayıcı kanallarda da şiddetli (+++) ghrelin immünreaktivitesi gözlenmiş olması, diyabette ghrelin dinamiklerinde meydana gelen değişikliklerin bir göstergesidir. Bu durumda Masaoka ve ark.(134) tarafından belirlenen plazma ghrelinindeki artış lokal yani böbrek kökenli olabilir ve diyabetin erken döneminde böbrekte lokal olarak üretilen ghrelin de GH salgılatıcı etki göstererek, diyabetik nefropatinin patofizyolojisine katılıyor olabilir.

Böbreklerde ghrelin benzeri immünreaktivite sıçan dışında, fare ve hamsterlarda da gözlenmiştir. Her üç türde de, cinsiyet farklılığında immünreaktivite açısından bir değişiklik tespit edilememiş ve böbrek dokularında distal tübüllerin epitellerinde açık bir şekilde ghrelin ekspresyonu gözleendiği, jukstaklomerüler hücreleri de kapsayan nefronun diğer kısımlarında ve toplayıcı kanallarda ise ghrelin immünreaktivitesinin gözlenmediği bildirilmiştir (67). Çalışmamızın kontrol grubunda distal tübül epitelinde pozitif ghrelin immünreaktivitesi gözlenirken, nefronun diğer kısımlarında ve toplayıcı kanallarda ise ghrelin immünreaktivitesi gözlenmemesi, Yabuki ve ark. bulguları ile büyük bir uyum içerisindedir. Aynı araştırmacılar, toplayıcı kanallarda ışık mikroskobu düzeyinde ghrelin immünreaktivitesi belirlememiş olmasına rağmen, immünelektron mikroskobu düzeyinde, distal tübül ve toplayıcı kanallarda bazolateral membranda pozitif sinyaller gözlediklerini bildirmişlerdir. Distal tübül ve toplayıcı kanalların bazolateral membranındaki bu ghrelinin, iyon kanal aktivitesini etkileyerek, vücut sıvılarının düzenlenmesinde önemli bir fizyolojik rol oynadığını ileri sürmektedirler (67).

Bilindiği gibi özellikle medüller toplayıcı kanallar, idrarı yoğunlaştırma yeteneğine katkıda bulunan, asit baz dengesinin düzenlenmesinde anahtar rol oynayan, idrarı işleme tabi tutan son yerdir. Şiddetli DM'da kan asetoasetik asit düzeyleri çok yükselerek metabolik asidoza neden olabilir ve bunu önlemek için idrarla bazen 500 mmol/gün kadar yüksek miktarda asit atılır (13). Çalışmamızda diyabetik sıçanlarda, toplayıcı kanallarda diyabetin ilerleyen haftalarında artan şiddette ghrelin immünreaktivitesinin gözlenmesinin, diyabette vücut sıvılarının dengesi açısından önemli olabileceği düşünülmektedir.

Distal tübül ve toplayıcı kanalların bazolateral membranındaki sodyum kanallarının kan basıncının düzenlenmesine katılıyor olabileceği bildirilmiştir (162).

Yıllardan beri hipertansiyonun diyabetli hastalarda daha yaygın olduğu bilinmektedir (163). Bu çalışmada diyabetin altıncı haftasında böbrekte distal tübüllerde ve toplayıcı kanallarda gözlenen şiddetli (+++) ghrelin immünreaktivitesinin, ghrelinin, diyabette kan basıncının düzenlenmesi ile ilgili bir rolü olması ihtimalinin de araştırılması gerekliliğini düşündürmektedir.

Hafiften şiddetliye doğru kronik böbrek yetmezliği olan hastaların plazma total ghrelin seviyeleri ile ilgili olarak yapılan bir çalışmada plazma total ghrelin seviyelerinin önemli oranda yükseldiği, hemodiyaliz tedavisi sonunda ise azaldığı gösterilmiştir. Kronik böbrek yetmezliği olan hastaların plazma total ghrelin seviyelerindeki bu yükselmenin, böbrekteki ghrelin metabolizması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (30). Yoshimoto ve ark. ghrelinin glomerüllerden süzülmesini, böbreğin ghrelinin klirensi, bozulması ve/ veya sekresyonu için önemli bir alan olduğunu ileri sürmektedirler (164). Çalışmamızda, diyabetik sıçan böbreğinin ghrelin immünreaktivitesinde gözlenen değişikliklerin, ghrelinin klirensi ile ilişkisinin olup olmadığı da daha ileri araştırmaların konusu olabilir.

Sonuç olarak, bu çalışmada kontrollerle karşılaştırıldığında, STZ ile oluşturulmuş DM'lu sıçan böbrek dokusundaki ghrelin immünreaktivitesinde belirgin bir artış olduğu gözlenmiştir. Diyabette böbrek dokusunda belirlenen ghrelin immünreaktivitesindeki bu artış, diyabetik nefropatinin patofizyolojik mekanizmasına ghrelinin de katılabileceğini düşündürmektedir. Gelecekte daha ileri ve ayrıntılı çalışmalarla, diyabette ghrelin ile ilişkili patofizyolojik mekanizmalar aydınlatılabildiği takdirde, diyabetik nefropatiyi önlemek amacıyla ghrelin ile ilişkili tedavi yaklaşımları da denenebilecektir.

7. KAYNAKLAR

1. Ross MH, Pawlina W. Histology A Text And Atlas. Fifth Edition, United States of America, 2006: 647- 665.
2. Eroschenko VP. Di Fiore Histoloji Atlası-Fonksiyonel İlişkileriyle. Demir R (Çeviri Editörü). 9. Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, 2001: 251- 266.
3. Sancak B, Cumhur M. Fonksiyonel Anatomi. 1. Baskı, Ankara, ODTÜ Geliştirme Vakfı, 1991: 290–291.
4. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 3. Baskı, Ankara, Güneş Kitabevi Ltd. Şti. 2001: 311–314.
5. Ferner H, Staubesand J. Sabotta İnsan Anatomisi. Cilt 2. Arıncı K (çeviri editörü). 18. Baskı, Urban&Schwarzenberg, 1985: 178–181.
6. Şeftalioğlu A. Genel&Özel İnsan Embriyolojisi. 3.Baskı, Ankara, Tıp&Teknik Yayıncılık, 1998: 328–334.
7. Sadler TW. Medikal Embriyoloji. Başaklar AC (Çeviri Editörü). 7. Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, 1996: 260–261.
8. Young B, Heath JW. Wheater’s Functional Histology A Text And Colour Atlas. Fourth Edition, Sydney, Australia, 2000: 286–305.
9. Junqueira LC, Carneira J, Kelley RO. Temel Histoloji. Aytekin Y (Çeviri Editörü). 8.Baskı, İstanbul, Barış Kitapçılık, 1998: 359–376.
10. Kierszenbaum AL. Histoloji ve Hücre Biyolojisi. Demir R (Çeviri Editörü). 1. Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, 2006: 366–390.

11. Gartner LP, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. United States of America, 1997: 358–381.
12. Usalan C. Nefroloji. Kadayıfçı A. Dahiliye. 3. Baskı, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2002: 263–277.
13. Guyton AC, Hall JE. Tıbbi Fizyoloji. Çavuşoğlu H (Çeviri Editörü). 9. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri, 1996: 315–319.
14. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Temel Patoloji, Prof. Dr. Uğur Çevikbaş. 6. Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2000: 511–517.
15. Songer TJ, Zimmet PZ. Epidemiology of type II diabetes: an international perspective. Pharmacoeconomics 1995; 8: 1–11.
16. Kim, KW. Islet transplantation: a realistic alternative for the treatment of insulin deficient diabetes mellitus. Diabetes Res Clin Pract 2004; 66: 11–17.
17. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2003; 26: 5–20.
18. Hawa MI, Picardi A, Costanza F, D'Avola D, Beretta Anguissola G, Guglielmi C, Mottini G, Fezeu L, Mbanya JC, Leslie RD, Pozzilli P. Frequency of diabetes and thyroid autoantibodies in patients with autoimmune endocrine disease from Cameroon. Clin Immunol 2006; 118: 229–232.
19. Martínez-Sanchez G, Al-Dalain SM, Menendez S, Re L, Giuliani A, Candelario-Jalil E, Alvarez H, Fernandez-Montequín JI, Leon OS. Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot. Eur J Pharmacol. 2005; 523: 151–161.

20. Powers AC. Diabetes Mellitus. İn: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, editors. Harrison's principles of internal medicine. 16th ed. USA: McGraw Hill, 2005: 2152- 2180.
21. Büyükdevrim A.S, Büyükbeşe M.A, Davutoğlu M. Diyabetik nefropati. Klinik moleküler patogeneze klasik ve moleküler tedavi. Turgut yayıncılık, İstanbul, 2005: 136–342.
22. Altınparmak MR, Apaydın S. Diyabetik nefropati. İn: Yenigün M, Altuntaş Y. Her yönüyle diabetes mellitus. 2. baskı. İstanbul: Nobel tıp kitabevi, 2001: 337- 402.
23. Rahimi R, Nikfar S, Larijani B, Abdollahi M. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. Biomed Pharmacother 2005; 59: 365–373.
24. Muccioli G, Tschöp M, Papotti M, Deghenghi R, Heiman M, Ghigo E. Neuroendocrine and peripheral activities of ghrelin: implications in metabolism and obesity. Eur J Pharmacol 2002; 440: 235–254.
25. Soriano-Guillen L, Barrios V, Chowen JA, Sanchez I, Vila S, Quero J, Argente J. Ghrelin levels from fetal life through early adulthood: relationship with endocrine and metabolic and anthropometric measures. J Pediatr 2004; 144: 30–35.
26. Aydın S. Ghrelin hormonunun keşfi: Araştırmaları ve klinik uygulamaları. Türk Biyokimya Dergisi 2007; 32: 76–89.
27. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. PhysiolRev 2005; 85: 495–522.

28. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656–660.
29. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 2000; 141: 4255–4261.
30. Jarkovska Z, Hodkova M, Sazamova M, Rosicka M, Dusilova-Sulkova S, Marek J, Justova V, Lacinova Z, Haluzik M, Haas T, Krsek M. Plasma levels of active and total ghrelin in renal failure: a relationship with GH/IGF-I axis. *Growth Horm IGF Res* 2005;15: 369–376.
31. Kojima M, Hosoda H, Kangawa K. *Clinical endocrinology and metabolism*. Ghrelin, a novel growth-hormone-releasing and appetite-stimulating peptide from stomach. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2004;18: 517–530.
32. Hosoda H, Kojima M, Kangawa K. Biological, physiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *J Pharmacol Sci* 2006; 100: 398–410.
33. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, Bhattacharya S, Carpenter R, Grossman AB, Korbonits M. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2988–2991.
34. Wang G, H.M. Lee, E. Englander and G.H. Greeley, Jr. Ghrelin—not just another stomach hormone. *Regul. Pept* 2002; 105: 75–81.

35. Kojima M, Hosoda H, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin: discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *Trends Endocrinol Metab* 2001;12: 118–122.
36. Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Ishii S, Sugihara H, Oikawa S. Effects of insulin, leptin, and glucagon on ghrelin secretion from isolated perfused rat stomach. *Regul Pept* 2004;15;119: 77–81.
37. Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Ishii S, Sugihara H, Oikawa S. Insulin-like growth factor-I down-regulates ghrelin receptor (growth hormone secretagogue receptor) expression in the rat pituitary. *Regul Pept* 2005; 15: 203–206.
38. Takaya K, Ariyasu H, Kanamoto N, Iwakura H, Yoshimoto A, Harada M, Mori K, Komatsu Y, Usui T, Shimatsu A, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 4908–4911.
39. Egido EM, Rodriguez-Gallardo J, Silvestre RA, Marco J. Inhibitory effect of ghrelin on insulin and pancreatic somatostatin secretion. *Eur J Endocrinol* 2002; 146: 241–244.
40. Shimada M, Date Y, Mondal MS, Toshinai K, Shimbara T, Fukunaga K, Murakami N, Miyazato M, Kangawa K, Yoshimatsu H, Matsuo H, Nakazato M. A single intravenous injection of somatostatin reduced the systemic plasma concentration of ghrelin in rats. Somatostatin suppresses ghrelin secretion from the rat stomach. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 302: 520-525.

41. Bowers, C. Y. Momany F, Reynolds GA, Chang D, Hong A, Chang K. Structure-activity relationships of a synthetic pentapeptide that specifically releases growth hormone in vitro. *Endocrinology* 1980;106: 663–667.
42. Momany FA, Bowers CY, Reynolds GA, Chang D, Hong A, Newlander K. Design, synthesis, and biological activity of peptides which release growth hormone in vitro. *Endocrinology* 1981; 108: 31–39.
43. Ueno H, Yamaguchi H, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin: a gastric peptide that regulates food intake and energy homeostasis. *Regul Pept* 2005;126: 11–19.
44. Howard AD, Feighner SD, Cully DF, Arena JP, Liberators PA, Rosenblum CI, Hamelin M, Hreniuk DL, Palyha OC, Anderson J, Paress PS, Diaz C, Chou M, Liu KK, McKee KK, Pong SS, Chaung LY, Elbrecht A, Dashkevich M, Heavens R, Rigby M, Sirinathsinghji DJ, Dean DC, Melillo DG, Patchett AA, Nargund R, Griffin PR, DeMartino JA, Gupta SK, Schaeffer JM, Smith RG, Van der Ploeg LH. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 1996; 273: 974–977.
45. Sun Y, Wang P, Zheng H, Smith RG. Ghrelin stimulation of growth hormone release and appetite is mediated through the growth hormone secretagogue receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; 101: 4679–4684.
46. Herrington J, Hile B. Growth hormone-releasing hexapeptide elevates intracellular calcium in rat somatotropes by two mechanisms. *Endocrinology* 1994; 135: 1100–1108.
47. Smith RG, Van der Ploeg LH, Howard AD, Feighner SD, Cheng K, Hickey GJ, Wyvratt MJ Jr, Fisher MH, Nargund RP, Patchett AA. Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. *Endocr Rev* 1997; 18: 621–645.

48. Kageyama H, Funahashi H, Hirayama M, Takenoya F, Kita T, Kato S, Sakurai J, Lee EY, Inoue S, Date Y, Nakazato M, Kangawa K, Shioda S. Morphological analysis of ghrelin and its receptor distribution in the rat pancreas. *Regul Pept* 2005; 126: 67–71.
49. Cao JM, Ong H, Chen C. Effects of ghrelin and synthetic GH secretagogues on the cardiovascular system. *Trends Endocrinol Metab* 2006; 17: 13–18.
50. McKee KK, Palyha OC, Feighner SD, Hreniuk DL, Tan CP, Phillips MS, Smith RG, Van der Ploeg LH, Howard AD. Molecular analysis of rat pituitary and hypothalamic growth hormone secretagogue receptors. *Mol Endocrinol* 1997; 11: 415–423.
51. Sachs G, Zeng N, Prinz C. Physiology of isolated gastric endocrine cells. *Annu Rev Physiol* 1997; 59: 234–256.
52. Simonsson M, Eriksson S, Hakanson R, Lind T, Lönroth H, Lundell L, O'Connor DT, Sundler F. Endocrine cells in the human oxyntic mucosa. A histochemical study. *Scand J Gastroenterol* 1988; 23: 1089–1099.
53. Hakanson R, Ekelund M, Sundler F. Activation and proliferation of gastric endocrine cells. In: Falkmer S, Hakanson R, Sundler F (eds) *Evolution and Tumor Pathology of the Neuroendocrine System*. Elsevier, Amsterdam, 1984: 371–398.
54. Sakata I, Nakamura K, Yamazaki M, Matsubara M, Hayashi Y, Kangawa K, Sakai T. Ghrelin-producing cells exist as two types of cells, closed- and opened-type cells, in the rat gastrointestinal tract. *Peptides* 2002; 23: 531–536.
55. Caminos JE, Nogueiras R, Blanco M, Seoane LM, Bravo S, Alvarez CV, García-Caballero T, Casanueva FF, Dieguez C. Cellular distribution and

- regulation of ghrelin messenger ribonucleic acid in the rat pituitary gland. *Endocrinology* 2003; 144: 5089–5097.
- 56.** Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschöp M, Pronchuk N, Grove KL, Strasburger CJ, Bidlingmaier M, Esterman M, Heiman ML, Garcia-Segura LM, Nillni EA, Mendez P, Low MJ, Sotonyi P, Friedman JM, Liu H, Pinto S, Colmers WF, Cone RD, Horvath TL. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 2003; 37: 649–661.
- 57.** Guan XM, Yu H, Palyha OC, McKee KK, Feighner SD, Sirinathsinghji DJ, Smith RG, Van der Ploeg LH, Howard AD. Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue receptor in brain and peripheral tissues. *Brain Res Mol Brain Res* 1997; 48: 23–29.
- 58.** Katugampola SD, Pallikaros Z, Davenport AP. [125I-His(9)]-ghrelin, a novel radioligand for localizing GHS orphan receptors in human and rat tissue: up-regulation of receptors with atherosclerosis. *Br J Pharmacol* 2001; 134: 143–149.
- 59.** Gualillo O, Caminos J, Blanco M, Garcia-Caballero T, Kojima M, Kangawa K, Dieguez C, Casanueva F. Ghrelin, a novel placental-derived hormone. *Endocrinology* 2001; 142: 788–794.
- 60.** Gaytan F, Barreiro ML, Caminos JE, Chopin LK, Herington AC, Morales C, Pinilla L, Paniagua R, Nistal M, Casanueva FF, Aguilar E, Diéguez C, Tena-Sempere M. Expression of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in normal human testis and testicular tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 400–409.

61. Caminos JE, Tena-Sempere M, Gaytan F, Sanchez-Criado JE, Barreiro ML, Nogueiras R, Casanueva FF, Aguilar E, Dieguez C. Expression of ghrelin in the cyclic and pregnant rat ovary. *Endocrinology* 2003; 144: 1594–1602.
62. Andreis PG, Malendowicz LK, Trejter M, Neri G, Spinazzi R, Rossi GP, Nussdorfer GG. Ghrelin and growth hormone secretagogue receptor are expressed in the rat adrenal cortex: Evidence that ghrelin stimulates the growth, but not the secretory activity of adrenal cells. *FEBS Lett* 2003; 536: 173–179.
63. Volante M, Fulcheri E, Allia E, Cerrato M, Pucci A, Papotti M. Ghrelin expression in fetal, infant, and adult human lung. *J Histochem Cytochem* 2002; 50: 1013–1021.
64. Santos M, Bastos P, Gonzaga S, Roriz JM, Baptista MJ, Nogueira-Silva C, Melo-Rocha G, Henriques-Coelho T, Roncon-Albuquerque R Jr, Leite-Moreira AF, De Krijger RR, Tibboel D, Rottier R, Correia-Pinto J. Ghrelin expression in human and rat fetal lungs and the effect of ghrelin administration in nitrofen-induced congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr Res* 2006; 59: 531–537.
65. Date Y, Nakazato M, Hashiguchi S, Dezaki K, Mondal MS, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Arima T, Matsuo H, Yada T, Matsukura S. Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes* 2002; 51: 124–129.
66. Prado CL, Pugh-Bernard AE, Elghazi L, Sosa-Pineda B, Sussel L. Ghrelin cells replace insulin-producing beta cells in two mouse models of pancreas development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 2924–2929.

67. Yabuki A, Taharaguchi S, Ichii O, Kojima M, Nishi Y, Mifune H, Kamimura R, Matsumoto M, Suzuki S. Immunohistochemical localization of ghrelin in rodent kidneys. *Histochem Cell Biol* 2006; 126: 231–238.
68. Mori K, Yoshimoto A, Takaya K, Hosoda K, Ariyasu H, Yahata K, Mukoyama M, Sugawara A, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. Kidney produces a novel acylated peptide, ghrelin. *FEBS Lett* 2000; 486: 213–216.
69. Volante M, Allia E, Gugliotta P, Funaro A, Broglio F, Deghenghi R, Muccioli G, Ghigo E, Papotti M. Expression of ghrelin and of the GH secretagogue receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1300–1308.
70. Raffel A, Krausch M, Cupisti K, Gerharz CD, Eisenberger CF, Knoefel WT. Ghrelin expression in neuroendocrine tumours of the gastrointestinal tract with multiple endocrine neoplasia type 1. *Horm Metab Res* 2005; 37: 653–655.
71. Volante M, Allia E, Fulcheri E, Cassoni P, Ghigo E, Muccioli G, Papotti M. Ghrelin in fetal thyroid and follicular tumors and cell lines: expression and effects on tumor growth. *Am J Pathol* 2003; 162: 645–654.
72. Cassoni P, Allia E, Marrocco T, Ghè C, Ghigo E, Muccioli G, Papotti M. Ghrelin and cortistatin in lung cancer: expression of peptides and related receptors in human primary tumors and in vitro effect on the H345 small cell carcinoma cell line. *J Endocrinol Invest* 2006; 29: 781–790.
73. Wren AM, Small CJ, Ward HL, Murphy KG, Dakin CL, Taheri S, Kennedy AR, Roberts GH, Morgan DG, Ghatei MA, Bloom SR. The novel

hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology* 2000; 141: 4325–4328.

74. Nagaya N, Kojima M, Uematsu M, Yamagishi M, Hosoda H, Oya H, Hayashi Y, Kangawa K. Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 280: 1483–1487.
75. Kineman RD, Kamegai J, Frohman LA. Growth hormone (GH)-releasing hormone (GHRH) and the GH secretagogue (GHS), L692,585, differentially modulate rat pituitary GHS receptor and GHRH receptor messenger ribonucleic acid levels. *Endocrinology* 1999;140: 3581–3586.
76. Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Ishii S, Sugihara H, Oikawa S. Regulation of the ghrelin gene: growth hormone-releasing hormone upregulates ghrelin mRNA in the pituitary. *Endocrinology* 2001; 142: 4154–4157.
77. Barkan AL, Dimaraki EV, Jessup SK, Symons KV, Ermolenko M, Jaffe CA. Ghrelin secretion in humans is sexually dimorphic, suppressed by somatostatin, and not affected by the ambient growth hormone levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2180–2184.
78. Arvat E, Maccario M, Di Vito L, Broglio F, Benso A, Gottero C, Papotti M, Muccioli G, Dieguez C, Casanueva FF, Deghenghi R, Camanni F, Ghigo E. Endocrine activities of ghrelin, a natural growth hormone secretagogue (GHS), in humans: comparison and interactions with hexarelin, a nonnatural peptidyl GHS, and GH-releasing hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1169–1174.
79. Leal-Cerro A, Torres E, Soto A, Dios E, Deghenghi R, Arvat E, Ghigo E, Dieguez C, Casanueva FF. "Ghrelin is no longer able to stimulate growth

hormone secretion in patients with Cushing's syndrome but instead induces exaggerated corticotropin and cortisol responses. *Neuroendocrinology* 2002; 76: 390–396.

80. Bowers CY. Unnatural growth hormone-releasing peptide begets natural ghrelin. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1464–1469.
81. Rubinfeld H, Hadani M, Taylor JE, et al. Novel ghrelin analogs with improved affinity for the GH secretagogue receptor stimulate GH and prolactin release from human pituitary cells. *Eur J Endocrinol*. 2004;151:787–795.
82. Carlini VP, Monzon ME, Varas MM, Cragolini AB, Schioth HB, Scimonelli TN, de Barioglio SR. Ghrelin increases anxiety-like behavior and memory retention in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 299: 739–743.
83. Asakawa A, Inui A, Kaga T, Yuzuriha H, Nagata T, Fujimiya M, Katsuura G, Makino S, Fujino MA, Kasuga M. A role of ghrelin in neuroendocrine and behavioral responses to stress in mice. *Neuroendocrinology* 2001; 74: 143–147.
84. Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB. "Ghrelin--a hormone with multiple functions." *Front Neuroendocrinol*. 2004; 25: 27–68.
85. Nagaya N, Kangawa K. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing peptide, in the treatment of chronic heart failure. *Regul Pept* 2003; 114: 71–77.
86. Pecker F. Ghrelin in the heart and growth hormone: which is chicken, which is egg? *Cardiovasc Res* 2004; 62: 442–443.
87. Nagaya N, Uematsu M, Kojima M, Date Y, Nakazato M, Okumura H, Hosoda H, Shimizu W, Yamagishi M, Oya H, Koh H, Yutani C, Kangawa K. Elevated circulating level of ghrelin in cachexia associated with chronic heart

failure: relationships between ghrelin and anabolic/catabolic factors. *Circulation* 2001; 104: 2034–2038.

88. Nagaya N, Uematsu M, Kojima M, Ikeda Y, Yoshihara F, Shimizu W, Hosoda H, Hirota Y, Ishida H, Mori H, Kangawa K. Chronic administration of ghrelin improves left ventricular dysfunction and attenuates development of cardiac cachexia in rats with heart failure. *Circulation* 2001; 104: 1430–1435.
89. Wiley KE, Davenport AP. Comparison of vasodilators in human internal mammary artery: ghrelin is a potent physiological antagonist of endothelin-1. *Br J Pharmacol* 2002; 136: 1146–1152.
90. Hayashida T, Nakahara K, Mondal MS, Date Y, Nakazato M, Kojima M, Kangawa K, Murakami N. Ghrelin in neonatal rats: distribution in stomach and its possible role. *J Endocrinol.* 2002; 173: 239–245.
91. Tanaka K, Minoura H, Isobe T, Yonaha H, Kawato H, Wang DF, Yoshida T, Kojima M, Kangawa K, Toyoda N. Ghrelin is involved in the decidualization of human endometrial stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2335–2340.
92. Kim SW, Her SJ, Park SJ, Kim D, Park KS, Lee HK, Han BH, Kim MS, Shin CS, Kim SY. Ghrelin stimulates proliferation and differentiation and inhibits apoptosis in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Bone* 2005; 37: 359–369.
93. Levin F, Edholm T, Ehrström M, Wallin B, Schmidt PT, Kirchgessner AM, Hilsted LM, Hellström PM, Näslund E. Effect of peripherally administered ghrelin on gastric emptying and acid secretion in the rat. *Regul Pept* 2005; 131: 59–65.

94. Edholm T, Levin F, Hellström PM, Schmidt PT. Ghrelin stimulates motility in the small intestine of rats through intrinsic cholinergic neurons. *Regul Pept* 2004; 121: 25–30.
95. Masuda Y, Tanaka T, Inomata N, Ohnuma N, Tanaka S, Itoh Z, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K. Ghrelin stimulates gastric acid secretion and motility in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 276: 905–908.
96. Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, Matsukura S. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 2001; 409: 194–198.
97. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001; 50: 1714–1719.
98. Tschöp M, Wawarta R, Riepl RL, Friedrich S, Bidlingmaier M, Landgraf R, Folwaczny C. Post-prandial decrease of circulating human ghrelin levels. *J Endocrinol Invest* 2001; 24: 19–21.
99. Itoh FT, Komatsu T, Kushibiki S, Hodate K. Effects of ghrelin injection on plasma concentrations of glucose, pancreatic hormones and cortisol in Holstein dairy cattle. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2006; 143: 97–102.
100. Shintani M, Ogawa Y, Ebihara K, Aizawa-Abe M, Miyanaga F, Takaya K, Hayashi T, Inoue G, Hosoda K, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. Ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway. *Diabetes* 2001; 50: 227–232.

101. Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000; 407: 908–913.
102. Wren AM, Small CJ, Abbott CR, Dhillon WS, Seal LJ, Cohen MA, Batterham RL, Taheri S, Stanley SA, Ghatei MA, Bloom SR. Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats. *Diabetes* 2001; 50: 2540–2547.
103. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, Brynes AE, Frost GS, Murphy KG, Dhillon WS, Ghatei MA, Bloom SR. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5992.
104. Muller AF, Janssen JA, Hofland LJ, Lamberts SW, Bidlingmaier M, Strasburger CJ, van der Lely AJ. Blockade of the growth hormone (GH) receptor unmasks rapid GH-releasing peptide-6-mediated tissue-specific insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 590–593.
105. Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Muccioli G, Papotti M, van der Lely AJ, Deghenghi R, Ghigo E. Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5083–5086.
106. Adeghate E, Ponery AS. Ghrelin stimulates insulin secretion from the pancreas of normal and diabetic rats. *J Neuroendocrinol* 2002; 14: 555–560.
107. Tassone F, Broglio F, Destefanis S, Rovere S, Benso A, Gottero C, Prodham F, Rossetto R, Gauna C, van der Lely AJ, Ghigo E, Maccario M. Neuroendocrine and metabolic effects of acute ghrelin administration in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5478–5483.
108. Muller AF, Lamberts SW, Janssen JA, Hofland LJ, Koetsveld PV, Bidlingmaier M, Strasburger CJ, Ghigo E, Van der Lely AJ. Ghrelin drives GH secretion during fasting in man. *Eur J Endocrinol* 2002; 146: 203–207.

109. Eden Engström B, Burman P, Holdstock C, Karlsson FA. Effects of growth hormone (GH) on ghrelin, leptin, and adiponectin in GH-deficient patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5193–5198.
110. Purnell JQ, Weigle DS, Breen P, Cummings DE. Ghrelin levels correlate with insulin levels, insulin resistance, and high-density lipoprotein cholesterol, but not with gender, menopausal status, or cortisol levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5747–5752.
111. Sakata I, Tanaka T, Matsubara M, Yamazaki M, Tani S, Hayashi Y, Kangawa K, Sakai T. Postnatal changes in ghrelin mRNA expression and in ghrelin-producing cells in the rat stomach *J Endocrinol* 2002; 174: 463–471.
112. Chan JL, Bullen J, Lee JH, Yiannakouris N, Mantzoros CS. Ghrelin levels are not regulated by recombinant leptin administration and/or three days of fasting in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 335–343.
113. Gualillo O, Caminos JE, Kojima M, Kangawa K, Arvat E, Ghigo E, Casanueva FF, Diéguez C. Gender and gonadal influences on ghrelin mRNA levels in rat stomach. *Eur J Endocrinol* 2001; 144: 687–690.
114. Liu YL, Yakar S, Otero-Corchon V, Low MJ, Liu JL. Ghrelin gene expression is age-dependent and influenced by gender and the level of circulating IGF-I. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 189: 97–103.
115. Goldstone AP, Thomas EL, Brynes AE, Castroman G, Edwards R, Ghatei MA, Frost G, Holland AJ, Grossman AB, Korbonits M, Bloom SR, Bell JD. Elevated fasting plasma ghrelin in prader-willi syndrome adults is not solely explained by their reduced visceral adiposity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1718–1726.

116. McCowen KC, Maykel JA, Bistran BR, Ling PR. Circulating ghrelin concentrations are lowered by intravenous glucose or hyperinsulinemic euglycemic conditions in rodents. *J Endocrinol* 2002; 175: 7–11.
117. Briatore L, Andraghetti G, Cordera R. Acute plasma glucose increase, but not early insulin response, regulates plasma ghrelin. *Eur J Endocrinol* 2003; 149: 403–406.
118. Tschöp M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 2001; 50: 707–709.
119. Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP, Purnell JQ. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med* 2002; 346: 1623–1630.
120. Asakawa A, Inui A, Kaga T, Katsuura G, Fujimiya M, Fujino MA, Kasuga M. Antagonism of ghrelin receptor reduces food intake and body weight gain in mice. *Gut*. 2003; 52: 947–952.
121. Weigle DS, Cummings DE, Newby PD, Breen PA, Frayo RS, Matthys CC, Callahan HS, Purnell JQ. Roles of leptin and ghrelin in the loss of body weight caused by a low fat, high carbohydrate diet. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1577–1586.
122. Beck B, Musse N, Stricker-Krongrad A. Ghrelin, macronutrient intake and dietary preferences in long-evans rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 292:1031–1035.
123. Lee HM, Wang G, Englander EW, Kojima M, Greeley GH Jr. Ghrelin, a new gastrointestinal endocrine peptide that stimulates insulin secretion: enteric

distribution, ontogeny, influence of endocrine, and dietary manipulations. *Endocrinology* 2002; 143:185–190.

124. Haqq AM, Farooqi IS, O'Rahilly S, Stadler DD, Rosenfeld RG, Pratt KL, LaFranchi SH, Purnell JQ. Serum ghrelin levels are inversely correlated with body mass index, age, and insulin concentrations in normal children and are markedly increased in Prader-Willi syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 174–178.
125. Nakai Y, Hosoda H, Nin K, Ooya C, Hayashi H, Akamizu T, Kangawa K. Plasma levels of active form of ghrelin during oral glucose tolerance test in patients with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol* 2003; 149: 1–3.
126. Tanaka M, Naruo T, Muranaga T, Yasuhara D, Shiiya T, Nakazato M, Matsukura S, Nozoe S. Increased fasting plasma ghrelin levels in patients with bulimia nervosa. *Eur. J. Endocrinol* 2002; 146: 1–3.
127. Shimizu Y, Nagaya N, Isobe T, Imazu M, Okumura H, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Kohno N. Increased plasma ghrelin level in lung cancer cachexia. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 774–778.
128. Dall R, Kanaley J, Hansen TK, Muller N, Christiansen JS, Hosoda H, Kangawa K, Jørgensen JO. Plasma ghrelin levels during exercise in healthy subjects and in growth hormone-deficient patients. *Eur J Endocrinol* 2002; 147: 65–70.
129. Janssen JA, van der Toorn FM, Hofland LJ, van Koetsveld P, Broglio F, Ghigo E, Lamberts SW, Jan van der Lely A. Systemic ghrelin levels in subjects with growth hormone deficiency are not modified by one year of growth hormone replacement therapy. *Eur J Endocrinol* 2001; 145:711–716.

130. Riis AL, Hansen TK, Moller N, Weeke J, Jorgensen JO. Hyperthyroidism is associated with suppressed circulating ghrelin levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 853–857.
131. Marchesini G, Pagotto U, Bugianesi E, De Iasio R, Manini R, Vanni E, Pasquali R, Melchionda N, Rizzetto M. Low ghrelin concentrations in nonalcoholic fatty liver disease are related to insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5674–5679.
132. Tacke F, Brabant G, Kruck E, Horn R, Schöffski P, Hecker H, Manns MP, Trautwein C. Ghrelin in chronic liver disease. *J Hepatol* 2003; 38: 447–454.
133. Pöykkö SM, Kellokoski E, Hörkkö S, Kauma H, Kesäniemi YA, Ukkola O. Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes. *Diabetes* 2003; 52: 2546–2553.
134. Masaoka T, Suzuki H, Hosoda H, Ota T, Minegishi Y, Nagata H, Kangawa K, Ishii H. Enhanced plasma ghrelin levels in rats with streptozotocin-induced diabetes. *FEBS Lett* 2003; 541: 64–68.
135. Ishii S, Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Sugihara H, Oikawa S. Role of ghrelin in streptozotocin-induced diabetic hyperphagia. *Endocrinology* 2002; 143: 4934–4937.
136. Bolzan AD, Bianchi MS. Genotoxicity of streptozotocin. *Mutat Res* 2002; 512: 121–134.
137. Tuğrul A. Diyabetik Nefropati. *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2002; 19: 113–121.
138. Dalla Vestra M, Saller A, Bortoloso E, Mauer M, Fioretto P. Structural involvement in type 1 and type 2 diabetic nephropathy. *Diabetes Metab* 2000; 26: 8–14.

139. White KE, Marshall SM, Bilous RW. Are glomerular volume differences between type 1 and type 2 diabetic patients pathologically significant? *Diabetologia* 2007; 50: 906–912.
140. Rusch R. Prevention of diabetic glomerulopathy in streptozotocin diabetic rats by insulin treatment. The mesangial regions *Diabetologia* 1979; 17: 243–248.
141. Rusch R. Prevention of diabetic glomerulopathy in streptozotocin diabetic rats by insulin treatment. *Diabetologia* 1979; 16: 319–324.
142. Osterby R, Asplund J, Bangstad HJ, Nyberg G, Rudberg S, Viberti GC, Walker JD. Neovascularization at the vascular pole region in diabetic glomerulopathy. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 348–352.
143. Cortes P, Dumler F, Goldman J, Levin NW. Relationship between renal function and metabolic alterations in early streptozocin-induced diabetes in rats. *Diabetes* 1987; 36: 80–87.
144. Sanai T, Sobka T, Johnson T, el-Essawy M, Muchaneta-Kubara EC, Ben Gharbia O, el Oldroyd S, Nahas AM. Expression of cytoskeletal proteins during the course of experimental diabetic nephropathy. *Diabetologia* 2000; 43: 91–100.
145. Tucker BJ, Collins RC, Ziegler MG, Blantz RC. Disassociation between glomerular hyperfiltration and extracellular volume in diabetic rats. *Kidney Int* 1991; 39: 1176–1183.
146. New JP, Canavan JP, Flyvbjerg A, Hamon G, Bilous RW, Marshall SM. Renal enlargement and insulin-like growth factor-1 accumulation in the Wistar rat model of experimental diabetes is not prevented by angiotensin converting enzyme inhibition. *Diabetologia* 1996; 39: 166–171.

147. Hirose K, Osterby R, Nozawa M, Gundersen HJ. Development of glomerular lesions in experimental long-term diabetes in the rat. *Kidney Int* 1982; 21: 689–695.
148. Nishikawa T, Edelstein D, Brownlee M. The missing link: a single unifying mechanism for diabetic complications. *Kidney Int Suppl* 2000; 77: 26–30.
149. Nishino T, Horii Y, Shiiki H, Yamamoto H, Makita Z, Bucala R, Dohi K. Immunohistochemical detection of advanced glycosylation end products within the vascular lesions and glomeruli in diabetic nephropathy. *Hum Pathol* 1995; 26: 308–313.
150. Rose G. High-risk and population strategies of prevention: ethical considerations. *Ann Med* 1989; 21: 409–413.
151. Gugliucci A, Bendayan M. Reaction of advanced glycation endproducts with renal tissue from normal and streptozotocin-induced diabetic rats: an ultrastructural study using colloidal gold cytochemistry. *J Histochem Cytochem* 1995; 43: 591–600.
152. Gugliucci A, Bendayan M. Renal fate of circulating advanced glycated end products (AGE): evidence for reabsorption and catabolism of AGE-peptides by renal proximal tubular cells. *Diabetologia* 1996; 39: 149–160.
153. Vardı N, Iraz M, Gül M, Öztürk F, Uçar M, Oflu A. Diyabetin böbreklerde neden olduğu histolojik değişiklikler üzerine aminoguanidinin iyileştirici etkileri. *Turkiye klinikleri J Med Sci* 2006; 26: 599–606.
154. Flyvbjerg A. Role of growth hormone, insulin-like growth factors (IGFs) and IGF-binding proteins in the renal complications of diabetes. *Kidney Int Sup* 1997; 60: 12–19.

155. Esposito C, Liu ZH, Striker GE, Phillips C, Chen NY, Chen WY, Kopchick JJ, Striker LJ. Inhibition of diabetic nephropathy by a GH antagonist: a molecular analysis. *Kidney Int* 1996; 50: 506–514.
156. Lundbaek K, Christensen NJ, Jensen VA, Johansen K, Olsen TS, Hansen AP, Orskov H, Osterby R. Diabetes, diabetic angiopathy, and growth hormone. *Lancet* 1970; 2: 131–133.
157. Segev Y, Landau D, Rasch R, Flyvbjerg A, Phillip M. Growth hormone receptor antagonism prevents early renal changes in nonobese diabetic mice. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 2374–2381.
158. Flyvbjerg A, Bennett WF, Rasch R, Kopchick JJ, Scarlett JA. Inhibitory effect of a growth hormone receptor antagonist (G120K-PEG) on renal enlargement, glomerular hypertrophy, and urinary albumin excretion in experimental diabetes in mice. *Diabetes* 1999; 48: 377–382.
159. De Ambrogi M, Volpe S, Tamanini C. Ghrelin: central and peripheral effects of a novel peptidyl hormone. *Med Sci Monit* 2003; 9: 217–224.
160. Holdstock C, Ludvigsson J, Karlsson FA. Abnormal ghrelin secretion in new onset childhood Type 1 diabetes. *Diabetologia* 2004; 47: 150–151.
161. Alonso N, Granada ML, Salinas I, Reverter JL, Flores L, Ojanguren I, Martínez-Cáceres EM, Sanmartí A. Plasma ghrelin concentrations in type 1 diabetic patients with autoimmune atrophic gastritis. *Eur J Endocrinol* 2007; 157: 763–769.
162. Matsubara M. Renal sodium handling for body fluid maintenance and blood pressure regulation. *Yakugaku Zasshi* 2004; 124: 301–309.
163. Sowers JR, Epstein M, Frohlich ED. Diabetes, hypertension, and cardiovascular disease: an update. *Hypertension* 2001; 37: 1053–1059.

- 164.** Yoshimoto A, Mori K, Sugawara A, Mukoyama M, Yahata K, Suganami T, Takaya K, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K. Plasma ghrelin and desacyl ghrelin concentrations in renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13: 2748- 2752.

8. ÖZGEÇMİŞ

16.04.1974 tarihinde Elazığ'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 1991 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesini kazandım. 1997 yılında mezun olduktan sonra 1998–2002 yıllarında pratisyen hekim olarak çalıştım. 2003 yılı Eylül dönemi TUS sınavında başarılı olarak, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında uzmanlık eğitimi yapmaya başladım.