

T.C
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MELATONİN UYGULANAN RATLARIN KARACİĞER VE
BÖBREK DOKUSUNDA GHRELİN VE İNSÜLİN BENZERİ
BÜYÜME FAKTÖRÜ-İ'İN (IGF-I) İMMUNOHİSTOKİMYASAL
LOKALİZASYONU**

Seher KOÇ SALTAN
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Şahin ASLAN

2013 – Kars

T.C
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MELATONİN UYGULANAN RATLARIN KARACİĞER VE
BÖBREK DOKUSUNDA GHRELİN VE İNSÜLİN BENZERİ
BÜYÜME FAKTÖRÜ-İ'İN (IGF-I) İMMUNOHİSTOKİMYASAL
LOKALİZASYONU

Seher KOÇ SALTAN
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Şahin ASLAN

Bu çalışma KAÜ Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Fonu tarafından
desteklenmiştir. Proje No: 2012-VF-27

2013 - Kars

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Histoloji ve Embriyoloji Doktora Programı çerçevesinde Seher KOÇ SALTAN tarafından hazırlanmış olan “ Melatonin Uygulanan Ratların Karaciğer ve Böbrek Dokusunda Ghrelin ve İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-I’in (IGF-I) İmmunohistokimyasal Lokalizasyonu” adlı bu çalışma, yapılan tez savunma sınavı sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi
27.12.2013

İmza

Adı Soyadı :

Başkan : Prof. Dr. Şahin ASLAN
Üye : Doç. Dr. Abit AKTAŞ
Üye : Doç. Dr. Hasan ÖZEN
Üye : Doç. Dr. Ebru KARADAĞ SARI
Üye : Yrd. Doç. Dr. Turgay DEPREM

.....
.....
.....
.....
.....

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nungün ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet ÇİTİL
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	I
TABLolar DİZİNİ	III
ŞEKİLLER DİZİNİ	IV
GRAFİKLER DİZİNİ	V
RESİMLER DİZİNİ	VI
ÖNSÖZ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Melatonin	3
2.1.1. Melatoninin Etki Mekanizması	5
2.1.2. Melatoninin Etkileri ve Antioksidan Özelliği	6
2.2. Ghrelin	8
2.2.1. Ghrelinin Etkileri	9
2.3. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörleri (IGF)	10
2.3.1. IGF Reseptörleri	11
2.3.2. IGF'lerin Bağlayıcı Proteinleri (IGFBP)	12
2.3.3. IGF'lerin Sentezi ve Salınımı	12
2.3.4. IGF'lerin Etki Mekanizması ve Dokular Üzerine Etkileri	13
2.3.5. IGF-I ile Ghrelin Arasındaki İlişki	15
2.4. Melatonin ve IGF-I İlişkisi	16
2.5. Melatonin ve Ghrelin İlişkisi	17
2.6. Karaciğer	18
2.7. Böbrek	20

2.7.1. Nefron	21
2.7.2. Toplayıcı Borucuklar	23
3. MATERYAL ve METOT	24
3.1.1. Deney Hayvanı Materyali	24
3.1.2. Melatonin	24
3.2. METOT	25
3.2.1. Melatonin Uygulaması	25
3.2.2. Canlı Ağırlık Ölçümü	25
3.2.3. Karaciğer ve Böbrek Doku Örneklerinin Alınması	25
3.2.4. Histolojik İncelemeler	26
3.2.5. Histometrik İncelemeler	26
3.2.6. İmmunohistokimyasal İncelemeler	28
3.2.7. İstatistiksel Analiz	29
4. BULGULAR	30
4.1. Ratların Canlı Ağırlık Bulguları	30
4.2. Ratların Böbrek ve Karaciğer Ağırlık Bulguları	37
4.3. Histolojik Bulgular	38
4.4. Histometrik Bulgular	44
4.5. İmmunohistokimyasal Bulgular	46
4.5.1. Karaciğerde IGF-I'in İmmunohistokimyasal Bulguları	46
4.5.2. Böbrekde IGF-I'in İmmunohistokimyasal Bulguları	53
4.5.3. Karaciğerde Ghrelinin İmmunohistokimyasal Bulguları	60
4.5.4. Böbrekde Ghrelinin İmmunohistokimyasal Bulguları	65
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	71

6. ÖZET	84
7. SUMMARY	85
8. KAYNAKLAR	86
9. ÖZGEÇMİŞ	99

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABC: Avidin-Biotin-Peroksidaz

APUD: Amine Precursor Uptake Deamin

Cl: Klor

DAB: Diaminobenzidin

dk: Dakika

DNA: Deoksiribonükleik Asit

F: F Değeri

GH: Büyüme Hormonu

GHRH: Büyüme Hormonunu Uyarın Hormon

GHS-R1a: Büyüme Hormonu Uyarıcı Hormon Reseptörü.

GPx: Glutatyon Peroksidaz

gr: Gram

GSSG-Rd: Glutatyon Redüktaz

H.E.: Hematoksilen Eosin

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

IGF: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü

IGFBP: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Proteinler

IGF-R: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Reseptörü

i.p.: İntraperitoneal

K: Potasyum

kDa: Kilodalton

kg: Kilogram

M: Molar

mg: Miligram

M.Ö.: Milattan Önce

mRNA: Mesajcı Ribonükleik Asit

MSH: Melanosit Uyarıcı Hormon

Na: Sodyum

II

O₂: Süperoksit

OH: Hidroksil

PAS: Periyodik Asit Shift

PBS: Fosfat Buffer Salin

RNA: Ribonükleik Asit

SD: Standart Sapma

SOD: Süperoksit Dismutaz

TSH: Tiroid Stimulan Hormon

µg: Mikrogram

µm: Mikrometre

III

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Deney grupları ve deneysel uygulamalar	25
Tablo 3.2. Dokulardaki IGF-I ve ghrelin immunoreaktivitesinin derecelendirilmesi	29
Tablo 4.1. Kontrol grubu içinde günlere göre ortalama canlı ağırlıkların karşılaştırılması	30
Tablo 4.2. Sham grubu içinde günlere göre ortalama canlı ağırlıkların karşılaştırılması	31
Tablo 4.3. Deneme grubu içinde günlere göre ortalama canlı ağırlıkların karşılaştırılması	33
Tablo 4.4. Gruplararası günlere göre ortalama canlı ağırlıkların karşılaştırılması	34
Tablo 4.5: Gruplar arasında böbrek ağırlıklarının karşılaştırılması	37
Tablo 4.6. Gruplar arasında karaciğer ağırlıklarının karşılaştırılması	37
Tablo 4.7. Gruplar arasında hepatosit sayılarının karşılaştırılması	44
Tablo 4.8. Gruplar arasında çift çekirdekli hepatosit sayılarının karşılaştırılması	45
Tablo 4.9. Karaciğerdeki yapılar ve IGF-I için reaksiyon yoğunluğu	48
Tablo 4.10. Böbrekteki yapılar ve IGF-I için reaksiyon yoğunluğu	57
Tablo 4.11. Karaciğerdeki yapılar ve ghrelin için reaksiyon yoğunluğu	60
Tablo 4.12. Böbrekteki yapılar ve ghrelin için reaksiyon yoğunluğu	65

IV

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Őekil 2.1. Karanlık/aydınlık uyarı ile melatonin sentezinin dűzenlenmesi

5

GRAFİKLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Grafik 4.1. Kontrol grubunda günlere göre canlı ağırlıklarının karşılaştırılması	32
Grafik 4.2. Sham grubunda günlere göre canlı ağırlıklarının karşılaştırılması	32
Grafik 4.3. Deneme grubunda günlere göre canlı ağırlıklarının karşılaştırılması	34
Grafik 4.4. Günlere göre canlı ağırlıkların ortalamalarının gruplar arası karşılaştırılması	36
Grafik 4.5. Gruplar arasında hepatosit sayılarının karşılaştırılması	44
Grafik 4.6. Gruplar arasında çift çekirdekli hepatosit sayılarının karşılaştırılması	45

VI

RESİMLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Resim 3.1. Karaciğerdeki tek çekirdekli hepatosit sayımının program üzerinde gösterimi	27
Resim 3.2. Karaciğerdeki çift çekirdekli hepatosit sayımının program üzerinde gösterimi	27
Resim 4.1. Kontrol grubunda karaciğerin genel görünümü	39
Resim 4.2. Kontrol grubu karaciğer dokusunda glikojen birikimi	39
Resim 4.3. Sham grubu karaciğer dokusu	40
Resim 4.4. Sham grubu karaciğerinde Kiernan aralığı bölgesinin histolojik görünümü	40
Resim 4.5. Deneme grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü	41
Resim 4.6. Kontrol grubu böbrek dokusunun histolojik görünümü	43
Resim 4.7. Deneme grubu rat böbreğinde korteksin histolojik görünümü	43
Resim 4.8. Kontrol grubunda Kiernan aralığında IGF-I immunoreaktivitesi	47
Resim 4.9. Kontrol grubunda karaciğer dokusunda IGF-I immunoreaktivitesi	47
Resim 4.10. Kontrol grubu karaciğer dokusunda odaklar şeklinde yoğun IGF-I immunoreaktivitesi	48
Resim 4.11. Sham grubunda vena sentralisler etrafındaki hepatositlerde IGF-I immunoreaktivitesi	49
Resim 4.12. Sham grubu karaciğer dokusunda IGF-I immunoreaktivitesi	49
Resim 4.13. Deneme grubu karaciğer dokusunda IGF-I immunoreaktivitesi	50
Resim 4.14. Kontrol grubu karaciğer dokusunda odaklar halinde IGF-I immunoreaktivitesi	51
Resim 4.15. Deneme grubu karaciğer dokusunda yaygın IGF-I immunoreaktivitesi	51

VII

Resim 4.16. Deneme grubu karaciğer dokusunda negatif IGF-I immunoreaktivitesi (Negatif kontrol)	52
Resim 4.17. Deneme grubu böbrek dokusunda IGF-I immunoreaktivitesi	53
Resim 4.18. Deneme grubu böbrek dokusunda kapsül altı bölgede yoğun IGF-I immunoreaktivitesi	54
Resim 4.19. Sham grubuna ait dokuda glomerulusda IGF-I immunoreaktivitesi	54
Resim 4.20. Kontrol grubu böbrek dokusunda medullaya geçiş bölgesinde yoğun IGF-I immunoreaktivitesi	55
Resim 4.21. Deneme grubu böbrek dokusunda medullada çıkan henlede IGF-I immunoreaktivitesi	56
Resim 4.22. Deneme grubu böbrek dokusunda duktus papillariste IGF-I immunoreaktivitesi	56
Resim 4.23. Kontrol grubu böbrek dokusunda dış kortekste IGF-I immunoreaktivitesi	58
Resim 4.24. Deneme grubu böbrek dokusunda dış kortekste IGF-I immunoreaktivitesi	58
Resim 4.25. Kontrol grubunda tubulus kolektivuslarda IGF-I immunoreaktivitesi	59
Resim 4.26. Deneme grubunda tubulus kolektivuslarda IGF-I immunoreaktivitesi	59
Resim 4.27. Kontrol grubunda Kiernan aralığı bölgesinde ghrelin immunoreaktivitesi	61
Resim 4.28. Sham grubu karaciğer hepatositlerinde ghrelin immunoreaktivitesi	61
Resim 4.29. Deneme grubuna ait karaciğer dokusunda ghrelin immunoreaktivitesi	62
Resim 4.30. Deneme grubu karaciğer dokusunda ghrelin immunoreaktivitesi	63

VIII

Resim 4.31. Kontrol grubu karaciğer dokusunda ghrelin immunoreaktivitesi	64
Resim 4.32. Deneme grubu karaciğer dokusunda lopçuklarda yoğun, Kiernan aralığı bölgelerinde zayıf ghrelin immunoreaktivitesi	64
Resim 4.33. Kontrol grubu böbrek dokusunda ghrelin immunoreaktivitesi	66
Resim 4.34. Deneme grubu böbrek dokusunda ghrelin immunoreaktivitesi	66
Resim 4.35. Deneme grubu böbrek dokusunda korteks-medulla sınırı bölümündeki ghrelin immunoreaktivitesi	67
Resim 4.36. Kontrol grubu böbrek dokusunda medullada ghrelin immunoreaktivitesi	68
Resim 4.37. Deneme grubu böbrek dokusunda medullada ghrelin immunoreaktivitesi	68
Resim 4.38. Sham grubu böbrek dokusunda duktus papillariste yoğun ghrelin immunoreaktivitesi	69
Resim 4.39. Deneme grubu böbrek dokusunda duktus papillariste orta derece yoğunlukta ghrelin immunoreaktivitesi	69
Resim 4.40. Kontrol grubu böbrek dokusunda negatif ghrelin immunoreaktivitesi	70

IX

ÖNSÖZ

Bu çalışmada eksojen olarak melatonin uygulaması yapılan ratların karaciğer ve böbreğinde ghrelin ve IGF-I'in immunohistokimyasal lokalizasyonunun incelenmesi amaçlanmıştır.

Doktora eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren, ilgisi ve manevi desteği ile de her zaman yanımda olduğunu hissettiren çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Şahin ASLAN'a, tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli hocalarım Doç. Dr. Ebru KARADAĞ SARI'ya, Yrd. Doç. Dr. Turgay DEPREM'e, Yrd. Doç. Dr. Serap KORAL TAŞÇI'ya, yine desteklerinden dolayı Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Mahmut SÖZMEN ile Doç. Dr. Hasan ÖZEN'e ve Yrd. Doç. Dr. Seyit Ali BİNGÖL'e, tez çalışmamdaki yardımlarından dolayı İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkan'ı Prof. Dr. H. Hakan BOZKURT başta olmak üzere tüm öğretim üyelerine, istatistiksel değerlendirmelerde desteğini gördüğüm Doç. Dr. Turgut KIRMIZIBAYRAK'a, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda bulunduğu süre zarfında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, bilime dair prensiplerini kendime örnek aldığım, güler yüzü ile moral ve güç katan değerli hocam Prof.Dr. Nurhayat YECAN GÜLMEZ'e, yine desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşım Öğr. Gör. Taylan ÖZGÜR KAYA'ya, maddi ve manevi desteği ile her zaman yanımda olduğunu hissettiren sevgili eşim Veteriner Hekim Cumhur SALTAN'a, tüm sıkıntı ve zorluklara rağmen, sevgi ve fedakarlıklarıyla bugünlere gelmeme ve bu güzellikleri yaşamama vesile olan anneme ve babama, hayatıma varlığıyla anlam ve neşe katan biricik kızıma, maddi desteğinden dolayı KAÜ Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Yönetim Kurulu Başkanlığı'na ve adını yazamadığım emeği geçen herkese çok teşekkür ederim.

1.GİRİŞ

Serbest oksijen radikalleri vücudumuzda birçok farklı etmenlere bağlı olarak ortaya çıkardıkları reaksiyonlar sonucu pek çok bozukluk ve bu bozukluklara bağlı hastalıklar meydana getirmektedir. Son yıllarda bu serbest oksijen radikallerine karşı mücadelede etkili olmalarından ötürü antioksidan savunma sistemleri olarak isimlendirilen birtakım mekanizmalar hakkında birçok araştırmalar yapılmış ve bunların oksidatif hasarı önlemede ne kadar önemli oldukları üzerinde durulmuştur (51,68,92).

Sağlıklı bir yaşam devamlılığı için vücudumuzun endojen savunma mekanizmalarını destekleyici nitelikte bir yaşam şekli sürdürmemiz gerekmektedir (102). Son yıllarda, endojen savunma sistemini güçlendirmek amacıyla, organizmada doğal bir şekilde bulunan antioksidan özellikte bazı farmakolojik ajanların kullanılmakta olduğu ve bunların da ekzojen savunma sistemleri olarak isimlendirildiği, bunlar arasında melatoninin de yer aldığı bildirilmektedir (14,125).

Organizmada melatonin, karanlıkta epifiz veya pineal olarak isimlendirilen bezden salgılanan ve birçok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynayan endojen bir hormondur (53,125). Melatonin hücrenin hayatta kalması ve büyümesi için gerekli olan önemli sinyal yollarının aktivasyonuna aracılık eder, ayrıca insülin benzeri büyüme faktörü reseptörü (IGF-R) ve insülin reseptör tirozin fosforilasyonuna neden olur. Ayrıca melatoninin önemli bir büyüme faktörü olan IGF-I ve ghrelin üzerindeki etkilerini gösteren çalışmalarda vardır (23,78,83,89,114). Ratların pankreas dokusunda yapılan bir çalışmada melatoninin IGF-I ve insülin reseptör sinyalizasyon yollarını aktive ederek pankreas adacıklarının büyüme ve farklılaşmasını düzenleyebildiği bildirilmiştir (89). Ayrıca erkek ratlarda uzun süreli melatonin uygulaması ve pinealektominin GH-IGF-I aksındaki fonksiyonuna etkisi üzerine yapılan bir çalışmada melatoninin IGF-I'in sentez ve sekresyonlarında dikkate alınması gereken sonuçlar verdiği bildirilmiştir (83). Ratlarda melatonin tedavisinin ghrelin düzeyleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada melatoninin ghrelin üretimini baskılayarak dolaşımdaki ghrelin seviyelerini azalttığı ve buna bağlı olarak da beyinde ghrelin sentezinin düzenlenmesinde bir etken olduğu bildirilmiştir (78).

Bu çalışmada melatonin uygulaması yapılan ratların karaciğer ve böbrek dokusunda ghrelin ve IGF-I'in immunohistokimyasal dağılımının incelenmesi ve melatoninin ghrelin ve IGF-I dağılımını üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Melatonin ile ghrelin ve IGF-I'in aralarındaki ilişkinin ortaya konmasıyla ve elde edilecek bulgulardan hareketle melatoninin birçok hastalığın patogenezinde önemli rol oynayan serbest radikallerle mücadelede kullanımına ışık tutacağı düşünülmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Melatonin

Melatonin, epifiz veya pineal olarak isimlendirilen bezden karanlıkta salgılanan uyku, biyolojik ritim, üreme ve immünite gibi birçok biyolojik fonksiyonun düzenlemesinde rol oynayan endojen bir hormondur (53,125). Pineal bezin salgı fonksiyonunu sağlayan temel endojen maddelerden biri olan indolaminler içerisinde en önemli yer tutan, 232 molekül ağırlığına sahip N-asetil-5-metoksitriptamin yani melatoninidir (20).

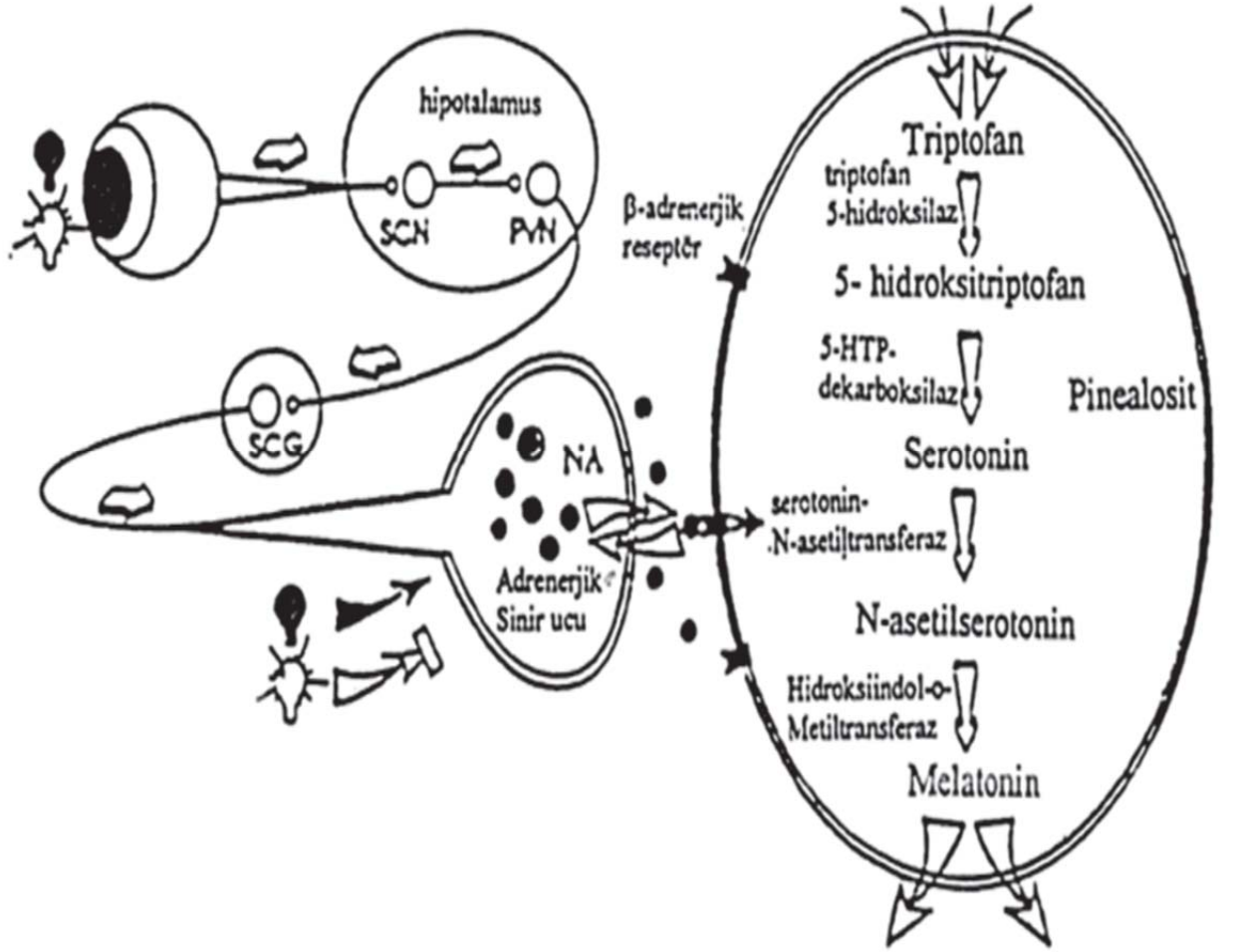
Epifiz olarak da adlandırılan pineal bezin ilk olarak M.Ö. 3. yüzyılda İskenderiyeli Herophilus tarafından ortaya konduğu bildirilmiştir (35). Pineal bez için, Bergamalı Galen, çam kozalağına benzemesinden ötürü konareion (Latince conarium) adını kullanmıştır. Ayrıca bu sözcüğün pineal bezi innerve eden Nervi conarii adı ile günümüzde de kullanımı sürmektedir. Pineal sözcüğü ise yine Latince'de çam kozalağı anlamına gelen "pinea" kelimesinden ileri gelmektedir. Pineal bezin anatomik yapısını Vesalius (1514-1564) tanımlamış, yine orta çağın ünlü filozof, hekim ve matematikçisi Rene Descartes (1596-1650) pineal bezi "ruhun yerleştiği yer" olarak tanımlayarak bellek işlevlerindeki önemini ortaya koymuştur. Lerner ve arkadaşları (64) 1958 yılında pineal bez ile ilgili çalışmalarda önemli bir adım atarak pineal bezin temel hormonu olan melatoninini tanımlamışlardır (4,64).

Endojen melatoninin büyük oranda epifiz ya da pineal bez olarak isimlendirilen bez tarafından yapıldığı bilinmekle beraber; son yıllarda özellikle diffüz nöroendokrin sistemin bir parçası olarak kabul edilen APUD(Amine Precursor Uptake Deamin) hücrelerinde ve gastrointestinal kanaldaki enterokromaffin hücrelerinde de önemli miktarlarda melatonin sentezi olduğu tespit edilmiştir (16,109). Ayrıca solunum yollarında, karaciğer, böbrek, adrenal bezler, timus, tiroid ve plasenta dokularında, mast hücreleri gibi nöroendokrin karakterde olmayan hücrelerde ve eozinofilik lökositlerde de olduğu belirlenmiştir (63). Aynı zamanda, yapılan çalışmalarda suprakiazmatik çekirdeğinde melatonin sentezleme yeteneğine sahip olduğu ama pineal bezdeki gibi önemli bir biyolojik ritmi etkileyen bir yapıya sahip olmadığı ortaya konulmuştur (46).

Pineal bezde bulunan pinealositler (pineal hücreler) melatonin hormonunu salgırlar. Salgılanan bu hormon serotoninle yakınlığı bilinen bir indol türevidir. Melatoninin, pigment hücrelerinde melanin yapımını uyan melanosit uyarıcı hormonun (MSH) tersine, pigmentasyonu önlediği belirtilmiştir (105).

Melatonin salgılanma mekanizmasında karanlık-ışık döngüsü ve hipotalamusta bulunan suprakiazmatik çekirdek düzenleyici rol oynamaktadır (35,91). Sentezinde ise pinealositlerde bulunan adrenerjik reseptör aktivasyonu esas rolü üstlenir (112). Bu sentezin kontrolünde hız sınırlayıcı basamakta bulunan arilalkilamin-N-asetiltransferaz enziminin transkripsiyonu ile birlikte melatonin sentezi başlar.

Melatonin salınımı geceleri büyük bir artış göstermekle beraber, artmış olan bu melatonin düzeyinin yüksek kalma süresi karanlığın süresine bağlıdır. Kış aylarında karanlığın daha uzun sürmesine bağlı olarak da bu süre daha uzundur. Pinealektomi veya sempatik duyarsızlaştırma ise melatoninin gece yükselmesini önlemektedir (4,84).



Şekil 2.1. Karanlık/ aydınlık uyarı ile melatonin sentezinin düzenlenmesi (12).

2.1.1. Melatonin Etki Mekanizması

Melatonin suya göre yağ çözünlüğü yüksek olması nedeniyle hücelere rahatça girebilme özelliği gösterir. Bu özelliğinden dolayı da etkileri sadece membrana yönelik değildir. Sulu ortamda kısmen çözünmesi de intrasellüler etkilerinin oluşmasına katkı sağlar. Son zamanlarda yapılan çalışmalar melatoninin çekirdekte yüksek konsantrasyonda bulunduğunu ve melatonin için spesifik bağlanma noktalarının bulunduğunu göstermiştir. Bu bulgulara bağlı olarak melatonin etkilerinin tiroid ve steroid hormonlara benzer şekilde çekirdekteki moleküler olaylarla ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (87).

2.1.2. Melatoninin Etkileri ve Antioksidan Özelliği

Serbest oksijen radikallerinin oluşumu sonucunda ortaya çıkabilecek zararlı etkilerin önlenmesi amacıyla aerobik canlılarda antioksidan savunma sistemleri diye isimlendirilen çeşitli mekanizmalar gelişmiştir. Antioksidan maddeler, Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GSSG-Rd), katalaz gibi enzimler, vitaminler ve tiyoller gibi enzim olmayan antioksidanlar olarak yapısal özelliklerine göre sınıflandırma yapılabilirler (1,125). Son yıllarda, endojen savunma sistemini güçlendirmek amacıyla, organizmada doğal bir şekilde bulunan antioksidan özellikte bazı farmakolojik ajanların kullanılmakta olduğu ve bunların da ekzojen savunma sistemleri olarak isimlendirildiği, bunlar arasında melatoninin de yer aldığı bildirilmektedir (14,125).

Melatonin hormonunun endokrin sistemin düzenlenmesi, immün fonksiyonların artırılması, düz kas tonusunun ayarlanması ve gonadal fonksiyonların baskılanması gibi pekçok fizyolojik işlevlerde rol aldığı, aynı zamanda güçlü bir antioksidan olduğu rapor edilmiştir (14). Literatürlerde ilk defa melatoninin bir antioksidan olduğu Ianâş ve arkadaşları (51) tarafından 1991 yılında belirtilmiştir. Melatoninin bu özelliği sayesinde dokularda lipid peroksidasyonu sonucunda meydana gelen oksidatif hasarı önlediği bildirilmiştir (68).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, melatoninin oksidatif stress ile ilişkili olduğu, hem direkt radikal toplayıcı olarak, hem de indirekt olarak antioksidan özelliğinin olduğu ortaya konulmuştur. Serbest radikal toplayıcısı olarak yüksek derecede lipofilik bir özelliğinin olması melatoninin sahip olduğu en önemli avantajdır. Melatonin serbest radikal toplayıcı etkisini göstermek için herhangi bir bağlanma bölgesine ve reseptöre ihtiyaç duymaz (48,51,93).

Serbest radikaller ve hidroksil radikalleri yüksek bir reaktiflik özelliğine sahip olduklarından hücrelerde bulunan makromoleküllerde büyük hasar meydana getirirler. İyi bilinen serbest radikal tüketicilerinden olan glutatyon ve mannitol ile melatonin arasında bir karşılaştırma yapıldığında, melatoninin özellikle DNA gibi makromolekülleri oksidatif hasardan korumada daha güçlü olduğu ortaya çıkmıştır (92). Melatonin bütün hücre içi komponentlere kolay bir biçimde diffüze olabilir, bu

da serbest radikallere ulaşıp onları zararsız hale getirebilmesi açısından önemli bir özelliktir. Melatonin yüksek toksik güce sahip olan hidroksil radikallerinin tüketiciliğini yapmanın yanı sıra, güçlü antioksidan enzim olan glutatyon peroksidaz aktivitesini de stimüle eder. Glutatyon peroksidaz ise metabolik olarak, hidroksil radikalının prekürsörü olan hidrojen peroksidi (H_2O_2) suya metabolize etmekle görevlidir. Bundan dolayı da melatonin hücreleri oksidatif hasardan en az iki yolla korumaktadır (92).

Melatoninin antioksidan olarak bir özelliği hem suda hem de yağda çözünebiliyor olmasıdır. Buna bağlı olarak da organizmada çok geniş bir alanda antioksidan etkisini gösterebilmektedir. Kan-beyin bariyerini ve plasentayı kolay bir şekilde geçebilen melatonin için, bilinen hiçbir morfofizyolojik bariyerin olmaması, melatoninin tüm intraselüler komponentlere rahat bir şekilde ulaşabilmesini sağlamaktadır. Bu özelliği ile melatonin, hücre zarını, organelleri ve çekirdeği etkin bir şekilde serbest radikal hasarına karşı koruyabilmektedir (4). Melatonin hücre membranı ile temas ettiği zaman, fosfolipid tabakanın dış yüzeyine tutunur, radikallerle membrandan önce temasa geçerek onları detoksifiye eder ve bu yolla membranı korur. Ayrıca mitokondriyal solunum zincirinden kaynaklanan O_2' , H_2O_2 ve OH' gibi radikallerin üretimi de melatonin var olması halinde azalmaktadır. Melatoninin hücre çekirdeğine kadar ulaşabilme özelliği, DNA'nın oksidatif hasara karşı korunması açısından, ona diğer antioksidanlardan daha fazla bir üstünlük katmaktadır (4). Daha da önemlisi melatoninin, diğer antioksidanların tersine, çok yüksek dozlarda (300 mg/gün) ve uzun süreli bir kullanımda (5 yıl) bile, toksik bir etki göstermemesidir (92).

2.2. Ghrelin

Ghrelin, 1999 yılında Kojima ve arkadaşları (56) tarafından keşfedilen ve büyüme hormonu salgılatıcı hormon reseptörüne (GHS-R1a) bağlanmış endojen bir ligand olarak tanımlanan temel olarak mide fundusundan salınan 28 aminoasitlik peptid yapıda bir hormondur (56).

Ghrelinin hem insan hem de hayvan kaynaklı modellerinde, çok güçlü bir büyüme hormonu “Growth Hormone (GH)” salgılatıcı etki göstermesinden dolayı; Hint-Avrupa dilleri ailesindeki büyüme anlamına gelen grow sözcüğünün kökü olan “ghre” ile salgılama anlamına gelen “relin” sözcüklerinin birleştirilmesiyle “ghrelin” adı türetilmiştir (56). Ghrelin daha sonraları Wren ve arkadaşları (122) tarafından iştah hormonu (appetite hormone) olarak da isimlendirilmiştir.

Memelilerde ghrelin homologları insan, sıçan (56), köpek, domuz, koyun, sığır, rhesus maymunu (3) ve farelerde de (104) tanımlanarak gösterilmiştir. Yaklaşık 3300 Dalton moleküler ağırlığı olan memeli ghrelinleri birbirine tamamen benzer özellikte değildir. İnsan ghrelini N-terminal ucunda bulunan 3. aminoasit olan serine bağlı oktanyl grubu olarak adlandırılan sekiz karbonlu bir yağ asidi içermektedir. Fare ve sıçan ghrelini de aynı yapıya sahip olup, insanda olduğu gibi 117 aminoasitten meydana gelir. Ancak birbirlerinden sadece iki aminoasit bakımından farklılık gösterirler (66).

Vücutta ghrelin üretimi ile bağlantılı olan iki hücresel alan bulunmaktadır. Birinci hücresel alan oksintik bez (fundusdaki parietal hücreler); diğeri ise nöronal hücre gruplarının sinaptik ileti yoluyla ghrelin salınımı yaptığı santral sinir sistemidir. Ghrelin temel olarak mide fundus mukozasının oksintik bezleri içerisinde bulunan X/A- benzeri hücreler tarafından üretilmektedir (56). Midede bulunan bu X/A hücreleri 1954 yılında Davis (28) tarafından keşfedilmiştir. Bu hücrelerin içinde bulunan granüller ise ghrelinin keşfi gerçekleşene kadar gizemini korumuştur. Kojima ve arkadaşları (56) tarafından sıçanların midesinden büyüme hormonu salgılatıcı özelliğe sahip olan ghrelinin keşfedilmesinden sonra, X/A hücrelerinin içlerindeki granüller, moleküler yöntem ve teknikler kullanılarak açıklanmış ve bu hücrelerin ghrelinin sentezinden sorumlu olduğu tespit edilmiştir.

İnsanlarda dolaşımdaki ghrelin düzeyi gün içerisinde açlık durumunda yükselmekte, tokluk durumunda ise azalmaktadır. Gün içerisinde ghrelin düzeyi gece 2 ile 4 saatleri arasında en yüksek seviyededir (33). Açlık ghrelin seviyesinde artışa neden olmaktadır. Gıda alımını takiben 60-120 dk. içinde ise ghrelin seviyesinde düşme gözlenmektedir (108).

Bütün omurgalı türlerinde ghrelinin esas olarak sentez yeri midedir (59). Ghrelinin mide dokusundan başka, hem insan hem de kemiricilerde hipotalamus, hipofiz, böbrek, karaciğer, pankreas, testis, ovaryum ve plasentada bulunduğu da bildirilmiştir (116,57). Aynı zamanda lateral hipotalamus, arkuat nukleus, ventromediyal nukleus, dorsomediyal nukleus, paraventriküler nukleus ve üçüncü ventrikülün ependimal tabakasında yer alan çekirdekler arası boşlukta ghrelin ekspresyonu gösterilmiştir (72). Ghrelinin kondrositlerde de sentez ve sekresyonunun olduğu ortaya konmuştur (22).

Ghrelin hormonu önemli miktarda böbrek dokularında da tespit edilmiştir. Sıçanların böbrek dokularında pre-proghrelin gen ekspresyonunun olduğu gösterilmiştir (123). Fare böbreğinde de pre-proghrelin gen ekspresyonu glomerüllerde tespit edilmiştir. Sıçan mezangial hücre ve fare podosit hücre kültürlerinde pre-proghrelin gen ekspresyonunun olduğuda ortaya konmuştur. Ayrıca sıçan böbreklerinde ghrelin reseptör geni de ekspre edilmektedir. Bu bulgular ghrelinin lokal olarak böbrekte üretiminin yapıldığını, glomerül ve renal hücrelerin pre-proghrelin geni ekspre ettiklerini açıkça ortaya koymaktadır (75).

2.2.1. Ghrelinin Etkileri

Ghrelinin keşfini takiben yapılan çalışmalar, organizmada birçok sistem üzerine etkili olduğunu göstermiştir. Ghrelinin büyüme hormonu salgılatıcı etkisi, iştah ve yemek yeme üzerine olan etkisi, karbonhidrat metabolizması üzerine olan etkisi, gastrointestinal sistem üzerine etkileri, fizyolojik etkileri, hücre proliferasyonuna etkileri ve reproduktif sistem üzerine olan etkileri yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (24,32,41,49,76).

Ghrelin, tedavi amaçlı olarak büyüme geriliği, kemik erimesi, kalp yetmezliği ve immün sistem baskılanması gibi birçok rahatsızlık durumlarında kullanılabilir (7). Bu etkilerinin yanısıra ghrelin antioksidan bir etkiye sahiptir. Bu antioksidan özelliği ile dokularda oluşabilecek oksidatif stresi ve apoptozisi önlediği gösterilmiştir (26,103). Ayrıca ghrelinin karaciğer ve pankreas dokularını oksidatif hasara karşı koruduğu gösterilmiştir (55).

Ghrelinin büyüme hormonu üzerine etkileri olduğu ve hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda ghrelinin, büyüme hormonu salınımını doza bağımlı olarak arttırdığı bildirilmiştir (6,56,86). Ghrelinin büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) salınımını arttırdığı somatostatin salınımını ise azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca memeliler dışındaki canlılarda da ghrelinin, büyüme hormonu salınımını arttırdığı tespit edilmiştir (54).

2.3. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörleri (İnsülin-Like Growth Factors, IGFs)

Büyüme hormonu tüm yaşam süresince anabolik etki gösteren ve normal büyüme için gerekli olan bir hormondur. Fakat başta kemik, kıkırdak ve iskelet kası olmak üzere büyüme yeteneğinde olan bütün vücut hücrelerini direkt olarak etkilemeyip somatomedin olarak adlandırılan ara madde ile etki göstermektedir (126).

Somatomedin'lerin büyüme üzerine olan birçok etkisi, insülinin büyüme üzerindeki etkilerine benzemektedir. Bu benzerliği nedeni ile de Somatomedinler diye isimlendirildikleri gibi, insülin benzeri büyüme faktörleri olarak da adlandırılırlar (44). İlk olarak 1957'de Salmon ve Daughaday tarafından insülin benzeri büyüme faktörleri sülfasyon faktörü olarak tanımlanmıştır. 1972 tarihinde somatomedin olarak adlandırılmış, 1978'de pro-insüline yapısal benzerlikleri gösterilmesiyle beraber insülin benzeri büyüme faktörleri adı kullanılmaya başlanılmıştır (96).

Dolaşımda bulunan başlıca somatomedinler insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I, Somatomedin-C) ve insülin benzeri büyüme faktörü-II (IGF-II)'dir (39,126). IGF-I yaklaşık 7500 dalton ağırlığına sahip 70 amino asit içeren 3 disülfid bağı ile

bağlı olan bir büyüme faktörüdür. Daha önceden somatomedin C olarak ta isimlendirilen bu polipeptit yapı bakımından proinsüline ve insülin reseptörüne de bağlanma özelliği göstermesiyle de insüline benzer (2,18,126). IGF-I'in amino asit yapısı % 43 oranında insülinin A ve B zincirlerine benzer. Ayrıca IGF-I'de 12 amino asitten oluşan C bölgesi ve 8 amino asitten oluşan bir D bölgesi bulunmaktadır (29).

IGF sistemi; IGF-I, IGF-II, 4 IGF reseptörü (insülin reseptör, Tip-1 IGF reseptörü, mannoz 6-fosfat/ IGF-II reseptörü ve hybrid insülin/IGF-I reseptörü) ve IGF bağlayıcı proteinlerden (IGFBP) meydana gelmektedir (38).

2.3.1. IGF Reseptörleri

IGF'ler de tüm peptit hormonlar ve büyüme faktörleri gibi hücre yüzeyinde bulunan reseptörlere bağlanarak etki ederler. IGF reseptörlerinin sayısı ve eğilimi (affinitesi) çok önemlidir. IGF'lerin etkileri bu eğilim ve sayıya göre artar veya azalır. IGF-I ve insülin kendilerine ait reseptörlerini düzenlerler. Hücreye bağlanarak o hücrenin reseptör sayısını azaltırlar. IGF'ler için tip 1 ve tip 2 IGF reseptörü olmak üzere 2 tip spesifik reseptör gösterilmiştir (29).

Tip 1 IGF reseptörleri yapı bakımından insülin reseptörlerine çok benzerler. IGF-I reseptörü (IGF-IR) tirozin kinaz büyüme faktör reseptörünün bir üyesidir. Yaklaşık olarak 400 kDa molekül ağırlığına sahip ve disülfid köprüsü tarafından 2α (125kDa) ve 2β (90kDa) alt ünitelerini (subunitelerini) bağlayan bir heterodimerden yapılmıştır (39). Reseptörde yer alan alfa alt ünitesi peptit bağlayan yani IGF'lerin bağlanma bölgesi, beta alt ünitesi ise otofosforilize bir tirozinkinazdır (29,79). IGF-II ve insülinin bu reseptör için gösterdiği bağlanma eğilimi IGF-I eğiliminin %1-10'u kadardır (42). Bir proteokinaz olan Tip-1 IGF reseptörü tirozini otofosforilize eder (117). Tip-1 IGF reseptörü, IGF sisteminde büyümenin düzenlenmesinde ve metabolik yanıt için kritik belirleyici role sahip bir reseptördür. Bunun dışında Tip-1 IGF reseptörünün, hücre döngüsünün ilerleyişini, hücre farklılaşmasını ve gelişiminin kontrol edilmesinde koordine edici önemli bir rolü bulunmaktadır (9,77).

Tip-2 IGF reseptörü ise yaklaşık olarak 220 kDa molekül ağırlığında tek zincirden meydana gelen ve alt üniteleri olmayan bir proteindir. Tip-2 IGF reseptörüne insülin bağlanamaz, IGF-I ise çok düşük bir oranda bağlanma gösterir (2,79,124).

2.3.2. IGF'lerin Bağlayıcı Proteinleri (IGFBP)

IGF'lerin biyolojik işlevlerinde önemli bir modülatör niteliğinde olan IGFBP'ler (IGF bağlayıcı proteinler) dolaşımda IGF'leri bir yerden bir yere taşımak ve yarı ömürlerini uzatmak amacıyla kendilerine bağlarlar (2,38). IGFBP'lerin IGF'lere bağlanma eğilimleri ve IGF'lerin salınımı, IGFBP'lerin fosforilasyonu, glikolizasyonu ve spesifik proteolizisi tarafından kontrol edilmesiyle gerçekleşir (2,77).

IGFBP'ler sadece taşıyıcı proteinler olmaktan çok IGF'lerin etkilerini hücresel düzeyde artırıp azaltabilme özelliği gösterirler (19,118). IGFBP-1,2,3,4,5 için hücre yüzeyinde yer alan reseptörler vardır (2). Son yıllarda ise biyolojik sıvılarda IGFBP'lerin bağlanma düzeni, dağılımı ve amino asit kompozisyonuyla farklı moleküler ağırlıklara sahip 8 formu olduğu bildirilmiştir (60).

2.3.3. IGF'lerin Sentezi ve Salınımı

Dolaşımda bulunan IGF'lerin en büyük sentez yerinin, hem lokalizasyonu bakımından hem de boyutu dolayısı ile karaciğer olduğu gösterilmiştir (80). Karaciğerin büyüme hormonunu kandan hızla alması ve hemen cevap vermesi yönünden en önemli organ olmasından ötürü, IGF'ler öncelikle karaciğerde araştırılmıştır. Yapılan birçok organ perfüzyon deneylerinde karaciğerde IGF sentezi gösterilmiş fakat tam olarak karaciğerin hangi hücrelerinin bu sentezi gerçekleştirdiği bilinmemektedir. Karaciğerde yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda hepatositler ve perisinüzoid hücreler üzerine ağırlık verilmiştir. Karaciğerde perisinüzoidal hücrelerin asıl sentez hücreleri olduğu, hepatositlerde ise IGF'lerin son yapısal şekline ulaştığı düşünülmektedir. Başka bir görüşe göre de her iki

hücrede de IGF sentezinin gerçekleştiği ve hepatik sinüsler aracılığı ile de kan dolaşımına geçtiği öne sürülmektedir. IGF'lerin karaciğer dışında da pek çok dokuda sentezinin yapıldığı gösterilmiştir. Fötal akciğerde, böbrekte, beyinde, barsakta, kalpte ve fibroblast hücrelerinde de IGF sentezlendiği ortaya konulmuştur (37,73).

IGF-I oluşumu fütüste başlayan ve bir ömür boyu devam eden bir süreçtir (126). IGF-I sentez ve sekresyonu karaciğerde büyüme hormonuna bağlı olarak gerçekleşir (71,124). Ayrıca IGF-I büyüme hormonuna ilave olarak diğer spesifik dokular tarafından da salınıp düzenlenmektedir (71).

IGF'lerin salınımına büyüme hormonunun dışında çeşitli faktörler de etkilemektedir (39). Bu faktörlerden biri IGF-I oluşumu için gerekli ve önemli olan normal beslenmedir. Nitekim, açlık halinde IGF-I oluşumunda azalma olur. Glikokortikoidler ve protein yetersizlikleri halinde IGF-I oluşumunda önemli ölçüde aksama meydana gelir ve buna bağlı olarak da plazmadaki IGF-I salınımı azalır. Şekillenen bu durum insülin tedavisiyle normale döner (39,126). Ayrıca yüksek miktarda östrojen de IGF-I sentezini inhibe etmektedir (126).

2.3.4. IGF'lerin Etki Mekanizması ve Dokular Üzerine Etkileri

Büyüme hormonunun dokular üzerine doğrudan etki etmesiyle büyümeyi sağladığı düşünülürken bugün ise bu etkisini IGF'ler (özellikle IGF-I) yoluyla gerçekleştirdiği anlaşılmıştır (39). Bebeklerde ve çocuklarda büyüme hormonu sistemik ve lokal IGF-I üretimi aracılığı ile büyümenin başlıca düzenleyicisidir (74). IGF'lerin doğumdan sonraki dönemde en büyük düzenleyicisi büyüme hormonudur (18). IGF'lerin postnatal dönemde karaciğerde sentezi yapılır ve hemen ardından kan dolaşımına geçerler. Büyüme hormonu uygulamalarının 4-6 saat içinde IGF-I serum seviyelerinde bir yükselme meydana getirdiği görülür. IGF-I'in negatif geri bildirim (negative feed back) yolu ile hipotalamik somastostatin salınımını veya hipofizde büyüme hormonunu uyaran hormonun etkisini bloke ederek, büyüme hormonunun salınımını inhibe ettiği rapor edilmiştir (98). IGF'lerin fizyolojik bakımdan lokal üretimleri de önemlidir. Dolaşımda bulunan IGF'ler endokrin bir etki ortaya koyarken lokal olarak üretilenler ise otokrin veya parakrin etki gösterirler (42).

IGF'ler etkilerini spesifik reseptörlere bağlanarak gösterirler. IGF-I primer etkisini farklı birçok dokuda ve çeşitli hücreler üzerinde yer alan spesifik IGF reseptörleri aracılığı ile gerçekleştirir (17,88).

Kas, kıkırdak, kemik, böbrekler, akciğerler, deri ve sinirleri de içeren vücutta bulunan neredeyse tüm hücreler IGF-I tarafından etkilenir. IGF-I insülin benzeri etki göstermenin yanında hücre büyümesi ve çoğalmasını da uyarır (17,88). Ayrıca IGF-I'in kalp hastalığı ve çeşitli metabolik düzensizliklere bağlı etmenleri düzenlediği ortaya konmuştur. Fazla miktardaki IGF-I'in kontraktıl kardiyak fonksiyonu, büyüme ve anti-apoptosizi doğrudan etkileyebildiği bildirilmiştir (95). Normal ve diabetik rat ve insanlarda, IGF-I'in insülin gibi bir etki yaparak vücut glukoz oranlarını ayarladığı ve plazma glukoz değerlerini düşürdüğü rapor edilmiştir (90). Bunun dışında IGF'lerin yağ dokusunda lipolizi inhibe etmesiyle insüline benzer etkilerinin bulunduğu ancak insülinin 1/16'sı kadar etkili olabildiği ortaya konmuştur (42). Karaciğerde siroza neden olan serbest oksijen radikallerinden hidroksil radikali, aynı zamanda hücrelerin membranlarında lipid peroksidasyonuna ve DNA zararlarına neden olmaktadır. IGF-I'in bu serbest radikalın zararlı etkilerine karşı tedavi edici etkisinin olduğu ve bir antioksidan gibi etki ettiği görülmüştür (40). Memeliler üzerinde yapılan çalışmalarda, reproduktif organların fonksiyon ve gelişimleri üzerinde IGF sisteminin çok önemli bir rol oynadığı rapor edilmiştir (38). Aynı zamanda IGF'ler tiroid folliküler hücre proliferasyonunda Tiroid Stimulan Hormon (TSH) ile sinerjik bir etki göstermektedir. Bunun dışında IGF'lerin, kıkırdak dokuda DNA, RNA, protein, kollagen ve proteoglikan sentezini stimule ettiği, vitamin D ve kemikler üzerindeki büyüme hormonunun uyarıcı etkisine yardımcı olduğu ve yara iyileşmelerinde de önemli rol oynadığı rapor edilmiştir (42).

2.3.5. IGF-I ile Ghrelin Arasındaki İlişki

Ghrelinin, büyüme hormonu ve insülin döngüsündeki rolü açısından bakıldığında sadece insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I) ile ghrelin arasında bir ilişki bulunduğu ortaya koyulmuştur (100). IGF-I düzeyleri de aynı ghrelin düzeyleri gibi erişkin döneme yaklaştıkça azalmakta, büyüme hormonundan bağımsız bir şekilde beslenmeden etkilenmekte ve ayrıca intrauterin büyüme geriliği durumunda da düzeylerinde artış olmaktadır (9,65). Ghrelin için en önemli belirleyicilerin IGF-I ve bağlayıcı protein ailesinden olan insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-I (IGFBP-I) olduğu bulunmuştur (120). Ghrelin ve insülin benzeri büyüme faktörü-I arasında negatif ilişki olması ghrelinin GH-IGF döngüsünde veya periferik IGF-I üzerinde inhibitör etkileri olduğu düşüncesini oluşturmaktadır (52).

Ghrelinin, büyümeyi direkt olarak uyaran bir hormon olmadığı düşünülmektedir. IGFBP-I seviyelerinin düzenlenmesi insülin tarafından yapılmaktadır. İnsülin düzeyleri yükseldiği zaman IGFBP-I düzeylerinde azalma olmaktadır. Ghrelin ile IGFBP-I arasında pozitif bir ilişkinin olması ghrelinin insülin düzeyleri üzerine baskılayıcı etkileri olmasından dolayı ortaya çıkabilir (100). Bütün bu bulgulara bağlı olarak ta ghrelin, IGFBP-I ve insülin arasında dinamik bir etkileşim olduğu düşüncesi oluşmaktadır. Bu aralarında oluşan etkileşimler IGF-I ve glukozun doku düzeyinde kullanımını da etkileyebilir. Ghrelinin her öğün öncesi yükselme gösterip daha sonra düşmesi IGFBP-I için de geçerli iken bu durumun tersi ise insülin hormonu için geçerlidir. Buna bağlı olarak ta yüksek ghrelin düzeylerinde IGFBP-I'de artma, IGF-I'de ise azalma olmaktadır. IGF-I bu durumdan, doku düzeyindeki kullanımında azalma olması şeklinde etkilenmektedir. Ghrelin düzeylerinin yaşla beraber özellikle puberte dönemine yaklaştıkça azalması, IGF-I düzeylerinin artmasına sebep olmakta, böylece büyüme hızlanmaktadır (120). Bütün bu bulgular ghrelinin doğrudan büyümeyi uyaran bir hormon olmadığı, ancak IGF üzerine etkileri olması ile ikincil olarak özellikle puberte döneminde büyümeyi hızlandırdığı düşüncesini şekillendirmektedir (120).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda ghrelinin anti-apoptotik etkileri rapor edilmiş ve ghrelinin sitotoksik ajanların toksik etkilerini azaltabileceği öne sürülmüştür (26,67). Takeda ve arkadaşları (103) iskemi sonucu meydana gelen akut

böbrek yetmezliğinde ghrelinin IGF-I aracılığı ile böbrek fonksiyonlarında düzelme sağladığını göstermişlerdir. Chung ve arkadaşları (26) ise, ghrelinin iskemi sırasında sitokrom c ve caspaz 3 salınımını baskılayarak, apoptotik yolağı inhibe ettiğini ve böylece de apoptozisi durdurarak beyin dokusunu hasardan koruduğunu ortaya koymuşlardır. Aynı zamanda ghrelinin iskemi reperfüzyon sonrası meydana gelen hasardan mideyi ve kalbi koruduğunu ortaya koyan çalışmalar da bulunmaktadır (15,25). Bu çalışmaların çok büyük bir kısmı iskemiye takiben şekillenen oksidatif stres sonrasında çeşitli dokularda hasar meydana geldiğini, antioksidan etkinliğe sahip olan ghrelinin bu durumu tersine çevirdiğini ifade etmektedir (106).

2.4. Melatonin ve IGF-I İlişkisi

Melatonin hücrenin hayatta kalması ve büyümesi için gerekli olan önemli sinyal yollarının aktivasyonuna aracılık ederek insülin benzeri büyüme faktörü reseptörü (IGF-R) ve insülin reseptör tirozin fosforilasyonuna neden olur. Ayrıca melatoninin önemli bir büyüme faktörü olan IGF-I üzerindeki etkilerini gösteren birçok çalışma vardır (83,89,114).

Ratların pankreas dokusunda yapılan bir çalışmada melatoninin IGF-I ve insülin reseptör sinyalizasyon yollarını aktive ederek pankreas adacıklarının büyüme ve farklılaşmasını düzenleyebildiği bildirilmiştir (89).

Ratlarda uzun süreli melatonin uygulaması ve pinealektominin GH-IGF-I aksındaki fonksiyonuna etkisi üzerine yapılan bir çalışmada melatoninin IGF-I'in sentez ve sekresyonlarında dikkate alınması gereken sonuçlar verdiği bildirilmiştir (83). Yapılan başka bir çalışmada indirekt olarak büyüme hormonu konsantrasyonlarında değişikliklere neden olan melatoninin IGF-I üretimini etkileyebileceği bildirilmiştir (114).

Kısırlaştırılmış ratlarda kas atrofi oranının artışı önlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, melatonin ve testosteron uygulanan kısır ratlarda, IGF-I salınımının arttığı ve kas atrofisinin önlendiği, melatonin ve testosteron uygulanmayan grupta ise kas dejenerasyonlarına bağlı olarak modifikasyonlar görüldüğü bildirilmiştir (82).

Melatoninin büyüme üzerinde de önemli etkileri vardır. Yapılan bir çalışmada melatoninin büyüme hormonu sekresyonunu diğer büyüme hormonu salgılatıcı hormonlara göre daha hızlı stimüle ettiği bildirilmiştir. Bu çalışma ile melatoninin modüle ettiği büyüme hormonu sekresyonunun nöroendokrin mekanizması araştırılarak, oral alınan melatoninin büyüme hormonu üzerine GHRH denetimi ile etkisi incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda ise oral melatonin alınmasıyla birlikte sağlıklı bireylerde büyüme hormonu seviyesinin arttığı belirlenmiştir (110).

2.5. Melatonin ve Ghrelin İlişkisi

Melatoninin ghrelin üzerindeki etkilerine yönelik çalışmalar da yapılmıştır (23,78). Canpolat ve arkadaşları (23) yaptıkları bir çalışmada eksojen olarak melatonin uygulanan ve pinealektomi yapılan ratların arkuat nukleuslarındaki ghrelinin immunohistokimyasal olarak dağılımlarını ve ghrelin serum düzeylerini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda melatoninin hem ghrelin sentezinde artışa hem de leptin üretiminde azalmaya sebep olarak puberte başlangıcında baskılayıcı etkiye sahip olabileceği bildirilmiştir (23).

Ratlarda melatonin tedavisinin ghrelin düzeyleri üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada melatoninin ghrelin üretimini baskılayarak dolaşımdaki ghrelin seviyelerini azalttığı ve buna bağlı olarak da beyinde ghrelin sentezinin düzenlenmesinde bir etken olduğu bildirilmiştir (78).

2.6. Karaciğer

Karaciğer safra yapımı, metabolizma sonucu şekillenen artıkların dışarı verilmesi, glikojen, yağ, A ve B vitaminlerinin depolanması, sentez yapma, detoksifikasyon, fagositoz, esterleştirme ve embriyolarda kan yapımı gibi çok önemli görevleri olan organizmadaki en büyük bezdir (36,45).

Karaciğer, kollagen ve elastik iplikler içeren Glisson kapsülü adı verilen bağ dokudan bir kapsülle sarıdır. Glisson kapsülünü dıştan peritonun viseral yaprağı sarar. Bağ doku, organın içerisine kadar girerek karaciğeri loplara ve lopçuklara ayırır. Karaciğer lopçukları, yapısal ve fonksiyonel özellikleri ile kanın ve safranın akış yönü göz önünde bulundurularak üç farklı şekilde incelenmektedir (36,45).

➤ **Klasik hepatik lopçuk:**

Hepatosit olarak isimlendirilen karaciğer epitel hücrelerinin anastomozlaşarak oluşturduğu kordonların ve bu kordonların aralarında bulunan sinüzoidlerin, merkezi bir vena (vena sentralis) çevresinde, radyer bir şekilde yerleşmesi sonucu meydana gelen lopçuktur (45). Kan akışı klasik lopçuğun periferinden merkezinde bulunan vena sentralise doğrudur (45,53).

➤ **Portal lopçuk:**

Bu tip lopçuk şeklinde, karaciğer üçlüsünün yer aldığı alan merkez kabul edilir. Üçgen biçiminde görülen portal lopçuğun köşelerini, komşu olan üç klasik lopçuğa ait vena sentralisler meydana getirir. Karaciğer epitel hücrelerinde yapılan safra portal lopçuğun merkezine doğru akar (45,53).

➤ **Karaciğer asinusları:**

Asinusların sınırlarını arteria hepaticanın terminal kolları belirler. Arteriyel kanın sinüzoidlerden akışı esnasında taşıdığı oksijen ve besinlerin miktarı ile hepatositlerdeki metabolizma fonksiyonlarına göre asinuslarda üç bölge ayırt edilir. Birincisi; klasik lopçuğun en dışındaki bölge, ikincisi; kanda bulunan oksijen ve besin maddeleri miktarının orta derecede bulunduğu orta bölgedir. Üçüncü bölge ise vena sentralisi saran ve oksijen yönünden en fakir olan bölgedir (45,105).

Karaciğer kan dolaşımı yönünden özellikleri olan bir organdır (105). Karaciğere pankreas, dalak ve sindirim sisteminin sindirim bölümünden gelen vena porta (fonksiyonel damar) ve oksijeni taşıyan arteriya hepatica (besleyici damar) ile lopçuklara gelen kan sinüzoidlere açılır (45,53,105). Birbirleriyle kesişerek ışımsal bir biçimde uzanan sinüzoidler taşıdıkları kanı vena sentralise sevkederler. Vena sentralisler lopçukların uzunluğuna ekseni doğrultusunda uzanırlar. Lopçukları, bir uçlarından terkeden vena sentralisler birbirleriyle birleşerek sublobular venaları meydana getirirler. Sublobular venaların birleşmesiyle de vena hepaticalar oluşur ve bunlar da karaciğerin diyaframa bakan yüzünden vena kava kaudalise açılırlar (53,105).

➤ **Hepatositler:**

Hepatositler endokrin ve ekzokrin fonksiyonları olan, karaciğerin asıl yapısını oluşturan epitel hücreleridir (45,53). Çok yüzlü olan bu karaciğer epitel hücrelerinin lopçukların periferinde ve merkezinde yerleşenler arasında ince yapı ve büyüklük yönünden farklılıklar vardır. Yüksek metabolik aktiviteye sahip olan hepatositlerin amitotik yolla şekillenen çift çekirdekli tiplerine de sıkça rastlanır (105). Karaciğer lobülü içerisindeki bu hepatositler labirent ve süngersi bir yapı oluşturacak biçimde anastomozlaşarak lopçuğun periferinden merkezine doğru olmak üzere ışımsal bir şekilde dizilerek hücre kordonları meydana getirirler. Bu iki sıralı karaciğer epitel hücrelerinin oluşturduğu kordonlar remark kordonları olarak adlandırılır (45,53,105). Kordonlar arasında kalan boşluklar kapillerler içerir. Pencereci bir endotel hücre tabakasından oluşan düzensiz olarak genişlemiş bu damarlara karaciğer sinüzoidleri adı verilir (105). Hepatositler ile sinüzoidler arasında Disse aralığı denilen perisinüzoidal boşluk bulunur. Hepatositlerin bu boşluğa bakan yüzündeki mikrovilluslar bu aralığa girer, kan plazması da sinüzoidlerden bu aralığa geçer. Böylece Disse aralığı, kan ile hepatositler arasında madde alışverişine olanak sağlar. Ayrıca sinüzoid duvarındaki endotel hücreleri arasında Kupffer hücreleri olarak adlandırılan fagositoz yapan hücreler bulunur (45,53).

Karaciğerde hepatositlerden başka lopçuklar arasında Kiernan aralığı veya Glisson üçgeni olarak adlandırılan dar ya da geniş bağ doku alanları vardır. Bu bölge içerisinde karaciğer üçlüsü (trias hepatis) denilen yapılar bulunmaktadır. Karaciğer

üçlüsünü; safra kanalı (duktus biliferus), hepatik arter (arteria hepatica) ve hepatik portal ven (vena interlobularis) oluşturmaktadır. Bağ dokusuyla sınırlanmış bu yapıların dışında sinirler ve küçük lenfatik damarlar da bulunmaktadır (10,45,53,105).

2.7. Böbrek

Üriner sistem, iki böbrek, iki ureter, idrar kesesi ve uretradan oluşur. Böbrekler kanın süzme işini gerçekleştirerek idrarı oluştururlar. Böbreklerde oluşan idrar ureterler yoluyla idrar kesesinde toplanarak uretra ile dışarı atılır (53,127).

Böbreklerin sağlık ve yaşam için gerekli olan salgılama, homeostaz ve endokrin gibi çok önemli fonksiyonları vardır. Organizmada hassas filtre görevi yapan böbrekler kandaki metabolizma artıklarını (üre ve diğer azotlu maddeleri) temizler, vücudun sıvı ve elektrolit dengesini ayarlar. Böbrekler indirekt olarak kan basıncını arttıran ve proteolitik bir enzim olan reninin kan dolaşımına verilmesini, ayrıca böbreklerde eritropoiesisi hızlandıran eritropoietin yapımını sağlayarak endokrin fonksiyonunu gerçekleştirmektedir (127).

Sağlı sollu olarak karın boşluğunun arka bölgesinde yerleşmiş bulunan böbrekler başlıca kollagen fibrillerden ve çok az düz kastan oluşmuş bağ dokudan fibröz bir kapsülle sarılıdır (105,127). Bu fibröz kapsül böbreğin medial yüzünde bir çöküntü şeklinde bulunan sinirlerin girdiği, arter, vena ve lenf damarlarının girip çıktığı ve ureterin çıktığı hilus (göbek) adı verilen iç bükey kısmından organın iç kısmına kadar girer (53,105,127).

Tüm bu bağ dokulu kısımlar böbreğin intersitisyumunu oluştururken intersitisyumun içinde barındırdığı bölümler ise böbreğin parenşim ünitelerini oluşturur. Bu parenşim üniteleri ve stroma, kendine özgü bir dağılım gösterir. Buna göre böbrek dokusunda korteks ve medulla olmak üzere iki bölge ayırt edilir. Korteks içerdiği yapıların iyi boyanmasına bağlı olarak koyu renkli, medulla ise yine içerdiği birbirine paralel şekilde uzanan kanallardan ötürü çizgili ve bunların soluk boyanmasından ötürü de açık renkli görülür (105).

Böbrek parenşimini meydana getiren idrar tubulleri idrarı oluşturan en küçük üniteler olan nefron ve burada üretilen idrarı toplayarak böbrek pelvisine ileten borucuklar olan toplayıcı borucuklar olmak üzere iki farklı kısımdan meydana gelmektedir (53,105.127).

2.7.1. Nefron

Nefron, böbrek cisimciği (korpuskulus renalis, Malpighi cisimciği) ve böbrek tubulu olmak üzere iki bölümden meydana gelmektedir (127).

a) Böbrek cisimciği:

Malpighi cisimciği veya korpuskulus renalisde denilen böbrek cisimciği böbreğin korteksinde bulunan nefronun ilk bölümüdür. Korpuskulus renalis glomerulus ve Bowman kapsülü oluşturmaktadır (105,127). Korpuskulus renalisin glomerulusu şekillendiren afferent ve efferent arteriyollerin bulunduğu kısmı olan damar kutbu ile onun tam karşısında yer alan ve süzülen sıvıyı ileten proksimal kıvrımlı tubullerin başlangıç kısmı olan bir idrar kutbu vardır (53,105).

➤ Glomerulus

Glomerulus kapillar ağ ve bu ağlar arasında yer alarak glomerulusun temel yapısını oluşturan, mezenter benzer yapıdaki bağ dokusu olan mezangiyumdan oluşur (127). Glomerulus böbrek lopçukları arasında uzanan Arteria interlobularisin korteks içinde sağlı sollu kollar vermesiyle şekillenmeye başlar. Bu kolların her biri afferent arteriyol olarak bu oluşumun başlangıcını meydana getirir. Afferent arteriyoller de dallanarak özel bir arteriyel kapillara dönüşür ve bu kapillar birkaç kez kendi üzerinde kıvrılarak ve anastomozlar da yaparak kapillar bir yumak (glomerulus) şekillendirir (105). Sonrasında bu kapillar yumak tekrar arteriyole dönüşerek lümeni afferent arteriyole göre daha dar tek bir damar halinde efferent arteriyol olarak çıkar (105,127). Afferent ve efferent arteriyolun glomerulusa giriş ve çıkış noktalarının birbirine yakın olmasından ötürü bu bölgeye korpuskulus renalisin damar kutbu adı verilir (127).

➤ **Bowman kapsülü**

Glomerulusu saran bowman kapsülü epitel hücrelerin oluşturduğu visseral (iç yaprak) ve pariyetal (dış yaprak) yapraklardan meydana gelir (105,127). Bowman kapsülünün visseral yağrağı kılcal damarları (kapillar yumağı) saran ve bu kılcallar üzerine oturan uzunca ayak biçimindeki sitoplazma uzantılarına sahip podosit adı verilen hücrelerden oluşur (105). Kapsülün pariyetal yaprağını ise tek katlı yassı epitel hücreleri oluşturur (105,127). Bowman kapsülünün iki yaprağı arasında kapillar yumaktan ve visseral tabakadan süzülen sıvının podositler arasındaki açıklıklardan ya da mikrotubuluslar aracılığıyla geçtiği bowman aralığı (kavum glomeruli) adı verilen bir boşluk vardır (53,105,127).

b) Böbrek tubulleri

➤ **Tubulus proksimalis**

Bowman kapsülünün idrar kutbundan çıkan ilk kanal olan tubulus proksimalis pariyetal yaprağın devamı şeklindedir (53,105). Tubulus proksimalis bowman aralığına geçen ultrafiltratın geri emilimin en fazla olduğu bölümdür (105,127). Tubulus proksimalis asit boyalarla koyu boyanan kübik ya da basık prizmatik epitele sahip olup bu epitellerin apikal yüzleri emilim yüzeyinin çok genişlemesini sağlayan mikrovilluslarla kaplıdır (105). Tubulus proksimalis'de özellikle su, glikoz, küçük moleküllü proteinler ve bazı iyonların geri emilimi gerçekleşir (105,127).

➤ **Henle Kulpu**

Primer idrarın hipertonic durumdaki sekonder (son) idrara dönüşmesini sağlamakla görevli, yoğunlaştırıcı kısım olan henle kulpu inen ve çıkan henle olmak üzere iki bölüme ayrılır. İnen henle tubulus proksimalisin düz parçasından sonra devam eden ve medullada bulunan çapı en dar olan böbrek tubulüdür. İnen henlenin duvarı yassı hücrelerden oluşur ve bu hücrelerin çekirdekleri lümene doğru şişkince olup, kapillar damarlar ile karıştırılabilir (53,105). Henle kulpunun bu bölümü suya geçirgen bir özellik gösterirken iyonlara karşı geçirgen değildir. Henle kulpunun çıkan henle bölümü ise suya geçirgen değilken, tuz ve üre gibi suda erimiş maddeler için geçirgendir. Çıkan henle medullada bulunur ve hücre sınırları belirgin olmayan kübik epitele sahip olup, sitoplazması asit boyalarla koyu boyanır (105).

➤ **Tubulus Distalis**

Böbreğin korteks kısmında bulunan tubulus distalis çıkan henlenin devamı şeklinde olup düz ve kıvrımlı bir parçadan oluşur. Sitoplazmaları asidik boyalarla açık renkte boyanan ve belirgin, düzenli bir fırçamsı kenara sahip olmamalarından ötürü lümenleri tubulus proksimalise göre daha geniş olan tubullerdir (53,105). Tubulus distalisde hormonal kontrol yolu ile aldosteron ve antidiüretik hormonunun etkisiyle Na, K, Cl ve suyun emilimi ayarlanır (105). Tubulus distalis glomerulusa geldiği zaman afferent arteriyole komşu olan tarafındaki duvarın epitel hücreleri sıkışık, yüksek prizmatik bir hal alır ve tubulusun lumenine doğru uzanan bir plak şekillendirir. Makula densa olarak adlandırılan bu oluşum, afferent arteriyolden geçen kan miktarını düzenler (53,105,127).

2.7.2. Toplayıcı Borucuklar

➤ **Tubulus Konnektivus**

Tubulus konnektivuslar, boşaltıcı kanal sisteminin başlangıcını oluşturan tubulus distalislerden sonra gelen kısa bağlantı kollarıdır. Korteks-medulla sınırında uzanmış olan sınırları çok belirgin, sitoplazmaları iyi boyanmayan kübik hücrelerden oluşan bu tubuller birleşerek toplayıcı borucukları meydana getirir (105,127).

➤ **Tubulus Kollektivus**

Bu tubuller tubulus konnektivuslardan sonra gelen borucuklar olup, medullanın kortekse komşu olan bölümünden, medullar radyuslardan başlarlar. Tubulus kollektivuslar soluk sitoplazmalı, sınırları çok belirgin ve başlangıçta basık prizmatik olan pelvis renalise doğru gidildikçe yüksek prizmatik bir şekil alan hücrelerden meydana gelir (53,105).

➤ **Duktus Papillaris**

Tubulus kollektivusların birleşmesiyle meydana gelen bu tubul tek katlı çok yüksek prizmatik hücrelerden oluşur. İçerisinde son idrarı bulunduran duktus papillaris pelvis renalise açılır (105).

3. MATERİYAL ve METOT

Yapılan bu çalışmaya başlamadan önce Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (Tarih: 20.01.2012, karar no: 02 ve araştırma kodu: KAÜ-HADYEK/2011-45). Yapılan çalışmanın tüm deneysel uygulamaları Kafkas Üniversitesi (KAÜ) Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. MATERİYAL

3.1.1. Deney Hayvanı Materyali

Çalışmada kullanılan deney hayvanları Erzurum Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğünden temin edilen ratlardan oluşmaktadır. Yapılan çalışmada ortalama 10-12 haftalık olan 30 adet erkek Sprague Dawley ratlar kullanılmış olup çalışma boyunca bu hayvanların standart rat yemi (Erzurum Bayramoğlu Yem Fabrikası A.Ş.'den temin edilen) ile beslenmesi sağlanırken su alımı da serbest bırakılmıştır. Ratlar 1 haftalık bir adaptasyon sürecinden sonra 3 gruba ayrılarak 12 saat karanlık, 12 saat ışık ortamının sağlandığı, oda sıcaklığının 22 ± 2 °C olduğu standart ortamda ve standart kafeslerde barındırılmıştır. Deney grupları ve bu gruplara göre yapılan deneysel uygulamalar Tablo1'de gösterilmiştir.

3.1.2. Melatonin

Deneme grubuna uygulanan melatonin (Sigma-M5250) soğuk zincir altında getirildikten sonra çalışmada kullanıldığı gün süresince -20 °C'de saklanmıştır.

3.2. METOT

3.2.1. Melatonin uygulanması

Tablo 3.1. Deney grupları ve deneysel uygulamalar

Deney Grupları	Denek Sayısı	Deneysel Uygulamalar
Deneme Grubu	10	Etanolde çözdürölüp serum fizyolojikle sulandırılmış olan 10 mg/kg (5,97,113) dozdaki melatonin 21 gün süre ile intraperitoneal yolla günlük olarak enjekte edildi.
Sham Grubu	10	21 gün süre ile her gün deneme grubuna uygulanan miktarda etanol ve serum fizyolojik intraperitoneal yol ile uygulandı.
Kontrol Grubu	10	Hiçbir uygulama yapılmadı.

3.2.2. Canlı Ağırlık Ölçümü

Yapılan bu deneysel çalışmada deneye ilk başlangıç zamanı “0” kabul edilerek 21 günlük süreç boyunca deneme, sham ve kontrol gruplarında kullanılan bütün ratların her birisinin canlı ağırlıkları 8 saatlik açlık sonrası sabah saatlerinde her gün hassas dijital terazide tartıldı.

3.2.3. Karaciğer ve Böbrek Doku Örneklerinin Alınması

21 günlük (üç hafta) deneysel uygulama süresinin sonunda canlı ağırlıkları ölçüldükten sonra eter anestezisi altında, servikal dislokasyon ile ötenazi yapılarak ratların karaciğer ve böbrek dokuları alındı. İstatistiksel analizlerde kullanılmak amacıyla alınan böbrekler sağ ve sol olarak ayrı ayrı karaciğer ise bir bütün olarak hassas terazide tartıldı. Histolojik ve immunohistokimyasal incelemelerde

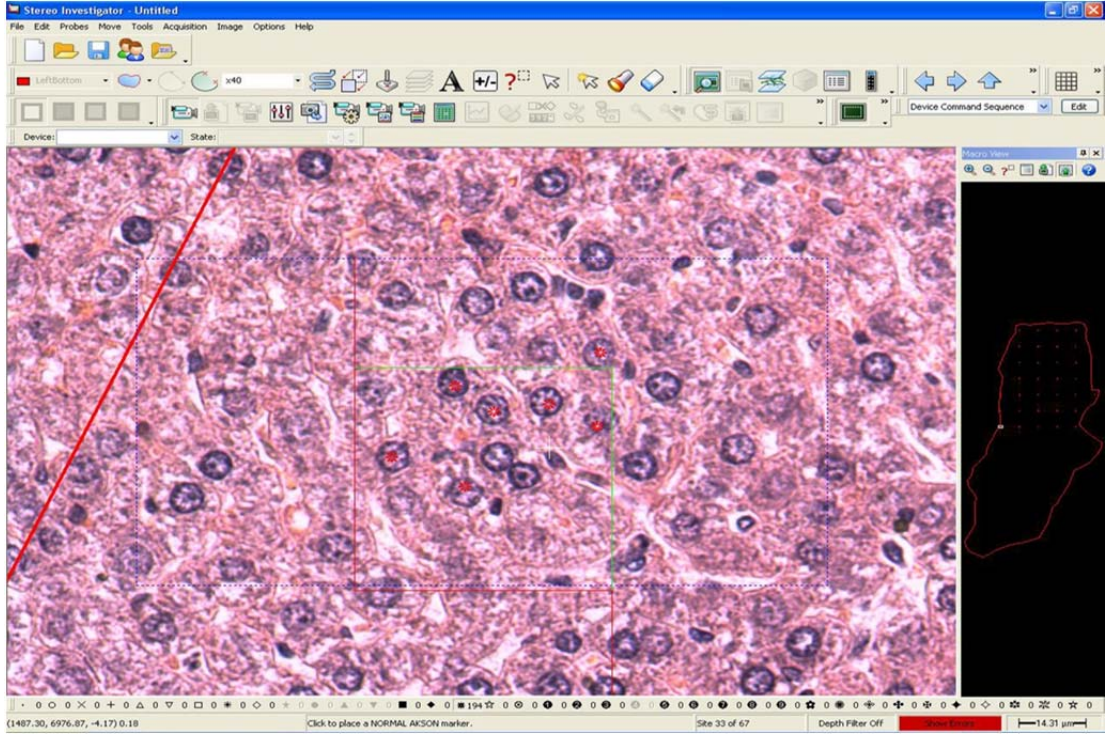
kullanılmak üzere karaciğer doku örnekleri Formol Salinde, böbrekler ise Bouin solüsyonunda tespit edildi. Dokular tespit edildikten sonra dereceli alkol serilerinden, metil benzoat ve benzollerden geçirilerek parafinde bloklandı.

3.2.4. Histolojik İncelemeler

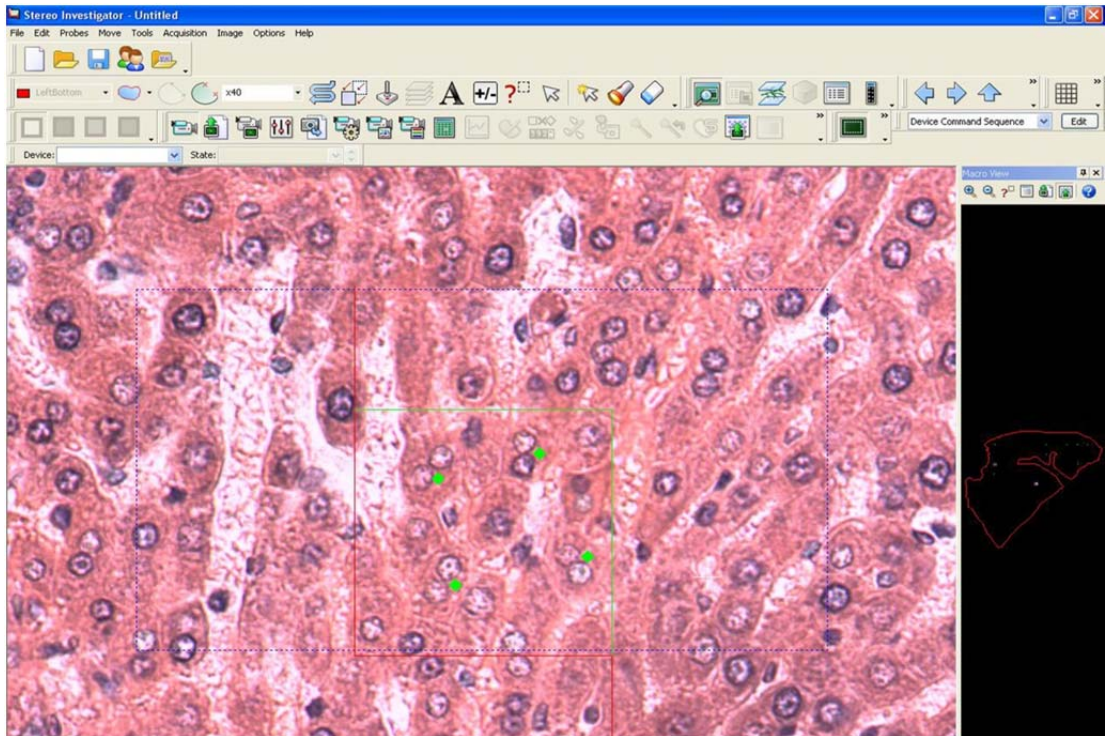
Histolojik değerlendirmeler amacıyla alınan doku örnekleri Bouin ve Formol-Salin solüsyonlarında tespit edildi. Kullanılan tespit solüsyonlarına uygun olarak rutin işlemlerden geçirildikten sonra parafinde bloklandı. Krom alum jelatinle kaplanmış lamlara parafin bloklarından 5 mikrometre (μm) kalınlığında kesitler alındı. Karaciğer ve böbreğin histolojik olarak yapısını incelemek amacıyla alınan kesitlere Crossmanın üçlü boyaması (Triple boyama), Hematoksilen-Eosin (H&E) ve periyodik asit Shiff (PAS) boyamaları uygulandı (69).

3.2.5. Histometrik İncelemeler

Histometrik incelemeler için Stereo Investigator adlı bilgisayar programı kullanıldı. Gruplar arasında, karaciğer dokusundaki aynı bölgede tek çekirdekli ve çift çekirdekli hepatositlerin sayımını tespit etmek amacıyla 40'lık büyütmede, bir sayım alanının değeri $3025 \mu\text{m}^2$ olacak şekilde 50 alan olmak üzere her üç grubun her bir rata ait doku örneklerinde toplamda $151250 \mu\text{m}^2$ 'lik bir alanda sayım yapıldı. Gruplara ait doku kesitlerinde yapılan tek çekirdekli ve çift çekirdekli hepatosit sayımının sonunda veriler istatistiksel olarak analiz edilerek değerlendirildi.



Resim 3.1. Karaciğerdeki tek çekirdekli hepatosit sayımının program üzerinde gösterimi.



Resim 3.2. Karaciğerdeki çift çekirdekli hepatosit sayımının program üzerinde gösterimi.

3.2.6. İmmunohistokimyasal İncelemeler

Karaciğer ve böbrek dokularında IGF-I ve ghrelinin immunohistokimyasal lokalizasyonunu incelemek için Avidin-Biotin-Peroksidaz Kompleks (ABC) tekniği (50) uygulandı. Krom alüm jelatin ile kaplanmış lamlara, parafin bloklarından 5 mikrometre (μm) kalınlığında seri kesitler alındı. Alınan kesitler deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden geçirildikten sonra fosfat buffered salin (PBS)'de çalkalanarak endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için %3 lük H_2O_2 (0,1 M'lık PBS'te hazırlanmış)'de 15 dk. inkube edildi. PBS ile yıkandıktan sonra (3x5 dk.) antijenleri açığa çıkarmak için 10 dk. mikrodalga fırın ile ısı uygulaması yapıldı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra (3x5 dk.) spesifik olmayan bağlanmaları engellemek amacıyla sekonder antikorun üretildiği türe uygun (Ultra V Blok) serumda (%10) 10 dk. inkube edildi. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kesitler oda sıcaklığında 1 saat süreyle anti IGF-I antikoruna (Bioss bs-0014R) (karaciğer için; 1:50, böbrek için; 1:125 dilüsyon oranında) ve anti Ghrelin antikoruna (Phonex H-031-31) (karaciğer için; 1:1000, böbrek için; 1:400 dilüsyon oranında) inkube edildi. İnkubasyonun ardından yine PBS'de yıkandıktan (3x5 dk.) sonra kesitlere primer antikorun üretildiği türe karşı olan biotinlenmiş sekonder antikor (Ultravision Detection system Anti-Rabbit, Biotinylated Goat Anti-Rabbit, Histostain-Plus Bulk Kit-85-9043) uygulanarak 30 dk. oda ısısında tutuldu. Fosfat buffer salinde yıkandıktan (3x5 dk.) sonra kesitlere streptavidin horse radish peroksidaz ilave edilip oda ısısında 30 dk. süre ile bekletildi. Tekrar PBS ile yıkandıktan (3x5 dk) sonra kromojen olarak DAB (Diaminobenzidin) kullanıldı. Kesitlerin üzerine kromojen solüsyonu eklendikten sonra ışık mikroskopunda kontrol edilerek immunoreaktivitenin durumuna göre reaksiyon PBS ile durduruldu. Distile su ile yıkandıktan sonra zıt boyama için hematoksilin yapıldı. Ardından rutin histolojik işlemlerden (dehidrasyon, saydamlaştırma) geçirildikten sonra dokular üzerine entallen damlatılıp lamelle kapatıldı. Hazırlanan preparatlar BX-051 Olympus (JAPAN) marka araştırma mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekildi. Hücrelerdeki IGF-I ve ghrelin immunoreaktivitesi, renklerin koyuluk derecesine göre, birbiriyle mukayese edilerek belirlendi. Derecelendirmede kullanılan semboller Tablo 3.2'de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Dokulardaki IGF-I ve ghrelin immunoreaktivitesinin derecelendirilmesi

Dokudaki Reaksiyon Yoğunluğu	Semboller
Çok yoğun	3
Orta derecede yoğun	2
Az yoğun	1
Reaksiyon yok	0

Dokulardaki IGF-I ve Ghrelin immunoreaktivitelerinin spesifik olup olmadığını tesbit etmek amacıyla alınan kesitlere primer antikor ilave edilmeksizin (negatif kontrol) diğer işlemler aynen uygulandı.

3.2.7. İstatistiksel Analiz

İstatistik analiz için SPSS programının 2.0 versiyonu kullanıldı (101). Gruplar arası farklılıkları belirlemek için one-way ANOVA testi, çoklu gruplar arasındaki farkın kaynağını bulmak için çoklu karşılaştırma testlerinden Duncan testi uygulandı. İstatistiksel analizde güven aralığı 0,05 olarak belirlendi.

4. BULGULAR

4.1. Ratların Canlı Ağırlık Bulguları

Çalışmada ratların canlı ağırlık, karaciğer ve böbrek ağırlıklar bulguları değerlendirilmiştir. Deney süreci toplamda 21 gün olup, izlenen periyotda her bir gruptaki ratların tartımı 0-21. günler toplam 22 kez yapıldı. Grupların günlere göre kendi içerisinde ve gruplar arasında ortalama canlı ağırlıkları değerlendirilmiştir.

Tablo 4.1. Kontrol grubu içinde günlere göre ortalama canlı ağırlıkların karşılaştırılması.

Gün	Ortalama Canlı Ağırlık (gr)	SD Değeri	F değeri
0. gün	298,79	29,85	0,871
1. gün	298,11	29,38	
2. gün	300,23	29,14	
3. gün	304,07	29,16	
4. gün	299,66	27,38	
5. gün	306,68	28,98	
6. gün	307,71	28,34	
7. gün	309,92	28,05	
8. gün	311,38	28,18	
9. gün	313,30	27,97	
10. gün	313,94	28,17	
11. gün	314,13	27,15	
12. gün	314,86	29,14	
13. gün	316,82	27,33	
14. gün	317,21	28,45	
15. gün	317,84	27,85	
16. gün	320,98	27,29	
17. gün	320,54	27,70	
18. gün	320,88	28,65	
19. gün	322,75	27,40	
20. gün	324,26	27,03	
21. gün	321,41	27,86	

SD: Standart Deviation (Standart Sapma), **F:** F değeri, $P < 0,05$

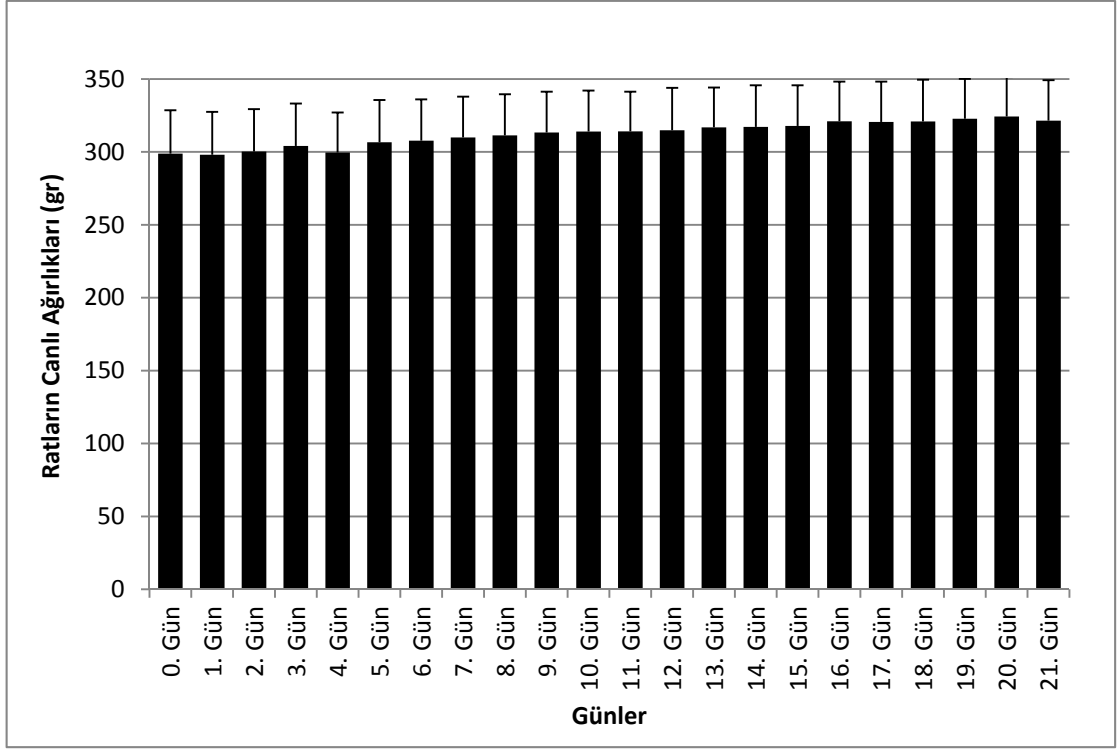
Kontrol grubu içinde ortalama canlı ağırlıkta artma görülürken, ortalama canlı ağırlık açısından günler arasında istatistiksel düzeyde anlamlı bir fark gözlenmedi.

Tablo 4.2. Sham grubu içinde günlere göre ortalama canlı ağırlıkların karşılaştırılması.

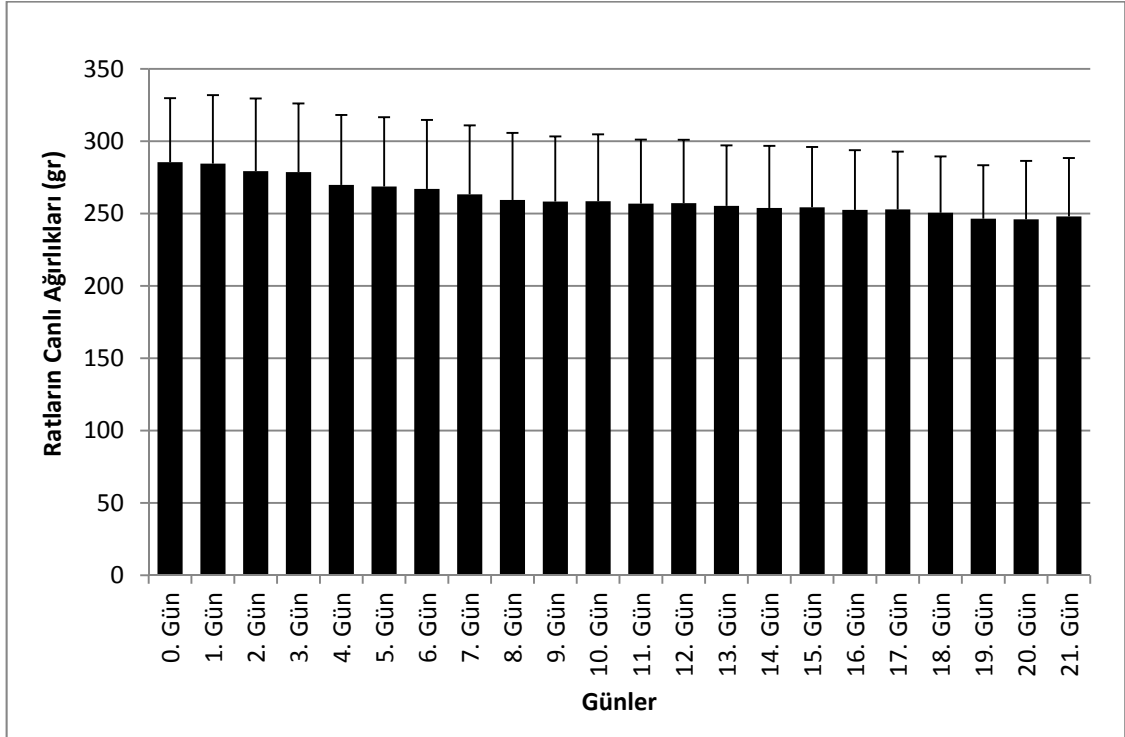
Gün	Ortalama Canlı Ağırlık (gr)	SD Değeri	F değeri
0. gün	285,55	44,26	0,731
1. gün	284,50	47,36	
2. gün	279,36	50,14	
3. gün	278,69	47,45	
4. gün	269,84	48,33	
5. gün	268,74	47,81	
6. gün	267,06	47,66	
7. gün	263,30	47,71	
8. gün	259,44	46,35	
9. gün	258,33	45,01	
10. gün	258,58	46,21	
11. gün	256,91	44,18	
12. gün	257,23	43,77	
13. gün	255,29	41,83	
14. gün	253,87	42,89	
15. gün	254,31	41,75	
16. gün	252,52	41,24	
17. gün	252,88	39,90	
18. gün	250,56	38,91	
19. gün	246,48	36,96	
20. gün	246,08	40,38	
21. gün	248,03	40,40	

SD: Standart Deviation (Standart Sapma), **F:** F değeri, $P < 0,05$

Sham grubu içinde ortalama canlı ağırlıkta azalma görülürken, ortalama canlı ağırlık açısından günler arasında istatistiksel düzeyde anlamlı ($P < 0,05$) bir fark gözlenmedi.



Grafik 4.1. Kontrol grubunda günlere göre canlı ağırlıklarının karşılaştırılması.



Grafik 4.2. Sham grubunda günlere göre canlı ağırlıklarının karşılaştırılması.

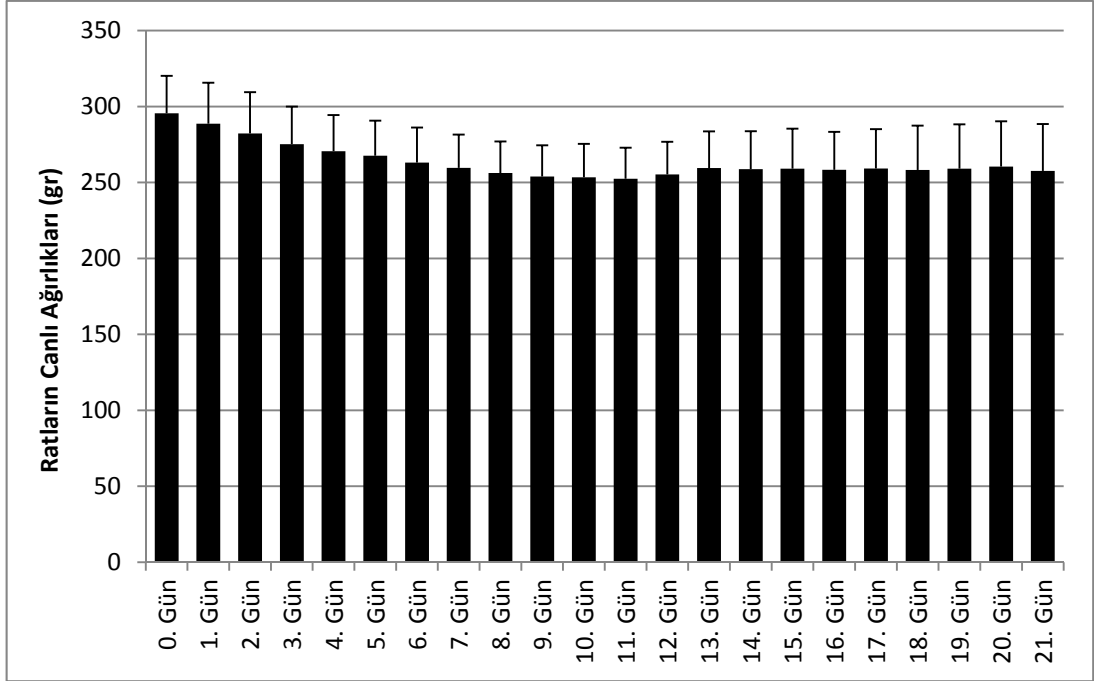
Tablo 4.3. Deneme grubu içinde günlere göre ortalama canlı ağırlıkların karşılaştırılması.

Gün	Ortalama Canlı Ağırlık (gr)	SD Değeri	F değeri
0. gün	295,56	24,57	2,17*
1. gün	288,65	27,02	
2. gün	282,25	27,21	
3. gün	275,20	24,71	
4. gün	270,52	23,80	
5. gün	267,63	23,08	
6. gün	263,12	23,01	
7. gün	259,64	21,85	
8. gün	256,26	20,77	
9. gün	253,95	20,54	
10. gün	253,34	22,03	
11. gün	252,48	20,40	
12. gün	255,30	21,43	
13. gün	259,51	24,11	
14. gün	258,71	25,06	
15. gün	259,10	26,34	
16. gün	258,30	25,00	
17. gün	259,20	25,91	
18. gün	258,21	29,21	
19. gün	259,03	29,19	
20. gün	260,45	29,82	
21. gün	257,58	30,87	

SD: Standart Deviation (Standart Sapma)

F: F değeri, *P < 0,05

Günlere göre deneme grubunun kendi içinde ortalama canlı ağırlık bakımından günler arası istatistiksel düzeyde anlamlı (P<0,05) bir fark bulundu. Tablo 4.3’de verildiği üzere melatonin uygulaması yapılan grupta ortalama canlı ağırlıkta azalma olduğu görüldü.



Grafik 4.3. Deneme grubunda günlere göre canlı ağırlıklarının karşılaştırılması.

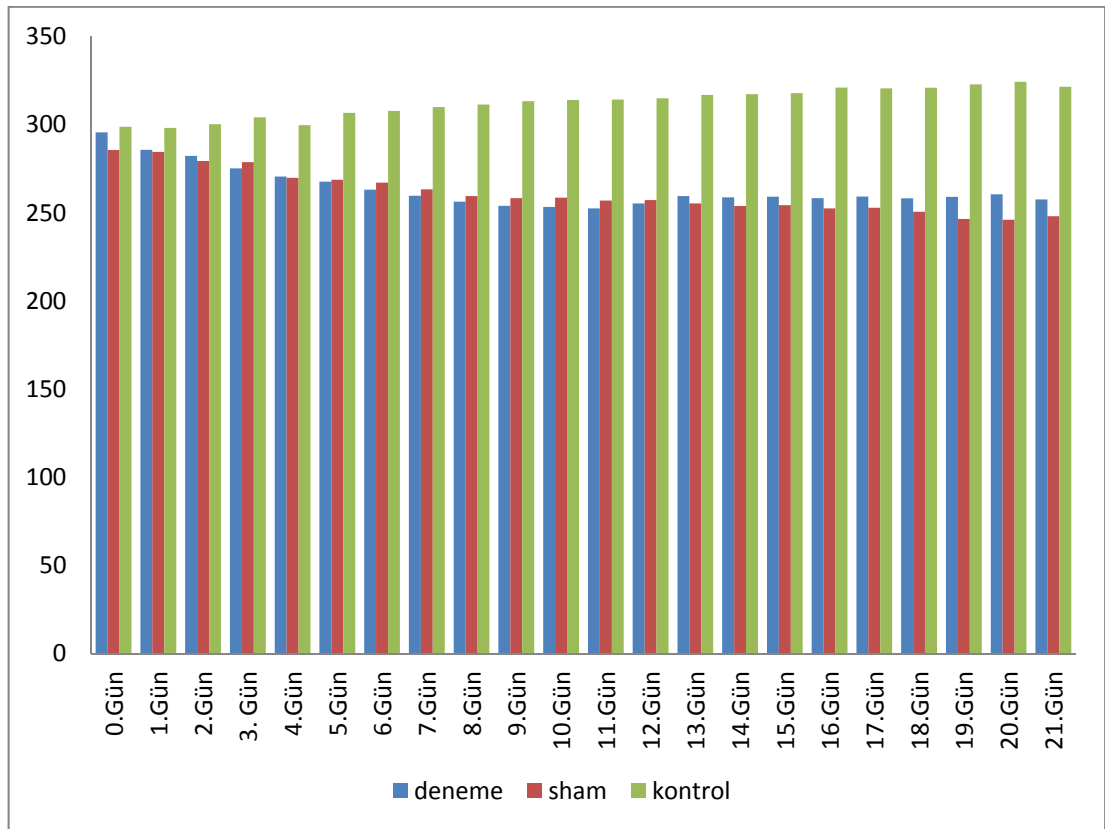
Tablo 4.4. Gruplararası günlere göre ortalama canlı ağırlıklarının karşılaştırılması.

Gün	Grup	Ortalama Canlı Ağırlık (gr)	SD Değeri	F Değeri	Fark
0. Gün	Deneme	295,56	24,57	0,41	Fark Yok
	Sham	285,55	44,26		
	Kontrol	298,79	29,85		
1. Gün	Deneme	288,65	27,02	0,38	Fark Yok
	Sham	284,50	47,36		
	Kontrol	298,11	29,38		
2. Gün	Deneme	282,25	27,21	0,93	Fark Yok
	Sham	279,36	50,14		
	Kontrol	300,23	29,14		
3. Gün	Deneme	275,20	24,71	2,00	Fark Yok
	Sham	278,69	47,45		
	Kontrol	304,07	29,16		
4. Gün	Deneme	270,52	23,80	2,38	Fark Yok
	Sham	269,84	48,33		
	Kontrol	299,66	27,38		
5. Gün	Deneme	267,63	23,08	4,05*	Kontrol
	Sham	268,74	47,81		Kontrol
	Kontrol	306,68	28,98		Deneme, Sham
6. Gün	Deneme	263,12	23,01	5,07*	Kontrol
	Sham	267,06	47,66		Kontrol
	Kontrol	307,71	28,34		Deneme, Sham

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

SD: Standart Deviation (Standart Sapma), F: F değeri, *P < 0,05

Gruplar arası ortalama canlı ağırlık bakımından 0. ve 4. günler arası istatistiksel düzeyde anlamlı fark gözlemlenmezken, 5-21 günler arası kontrol grubu ile deneme ve sham grubu arasında istatistiksel düzeyde anlamlı ($P<0,05$) fark olduğu fakat deneme ile sham grubu arasında istatistiksel düzeyde anlamlı fark olmadığı belirlendi. Günlere göre gruplararası ortalama canlı ağırlıklarının karşılaştırılması Grafik 4.4’de gösterilmiştir.



Grafik 4.4. Günlere göre canlı ağırlıkların (gr) ortalamalarının gruplar arası karşılaştırılması.

4.2. Ratların Böbrek ve Karaciğer Ağırlık Bulguları

Tablo 4.5: Gruplar arasında böbrek ağırlıklarının karşılaştırılması.

Gruplar	n	(Sağ+Sol Böbrek Ağırlığı/ Canlı Ağırlık)*1000 (gr)	SD	F
Deneme	10	7,64	0,64	0,154
Sham	10	7,74	0,80	
Kontrol	10	7,80	0,47	

SD: Standart Deviation (Standart Sapma)

F: F değeri, $P \geq 0,05$

Yaptığımız bu çalışmada gruplar arasında böbrek ağırlıkları yönünden istatistiksel düzeyde anlamlı ($P < 0,05$) bir fark olmadığı gözlemlendi.

Tablo 4.6. Gruplar arasında karaciğer ağırlıklarının karşılaştırılması.

Gruplar	n	(Karaciğer Ağırlığı/ Canlı Ağırlık)*1000 (gr)	SD	F
Deneme	10	36,72	3,03	1,504
Sham	10	35,68	6,19	
Kontrol	10	33,34	3,48	

SD: Standart Deviation (Standart Sapma)

F: F değeri, $P \geq 0,05$

Gruplar arasında karaciğer ağırlıkları açısından istatistiksel düzeyde anlamlı ($P < 0,05$) bir fark gözlemlenmedi.

4.3. Histolojik Bulgular

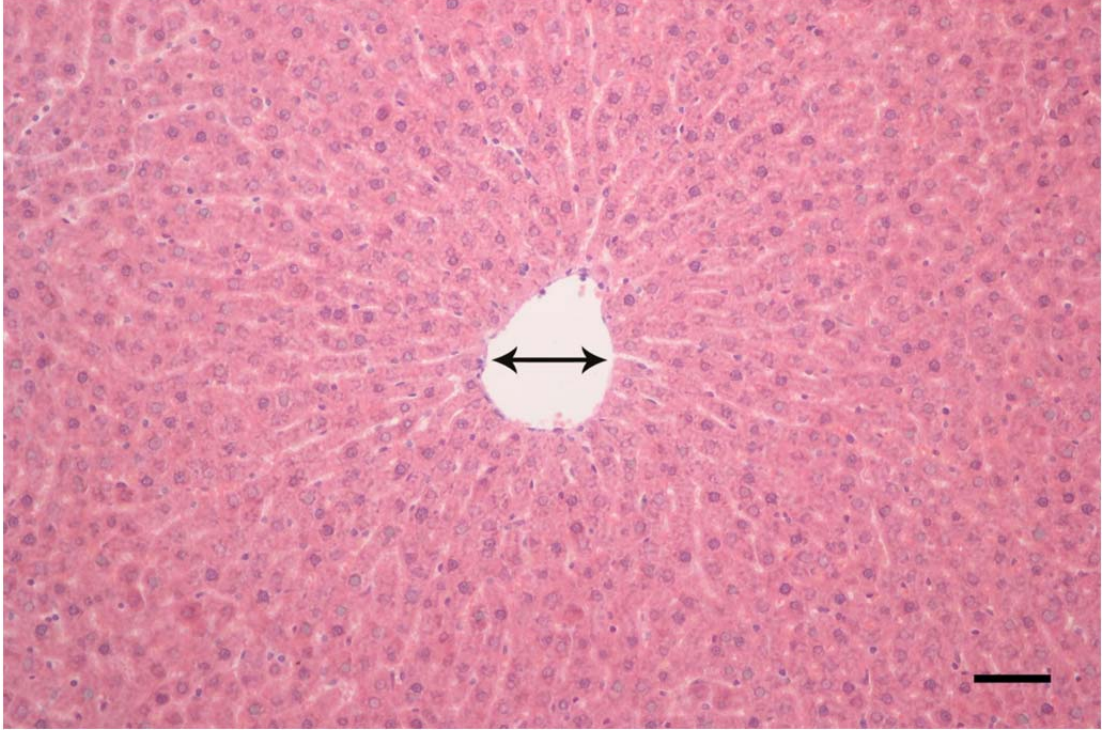
A) Karaciğer Histolojik Bulguları

Kontrol, sham ve deneme grubuna ait ratların karaciğer kesitlerinde dokuyu dıştan bağıdokudan bir kapsülün çevrelediği ve bu bağıdokunun da kapsülden içeriye doğru yayıldığı fakat lopçukların belirgin olmadığı gözlemlendi. Dokuda lopçuklar içinde merkezi konumda yerleşmiş bulunan vena sentralisler ile vena sentralislerin etrafında ışınal bir biçimde dizilim göstererek Remark kordonlarını meydana getiren hepatositler belirgin olarak görüldü (Resim 4.1).

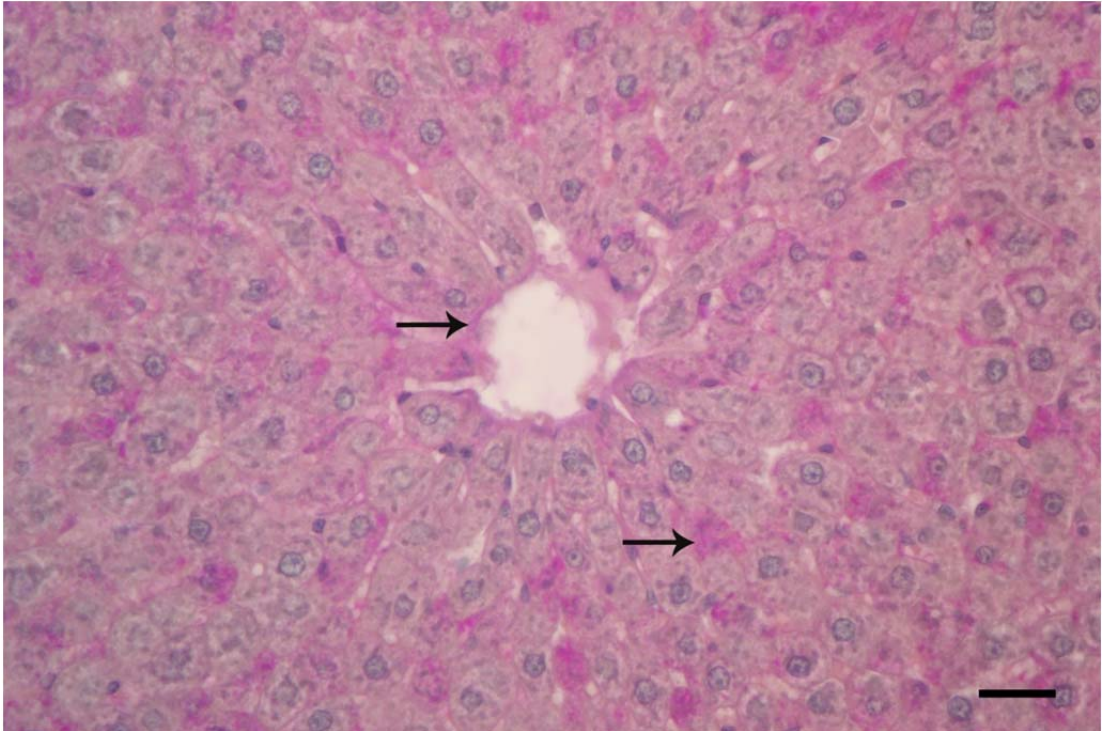
Doku içerisinde hepatositler genellikle bir, bazen de çift çekirdeğe sahip çoğunlukla iri ve yuvarlak şekilli, pembe sitoplazmalı olarak gözlemlendi. Dağılımları vena sentralise yaklaştıkça artan çift çekirdekli hepatositlerin genellikle içerdikleri çekirdeklerden biri koyu boyanırken diğerinin daha soluk boyandığı görüldü. Hepatositlerin oluşturduğu remark kordonları arasındaki genişlemiş kan damarları olan sinüzoidlerin duvarında endotel hücrelerinin yer aldığı, aynı zamanda bu bölgede fagositoz yapabilme özelliğine sahip olan Kupffer hücrelerinin bulunduğu görüldü (Resim 4.3).

Kiernan aralığında yani lopçuklar arasındaki bağıdoku alanlarında ise karaciğer üçlüsü olarak isimlendirilen arteriya hepatica, hepatic portal ven olan vena interlobularis ile safra kanalı duktus biliferus gözlemlendi (Resim 4.4).

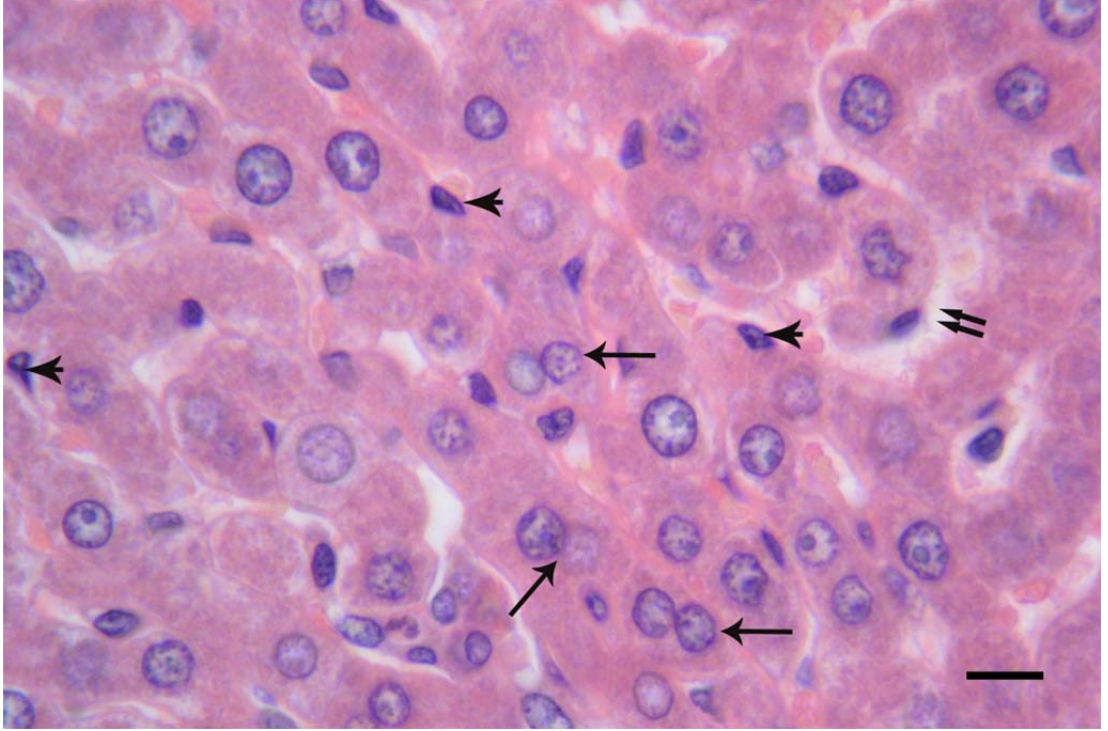
Ratların karaciğer dokusuna ait kesitlerde yapılan PAS boyaması sonucunda, hepatositlerin sitoplazmalarında pembe-kırmızı renkte boyanan glikojen birikimlerinin olduğu tespit edildi (Resim 4.2).



Resim 4.1. Kontrol grubunda karaciğerin genel görünümü. Çift yönlü ok: Vena sentralis. H.E. Bar:50 μ m.

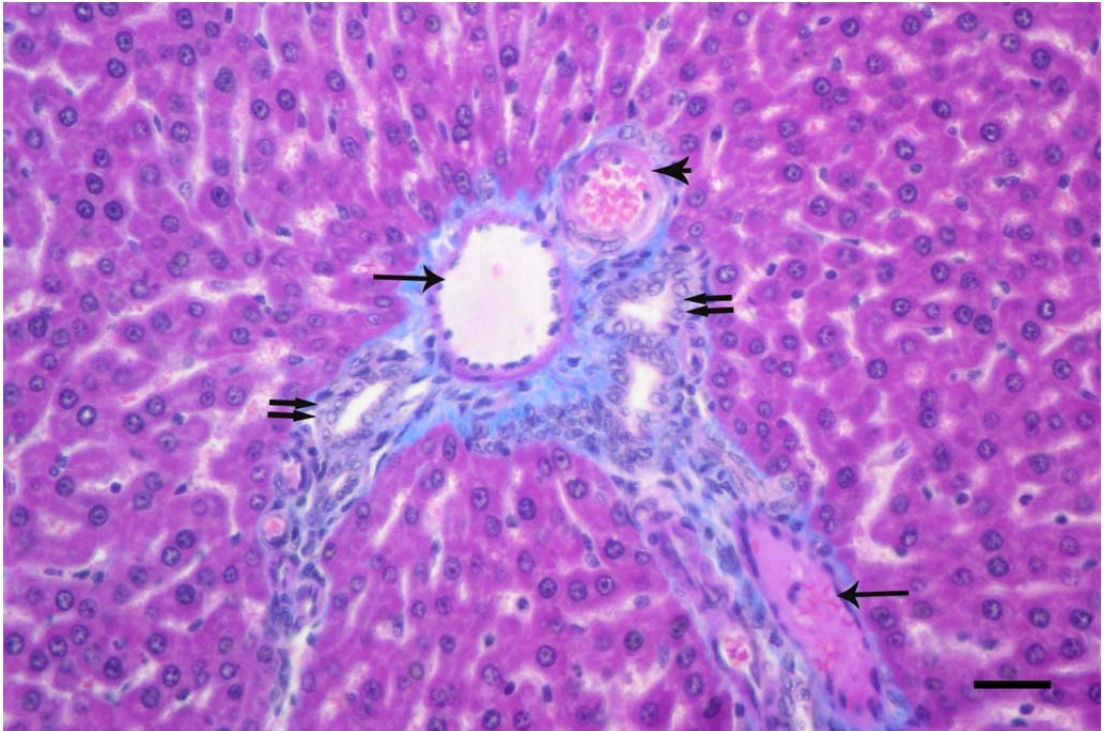


Resim 4.2. Kontrol grubu karaciğer dokusunda glikojen birikimi. PAS. Bar: 25 μ m.



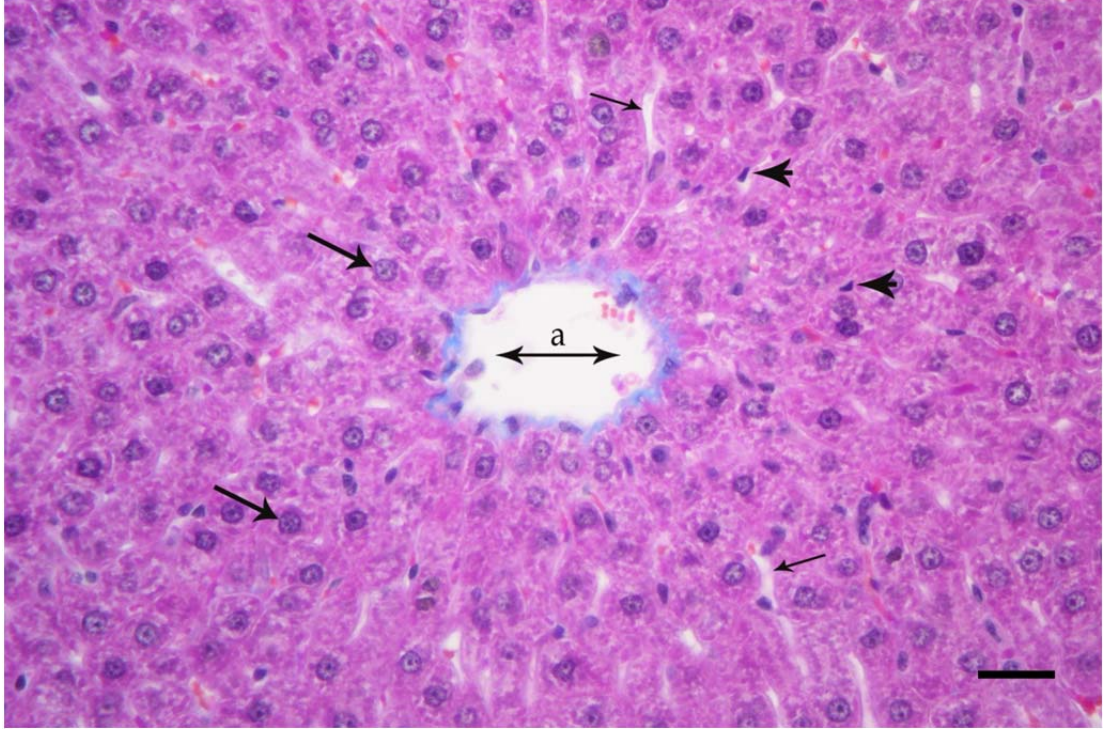
Resim 4.3. Sham grubu karaciğer dokusu. Oklar: Çift çekirdekli hepatosit, Ok başı: Kupffer hücresi, Çift ok: Sinüzoid. H.E. Bar: 10 μ m.

Rutin histolojik boyamalarla sham grubu ratların karaciğerlerinde yapısal olarak kontrol grubundan farklı bir bulguya rastlanmadı (Resim 4.3, 4.4).



Resim 4.4. Sham grubu karaciğerinde Kiernan aralığı bölgesinin histolojik görünümü. Oklar: Vena interlobularis, Çift ok: Duktus biliferus, Ok başı: Arteriya hepatica. Triple boyama. Bar: 25 μ m.

Deneme grubuna ait ratların karaciğerlerinde de kontrol ve sham grubu karaciğer dokularıyla benzer bulgular gözlemlendi farklı bir bulguya rastlanmadı (Resim 4.5).



Resim 4.5. Deneme grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü. Çift yönlü ok: Vena sentralis, Kalın oklar: Hepatosit, İnce oklar: Sinüzoid, Ok başı: Kupffer hücresi. Triple boyama. Bar: 25 μ m.

B) Böbrek Histolojik Bulguları

Kontrol, sham ve deneme grubuna ait ratların böbrek kesitlerinde yapılan incelemede dokuyu dış kısımdan bağdokudan bir kapsülün sardığı ve bu kapsülün de dokunun içlerine kadar girdiği gözlemlendi.

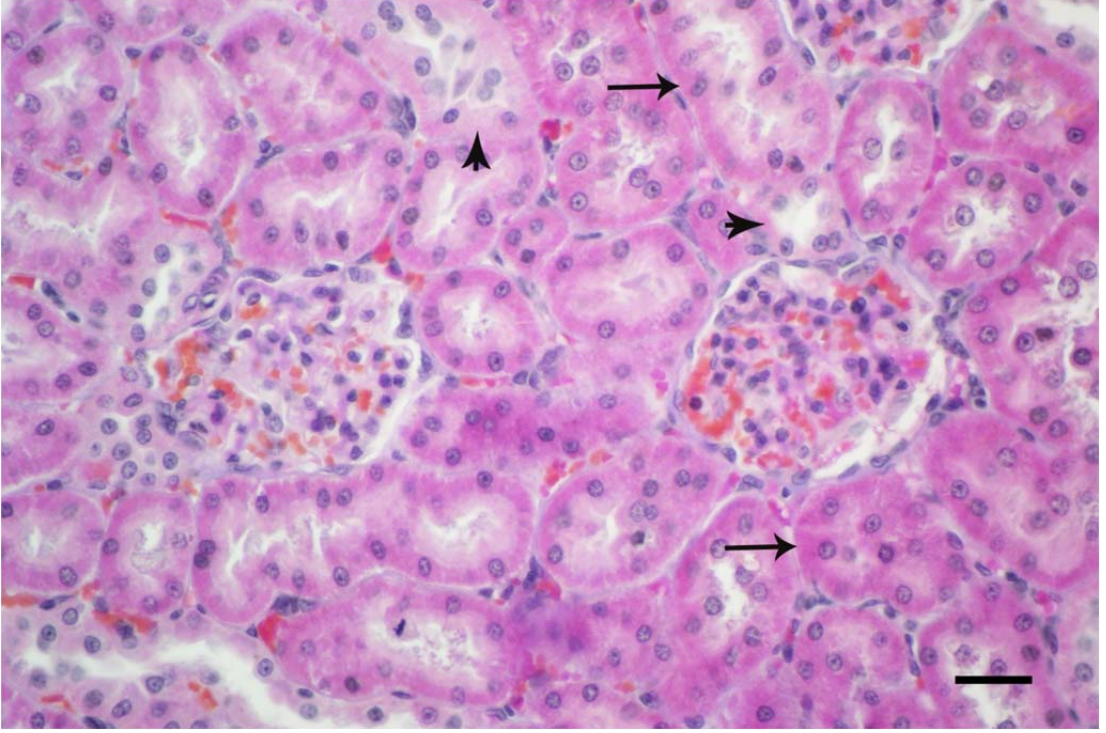
Böbreğin kesitlerde korteks ve medulla olmak üzere iki bölgeden oluştuğu görüldü. Doku içerisinde böbreğin korteks bölümünde glomerulus, tubulus proksimalis, tubulus distalisin bulunduğu ve proksimal tubullerin koyu pembe tarzda boyanırken distal tubullerin daha soluk boyandığı gözlemlendi (Resim 4.6). Glomeruluslarda damar kutbunda tubulus distalislerin şekillendirdiği makula densa görülürken, tubulus proksimalislerin şekillendirdiği idrar kutbu da gözlemlendi. Ayrıca glomeruluslarda damar kutbunda yer alan jukstaglomerular aygıt da görüldü (Resim 4.7).

Korteks-medulla sınırında iyi boya almayan hücrelerden oluşan tubulus konnektivusların uzandığı görüldü. Medullada ise lümeneye doğru şişkinlik yapmış yassı hücrelerden oluşan inen henle, kübik epitele sahip olan çıkan henle, prizmatik epitel hücrelerden oluşan tubulus kollektivus ve tek katlı yüksek prizmatik epitele sahip duktus papillarislerin olduğu gözlemlendi.

Doku içerisinde bağdoku alanlarının olduğu ve buralarda kan damarlarının bulunduğu gözlemlendi. İnen henle ve çıkan henle tubullerinin yakınında uzanan genişlemiş kan damarları olan sinüzoidler görüldü.

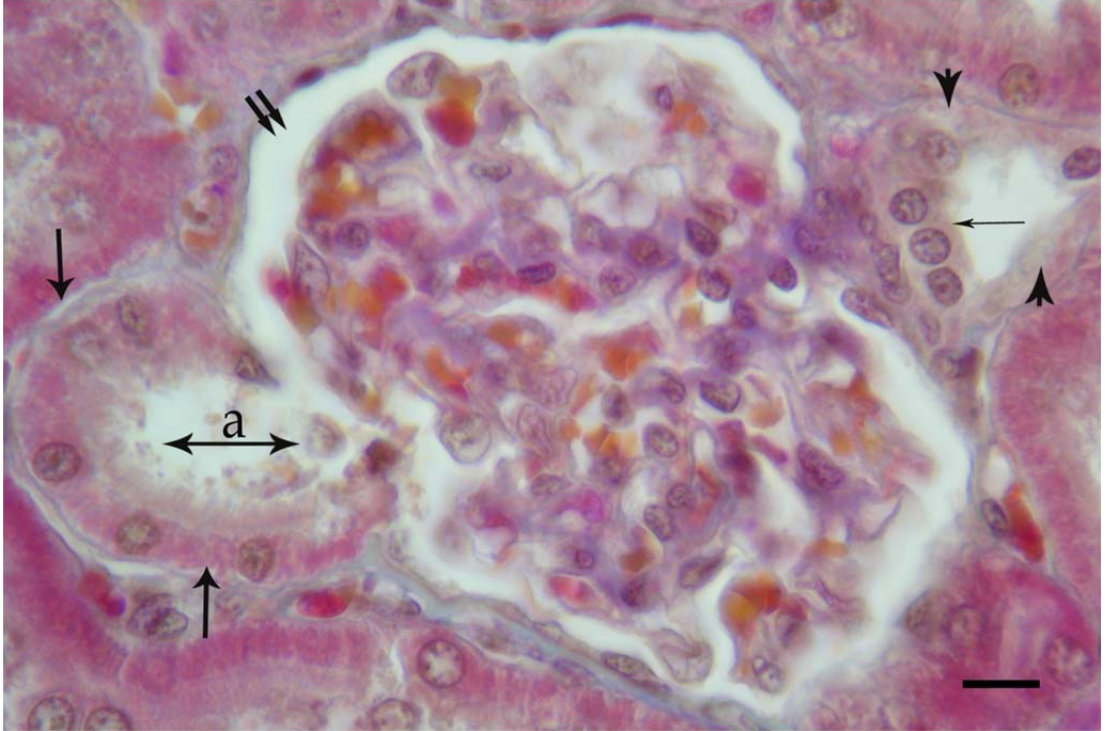
Böbrek dokusuna ait kesitlerde yapılan PAS boyaması sonucunda ise özellikle mikrovilluslara sahip olmasına bağlı olarak tubulus proksimalislerin lumenlerinde yoğun olmak üzere diğer tubullerde de pembe-kırmızı renkte boyanan glikojen birikimi olduğu belirlendi.

Kontrol ve sham grubu ratların böbreklerinde yapısal olarak benzer bulgular gözlenirken, bu iki grup arasında farklı bir bulguya rastlanmadı (Resim 4.6).



Resim 4.6. Kontrol grubu böbrek dokusunun histolojik görünümü. Oklar: Tubulus proksimalis, Ok başı: Tubulus distalis. Triple boyama. Bar: 25 μ m.

Deneme grubu ratların böbreklerinde de kontrol ve sham grubu böbrek dokularıyla benzer bulgular gözlemlendi. Gruplar arasında farklı bir bulguya rastlanmadı. Resim(4.7).



Resim 4.7. Deneme grubu rat böbreğinde korteksin histolojik görünümü. Kalın oklar: Tubulus proksimalis, Ok başı: Tubulus distalis, Çift yönlü ok: İdrar kutbu, İnce ok: Makula densa (Damar kutbu), Çift ok: Bowman aralığı. Triple boyama. Bar: 10 μ m.

4.4. Histometrik Bulgular

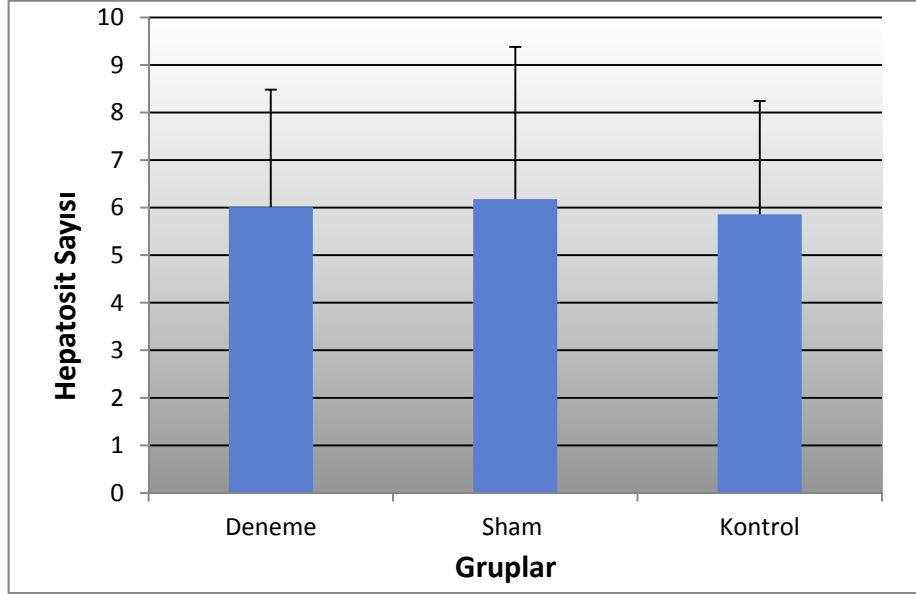
Karaciğer dokusunda yapılan tek çekirdekli ve çift çekirdekli hepatosit sayımının gruplar arasındaki karşılaştırılması Tablo 4.7 ve Tablo 4.8'de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Gruplar arasında hepatosit sayılarının karşılaştırılması.

Gruplar	n	Hepatosit Sayısı (Bir sayım alanının değeri: 3025 μm^2)	SD	F
Deneme	10	6,01	2,47	1,697
Sham	10	6,18	3,20	
Kontrol	10	5,86	2,38	

SD: Standart Deviation (Standart Sapma)

F: F değeri, $P \leq 0,05$



Grafik 4.5. Gruplar arasında hepatosit sayılarının karşılaştırılması.

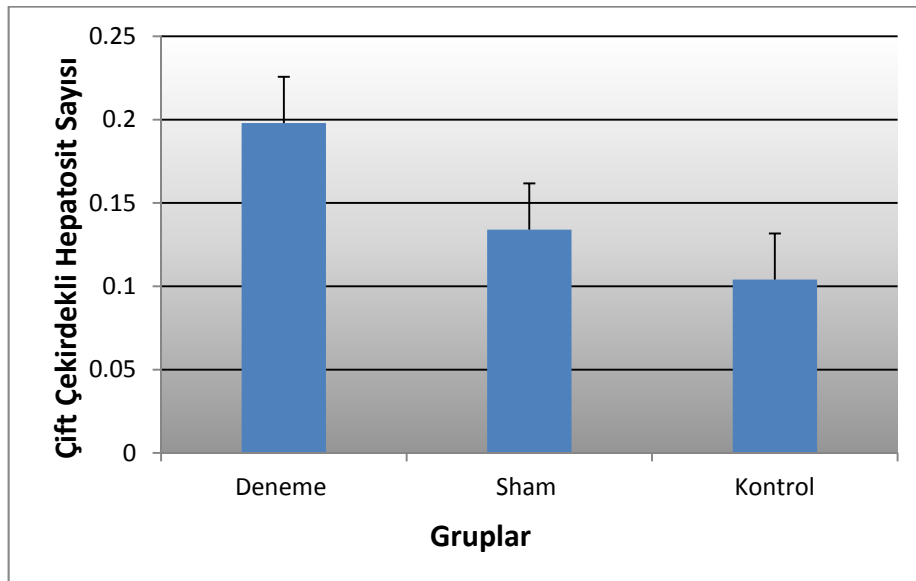
Bu çalışmada karaciğer dokusundaki ortalama hepatosit sayısı açısından deneme ve sham gruplarında artma olduğu ancak bu artışın gruplar arasında istatistiksel düzeyde anlamlı ($P < 0,05$) olmadığı belirlendi.

Tablo 4.8. Gruplar arasında çift çekirdekli hepatosit sayılarının karşılaştırılması.

Gruplar	n	Çift Çekirdekli Hepatosit Sayısı (Bir sayım alanının değeri: 3025 μm^2)	SD	F
Deneme	10	0,19 ^a	0,45	7,635*
Sham	10	0,13 ^b	0,37	
Kontrol	10	0,10 ^b	0,31	

SD: Standart Deviation (Standart Sapma)

F: F değeri, *P < 0,05

**Grafik 4.6.** Gruplar arasında çift çekirdekli hepatosit sayılarının karşılaştırılması.

Yaptığımız bu çalışmada, karaciğer dokusundaki çift çekirdekli hepatosit sayısı açısından gruplar arası yapılan incelemede, kontrol ve sham grupları arasında istatistiksel düzeyde anlamlı bir fark bulunmazken, deneme grubunda kontrol ve sham grubuna göre istatistiksel düzeyde anlamlı (P<0,05) bir artış olduğu belirlendi.

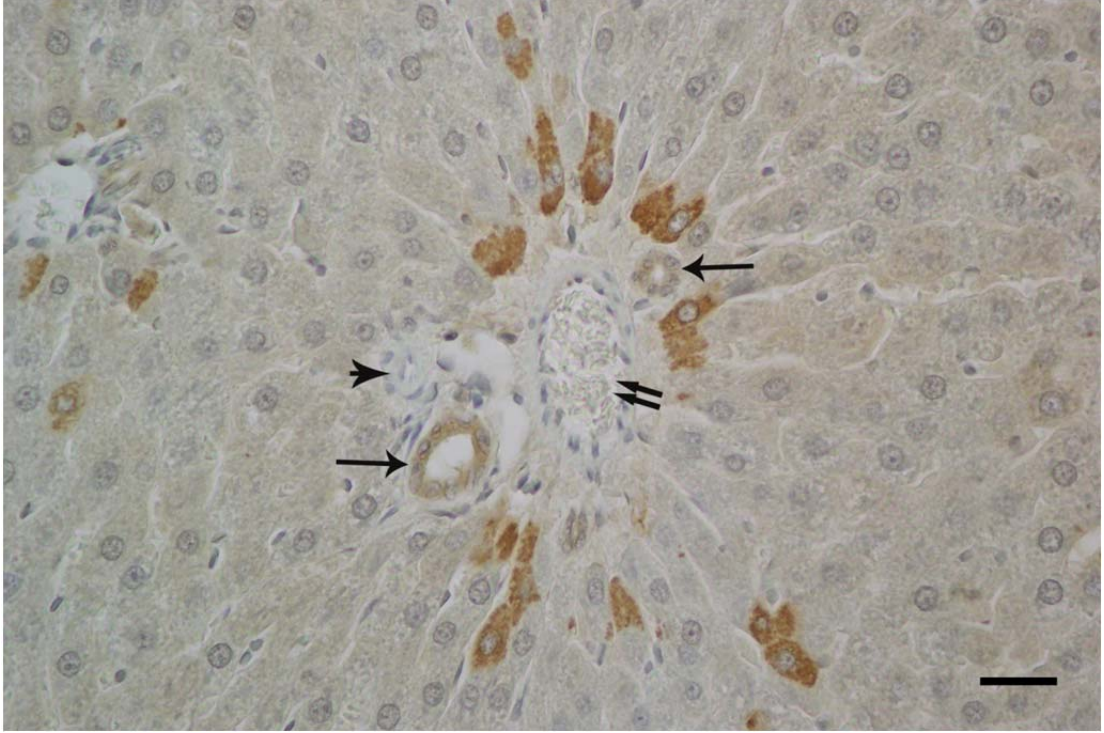
4.5. İmmunohistokimyasal Bulgular

Deneme, kontrol ve sham gruplarına ait ratların karaciğer ve böbrek kesitleri immunohistokimyasal yöntem kullanılarak IGF-I ve ghrelin hormonunun karaciğer ve böbrek dokusundaki lokalizasyonu ışık mikroskopik olarak incelendi.

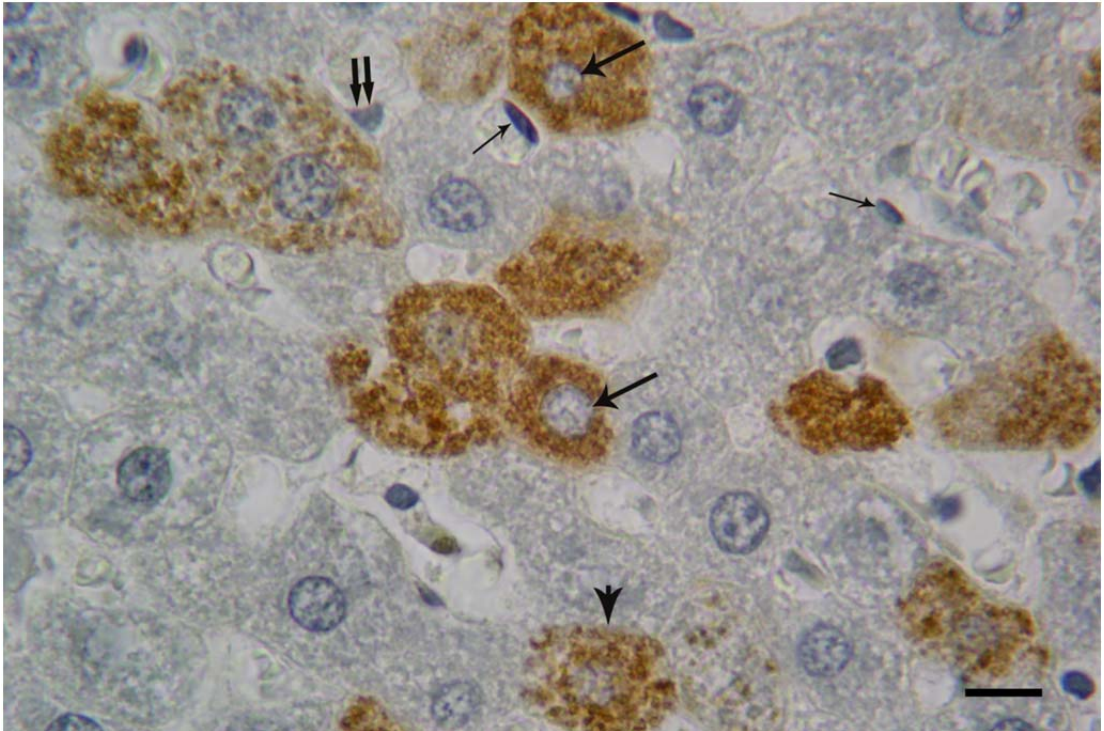
4.5.1. Karaciğerde IGF-I'in İmmunohistokimyasal Bulguları

Kontrol, sham ve deneme gruplarının karaciğer doku örneklerinin IGF-I immunohistokimyasal incelemesinde, her üç grupta da Kupffer hücrelerinde, endotel hücrelerinde ve karaciğer üçlüsünün bulunduğu bağ doku alanlarında yer alan vena interlobularis ve arteria hepaticada ve diğer bağ doku alanlarında da immunoreaktivitenin olmadığı gözlemlendi. Her üç grubun doku örneklerinde 0'dan 3'e kadar değişen değerlerde reaksiyon yoğunluğu görülen hepatositlere rastlandı.

Karaciğerdeki IGF-I immunoreaktivitesinin kontrol, sham ve deneme gruplarında hepatositlerde sadece sitoplazmik tarzda olduğu, nükleer tarzda reaksiyon olmadığı, az sayıda rastlanan bazı hepatositlerde ise hiç reaksiyon olmadığı gözlemlendi. Yine tüm gruplarda doku örneklerinde bulunan çift çekirdekli hepatositlerde de aynı tarzda sitoplazmik reaksiyon olduğu, nükleer tarzda reaksiyon olmadığı görüldü. Kontrol, sham ve deneme gruplarında Kiernan aralığında bulunan üçlü yapıdan sadece duktus biliferusta sitoplazmik tarzda immunoreaktivite gözlenmesi dikkati çeken bulgular arasındaydı. Sadece duktus biliferustaki gözlenen bu immunoreaktivitenin çoğunlukla kuvvetli derecede olduğu görüldü. Yapılan incelemelerde immunoreaktivitenin özellikle Kiernan aralığı ile vena sentralisler etrafındaki hepatositlerde kuvvetli olması, bu alanların dışındaki bazı kısımlarda daha zayıf olması kontrol, sham ve deneme grupları arasındaki benzer bulgulardan (Resim 4.8, 4.9). Karaciğerdeki yapılarda bulunan IGF-I için reaksiyon yoğunlukları Tablo 4.9'da gösterilmiştir.

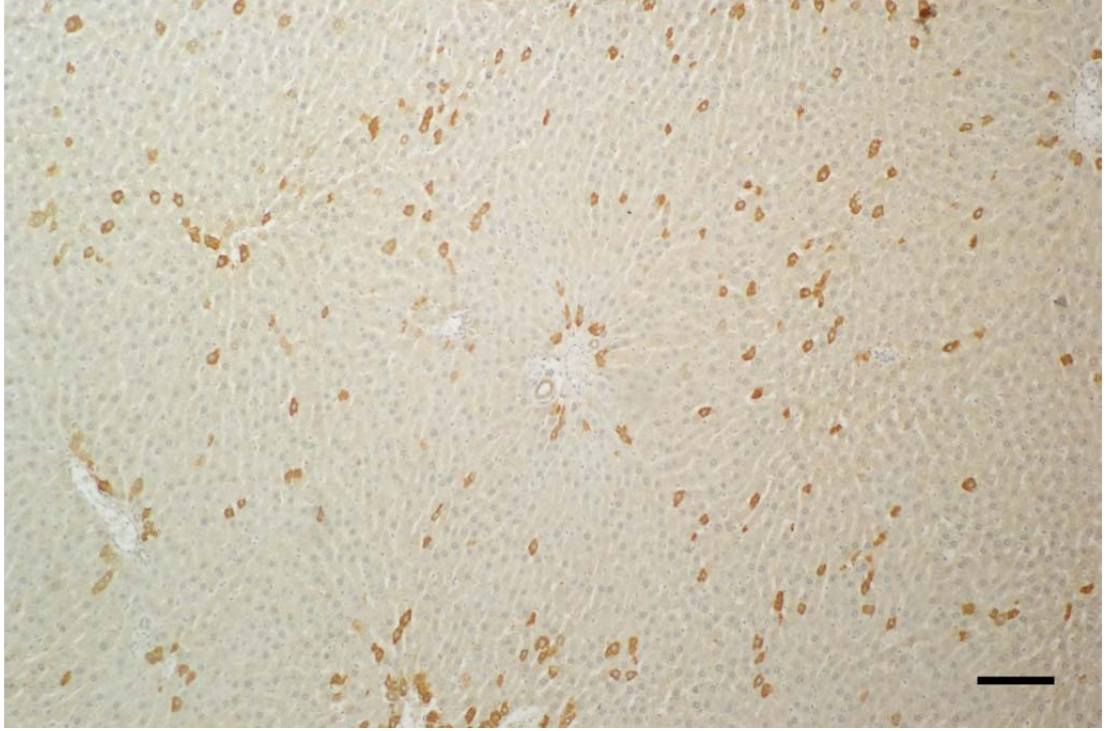


Resim 4.8. Kontrol grubunda Kiernan aralığında IGF-I immunoreaktivitesi. Oklar: Duktus biliferuslarda pozitif immunoreaktivite, Çift ok: Vena interlobularisde negatif immunoreaktivite, Ok başı: Arteriya hepaticada negatif immunoreaktivite. Bar: 25 μ m.



Resim 4.9. Kontrol grubunda karaciğer dokusunda IGF-I immunoreaktivitesi. İnce oklar: Endotel hücresinde negatif immunoreaktivite, Kalın oklar: Çekirdekde negatif immunoreaktivite, Ok başı: Sitoplazmik IGF-I immunoreaktivitesi, Çift ok: Kupffer hücresinde negatif immunoreaktivite. Bar: 10 μ m.

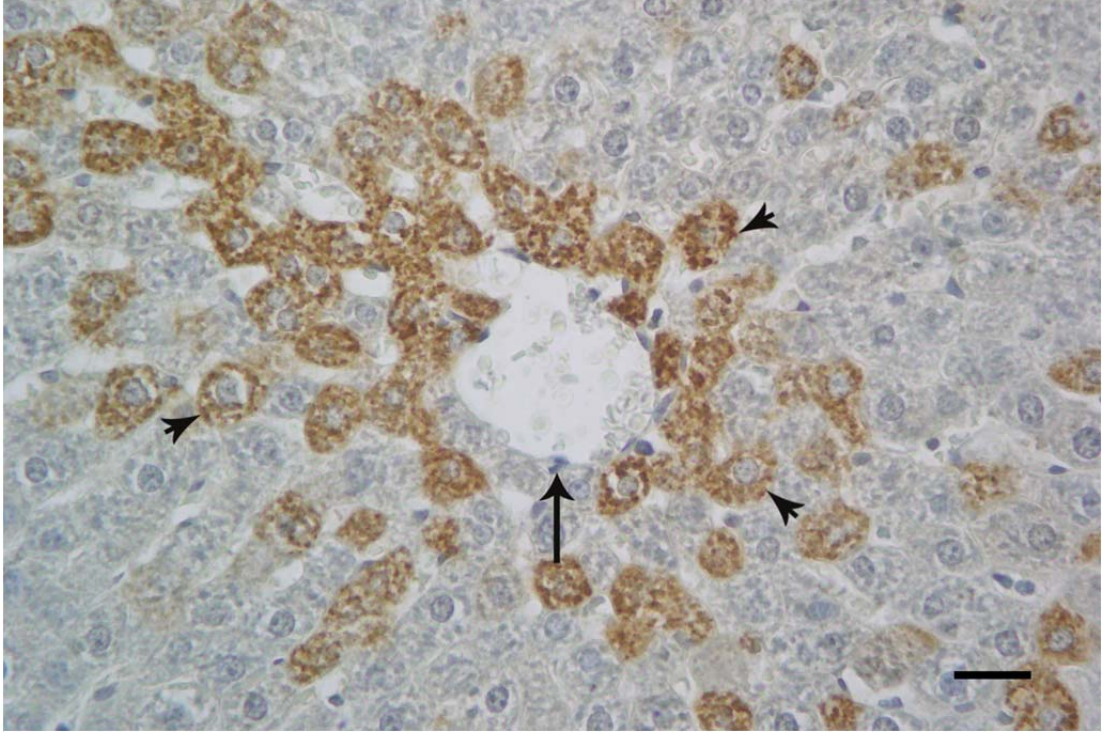
Kontrol ve sham gruplarında odaklar halinde vena sentralis ve Kiernan aralığı etrafında bulunan ilk birkaç sıra hepatositte ve periferdeki bazı hepatositlerde çok kuvvetli derecede IGF-I immunoreaktivitesi olduğu saptandı. Bu reaksiyon odaklarının dışında kalan bölgelerde ise ya çok zayıf ya da hiç reaksiyon olmadığı gözlemlendi (Resim 4.10).



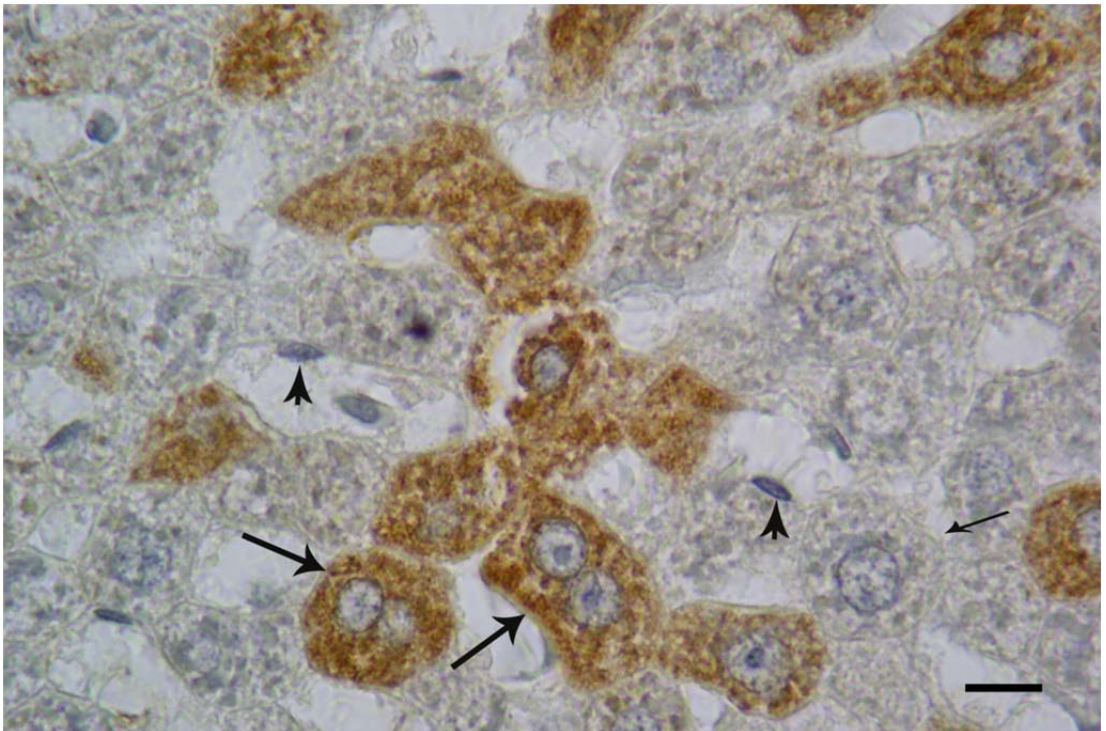
Resim 4.10. Kontrol grubu karaciğer dokusunda odaklar şeklinde yoğun IGF-I immunoreaktivitesi. Bar: 100 µm.

Tablo 4.9. Karaciğerdeki yapılar ve IGF-I için reaksiyon yoğunluğu.

Karaciğerdeki Yapılar	Reaksiyon Yoğunluğu		
	Kontrol Grubu	Sham Grubu	Deneme Grubu
Bağ doku	0	0	0
Endotel hücreleri	0	0	0
Kupffer hücreleri	0	0	0
Duktus biliferus	0,+3	0,+3	0,+3
Kiernan aralığı çevresindeki hepatositler	+3	+3	+3
Vena sentralis çevresindeki hepatositler	+3	+3	+3
Diğer alanlardaki hepatositler	0,+3	0,+3	0,+1,+2,+3

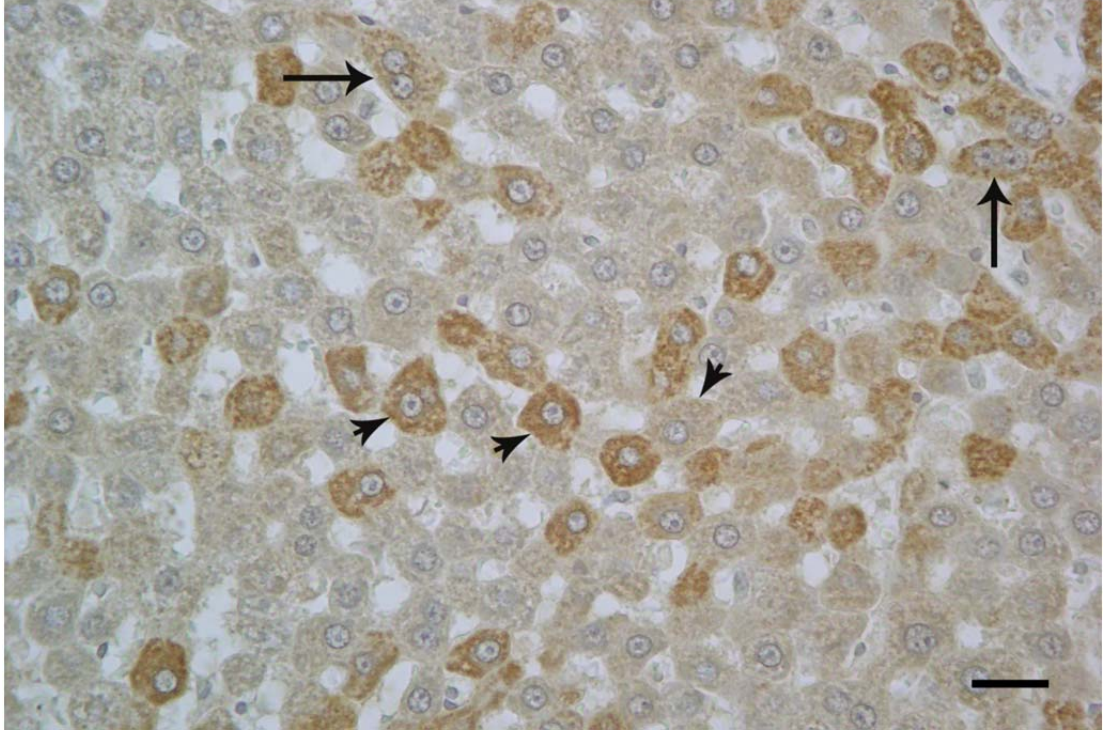


Resim 4.11. Sham grubunda vena sentralisler etrafındaki hepatositlerde IGF-I immnoreaktivitesi. Ok: Endotel hücresi, Ok başı: Hepatositlerde yoğun immunoreaktivite. Bar: 25 μ m.

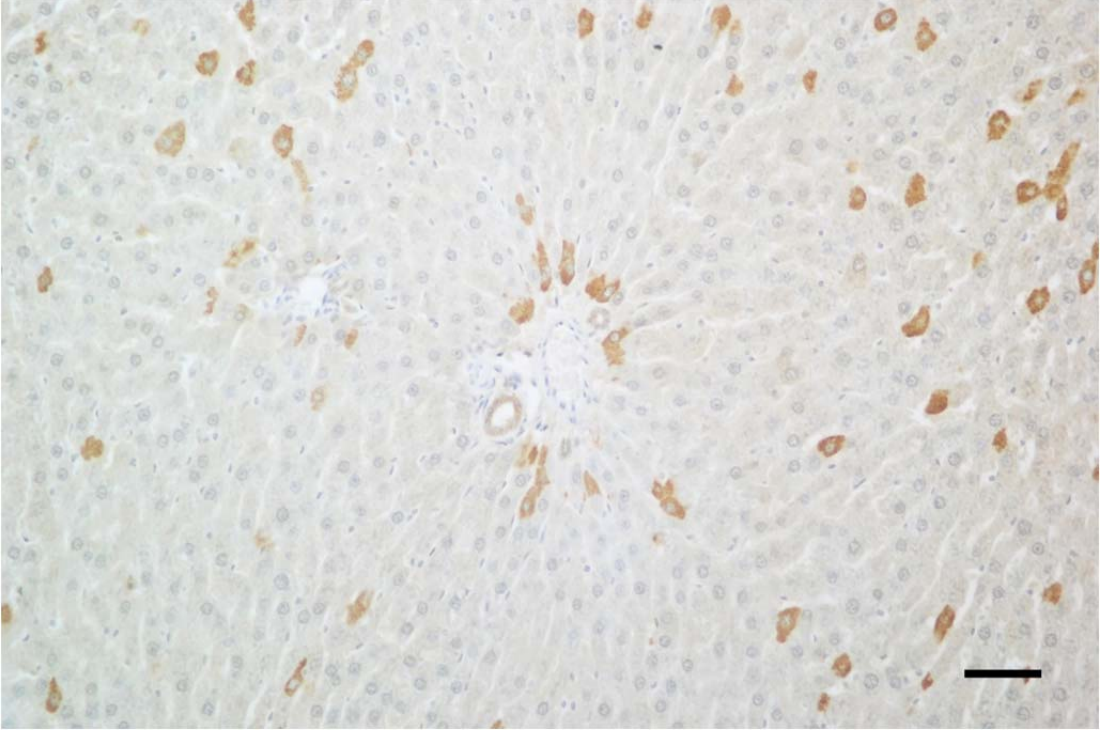


Resim 4.12. Sham grubu karaciğer dokusunda IGF-I immunoreaktivitesi. Kalın ok: Çift çekirdekli hepatositde pozitif immunoreaktivite, İnce ok: Hepatositde negatif immunoreaktivite, Ok başı: Endotel hücresi. Bar: 10 μ m.

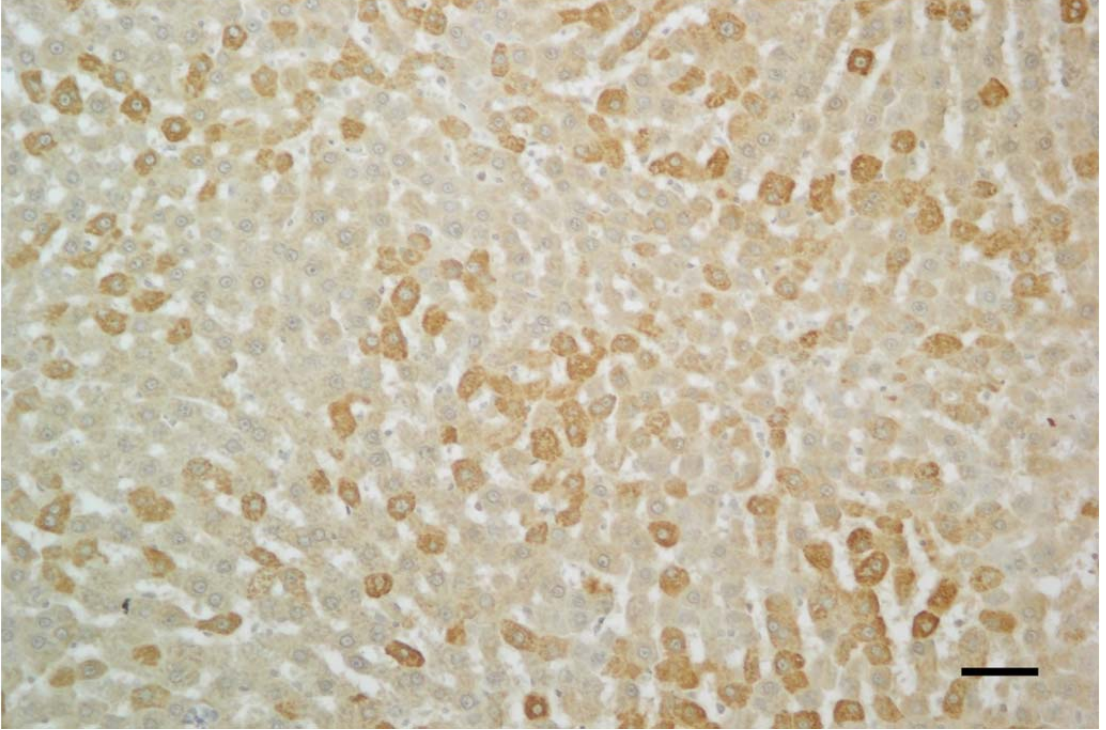
Kontrol ve sham gruplarının karaciğer kesitlerinde IGF-I immunoreaktivitesi açısından farklılık gözlenmezken deneme grubunun doku örnekleri ile diğer iki grup arasında farklılık olduğu tespit edildi (Resim 4.14, 4.15). Kontrol ve sham gruplarında IGF-I immunoreaktivitesinin, vena sentralis ve Kiernan aralığı etrafındaki hepatositleri içeren belirli bölgelerde odaklar halinde olmasına karşın, deneme grubunda immunoreaktivitenin dokunun geneline yayıldığı, immunoreaktivite gösteren hepatositlerde artış görüldüğü dikkati çeken önemli bulgular arasındaydı (Resim 4.13, 4.15).



Resim 4.13. Deneme grubu karaciğer dokusunda IGF-I immunoreaktivitesi. Oklar: Çift çekirdekli hepatositlerde pozitif immunoreaktivite, Ok başı: Tek çekirdekli hepatositlerde pozitif immunoreaktivite. Bar: 25 μ m.

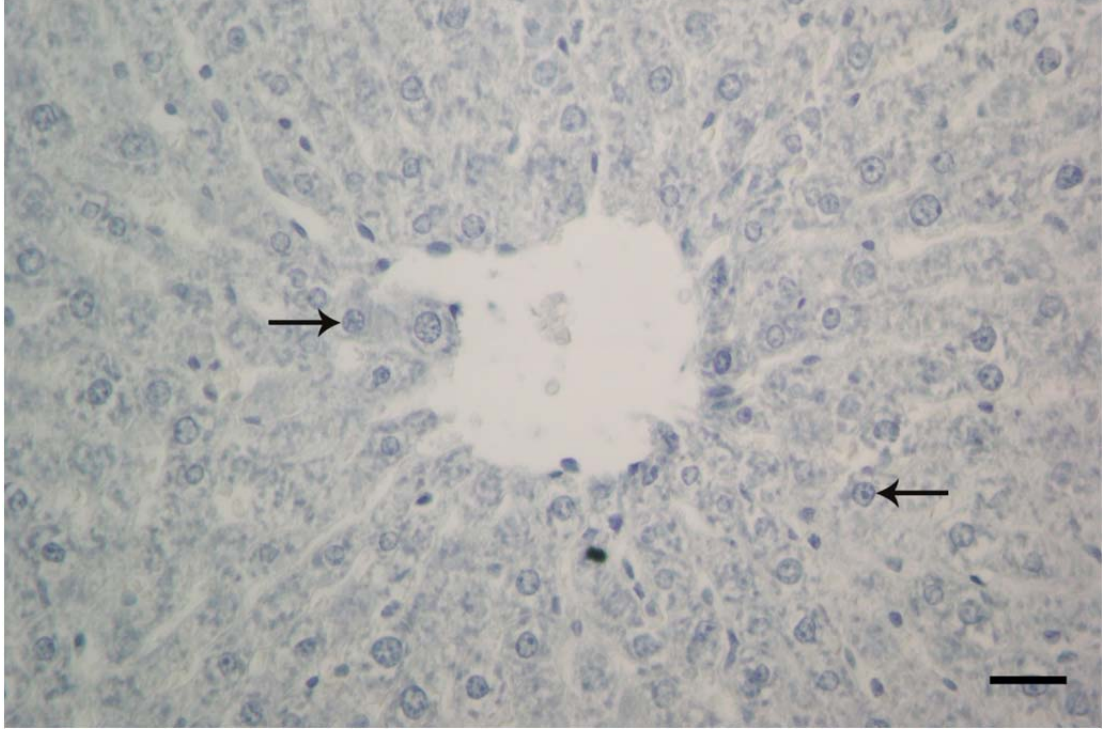


Resim 4.14. Kontrol grubu karaciğer dokusunda odaklar halinde IGF-I immunoreaktivitesi. Bar: 50 μm



Resim 4.15. Deneme grubu karaciğer dokusunda yaygın IGF-I immunoreaktivitesi. Bar: 50 μm .

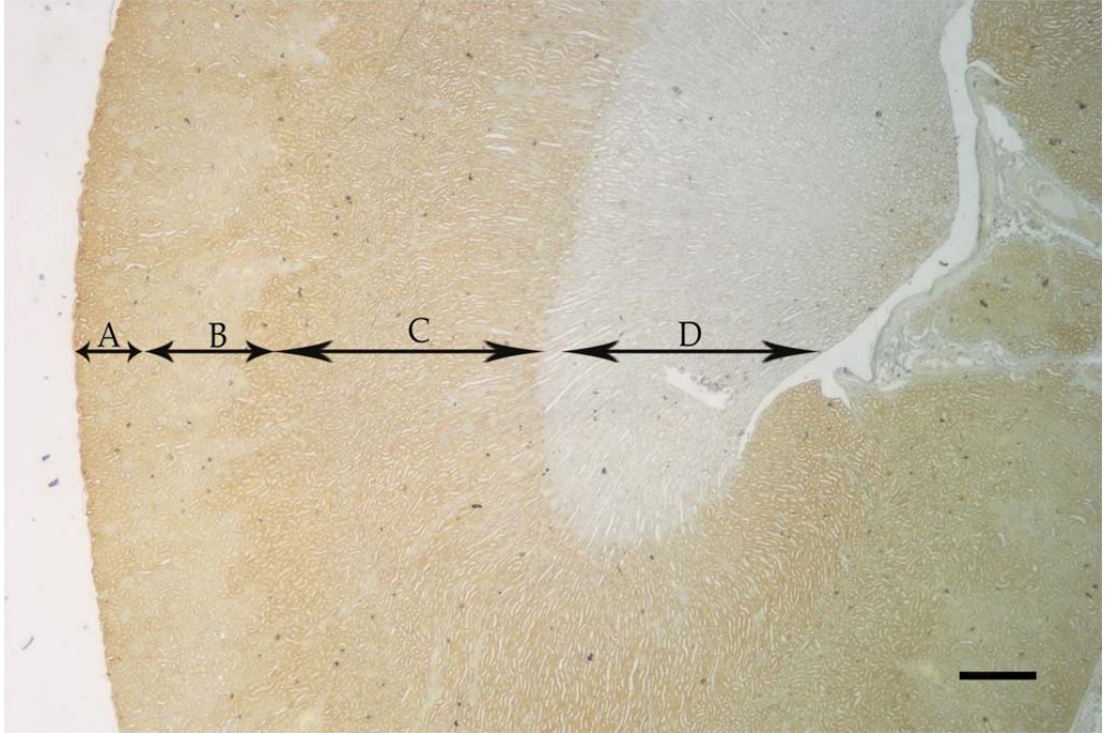
Çalışmada kullanılan tüm gruplardan alınan karaciğer ve böbrek kesitlerinde IGF-I immunoreaktivitesinin spesifik olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılan negatif kontrollerde IGF-I immunoreaktivitesinin olmadığı gözlemlendi (Resim 4.16).



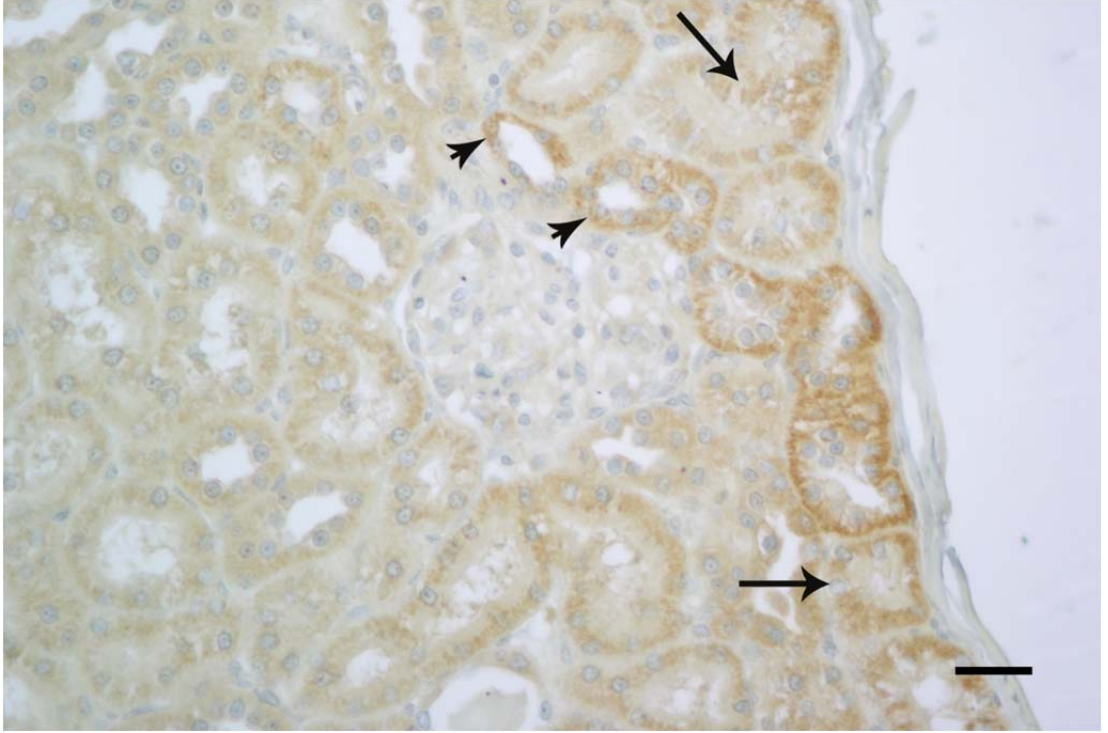
Resim 4.16. Deneme grubu karaciğer dokusunda negatif IGF-I immunoreaktivitesi (Negatif kontrol). Oklar: Hepatositler. Bar: 25 μ m.

4.5.2. Böbrekde IGF-I'in İmmunohistokimyasal Bulguları

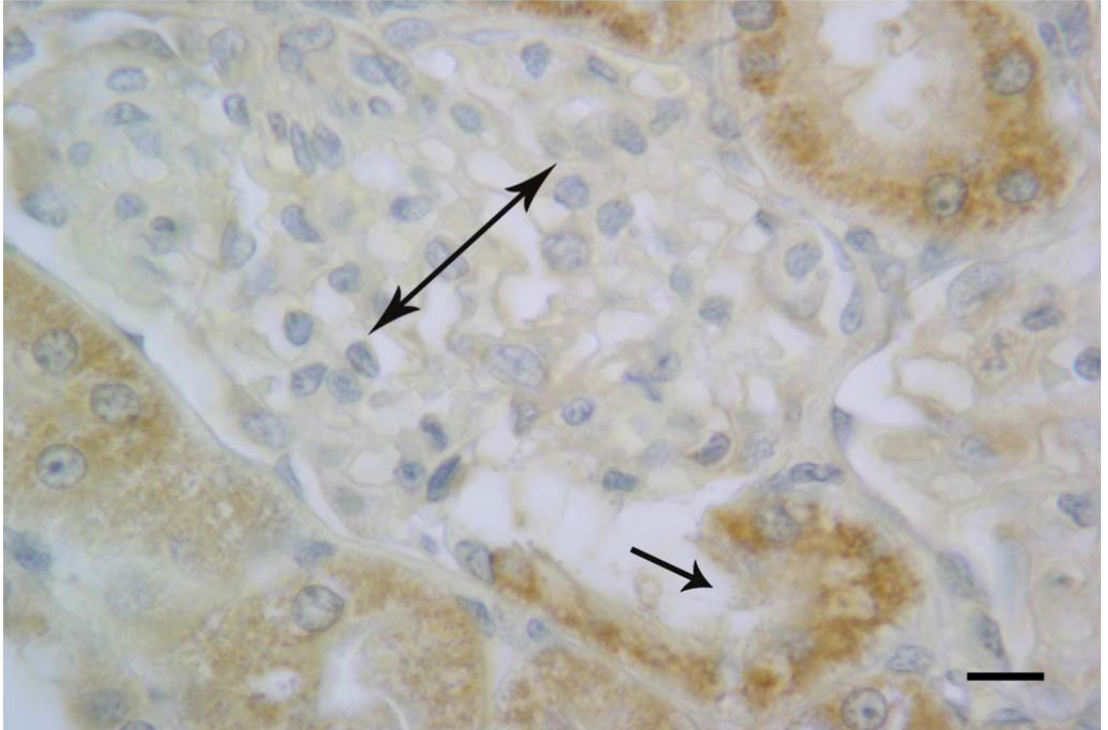
Yapılan immunohistokimyasal incelemede deneme, kontrol ve sham gruplarına ait ratların böbrek dokularında IGF-I immunoreaktivitesinin spesifik olduğu görüldü. Bu immunoreaktivitenin tüm gruplarda sadece sitoplazmik tarzda olduğu belirlendi. Her üç grubun böbrek korteks ve medullasında farklı reaksiyon yoğunluklarında IGF-I immunoreaktivitesi gözlenirken glomeruluslarda, damar endotelinde ve bağ dokuda immunoreaktivite olmadığı görüldü. Deneme, kontrol ve sham gruplarında kortekste tubulus proksimalis ve distalislerde kuvvetli derecede immunoreaktivite tespit edildi. Tüm gruplarda kortekste IGF-I immunoreaktivitesinde bölgelere göre farklılıklar gözlemlendi. Her üç grupta da kapsülün hemen altında bulunan tubulus proksimalis ve tubulus distalislerde çok kuvvetli derecede immunoreaktivite gözlemlendi. Korteksin iç kısmındaki bu tubullerdeki immunoreaktivitenin ise dış kısmındakilere göre daha yoğun olduğu saptandı. Aynı zamanda tubulus distalislerde tubulus proksimalislere göre daha kuvvetli derecede reaksiyon olduğu görüldü (Resim 4.17, 4.18, 4.19). Böbrekteki yapılarda bulunan IGF-I için reaksiyon yoğunlukları Tablo 4.10'da gösterilmiştir.



Resim 4.17. Deneme grubu böbrek dokusunda IGF-I immunoreaktivitesi. A: Kapsül altı bölge, B: Korteksin dış kısmı, C: Korteksin iç kısmı, D: Medulla. Bar: 500 μ m.

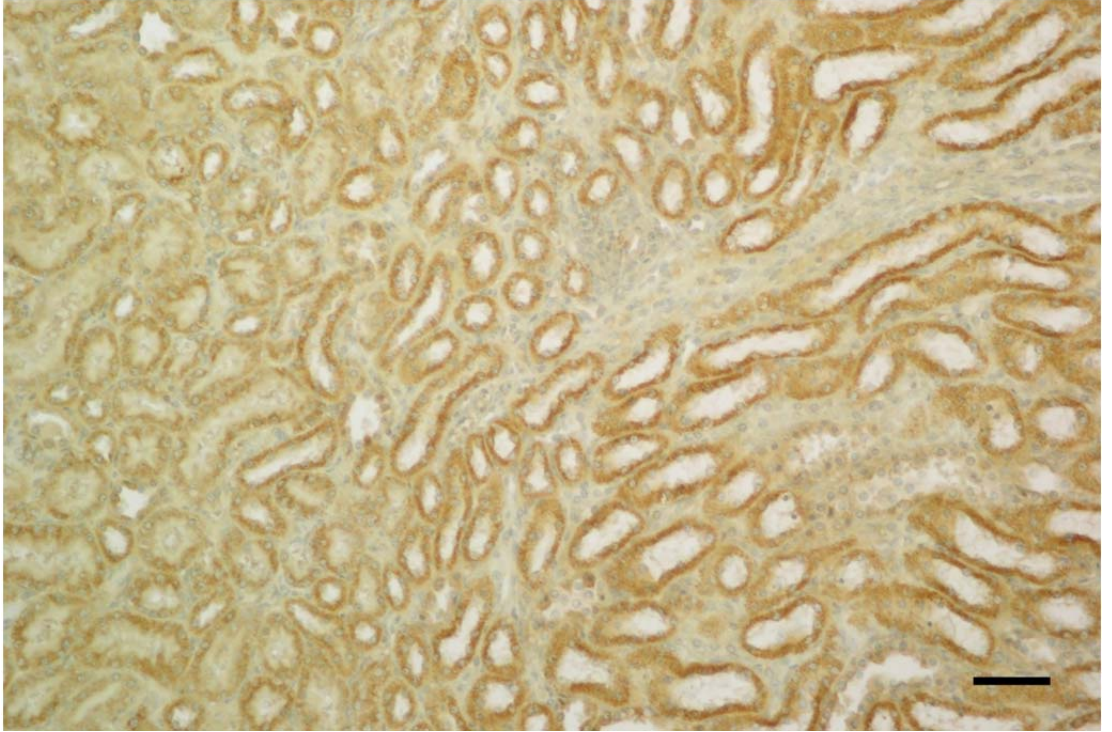


Resim 4.18. Deneme grubu böbrek dokusunda kapsül altı bölgede yoğun IGF-I immunoreaktivitesi. Oklar: Tubulus proksimalis, Ok başı: Tubulus distalis. Bar: 25 μ m.

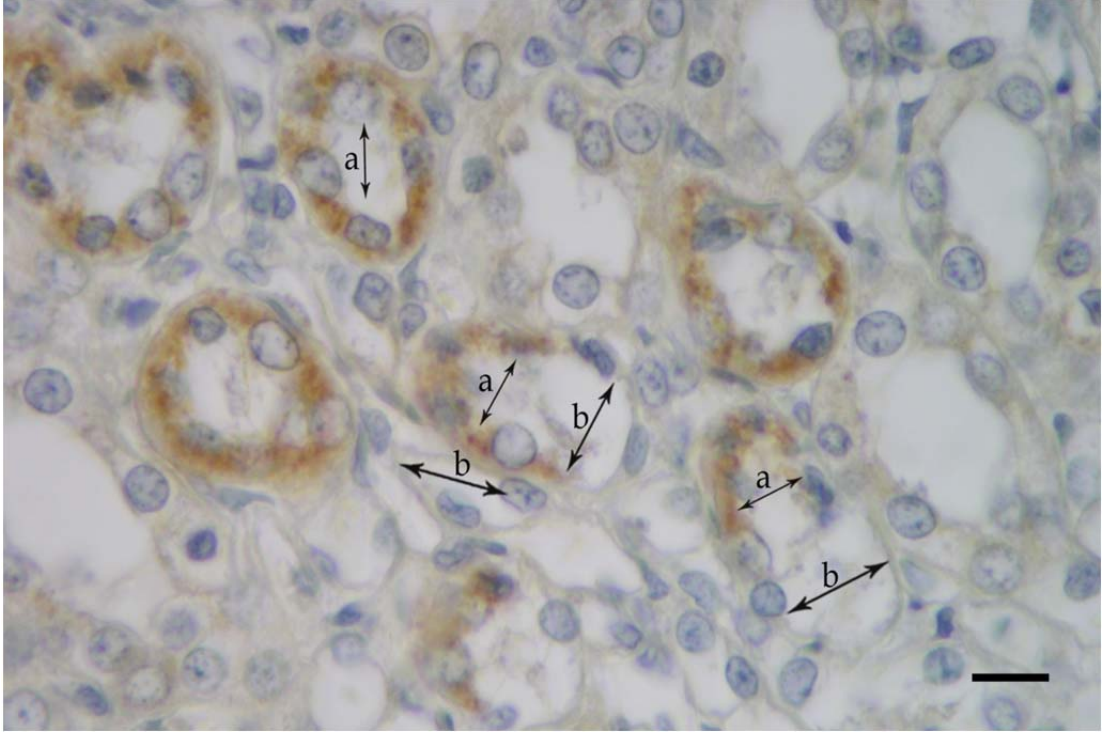


Resim 4.19. Sham grubuna ait dokuda glomerulusda IGF-I immunoreaktivitesi. Ok: Tubulus proksimalisde (idrar kutbu) pozitif immunoreaktivite, Çift yönlü ok: Glomerulusda negatif immunoreaktivite. Bar: 10 μ m.

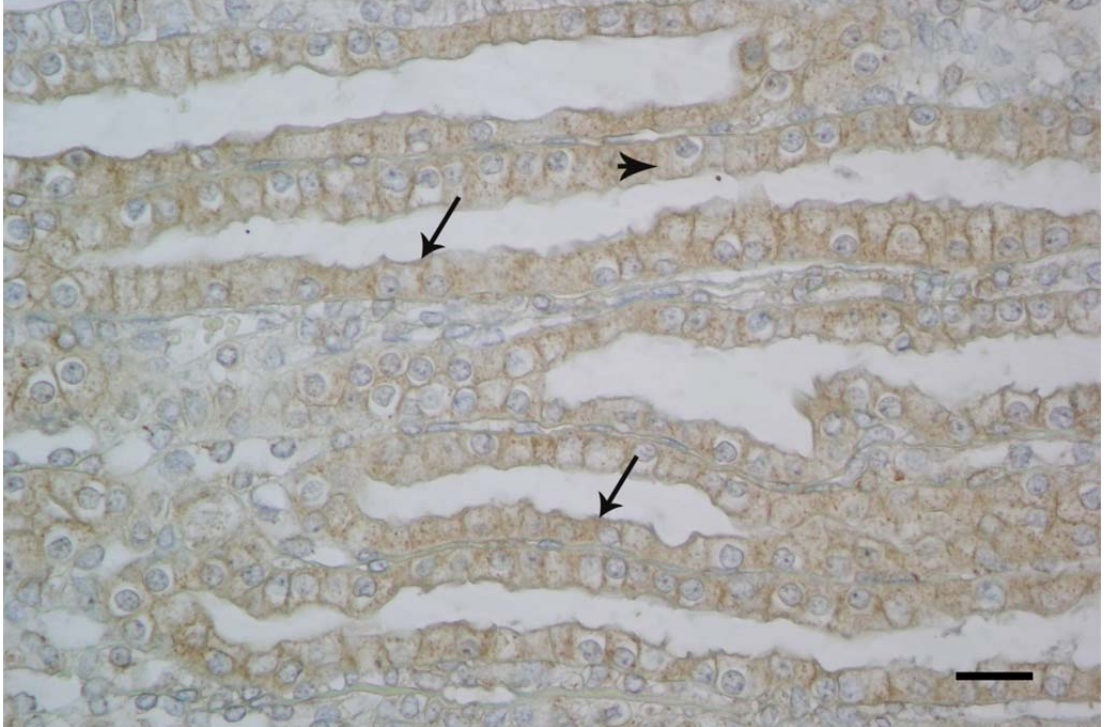
Tüm gruplarda medullaya geçiş bölgelerinde diğer bölgelere göre daha belirgin ve çok daha kuvvetli derecede bir reaksiyon yoğunluğu belirlendi (Resim 4.20). Yine bu üç gruba ait böbrek kesitlerinde medullada bulunan inen henlede reaksiyona rastlanmazken çıkan henlede çok yoğun bir reaksiyonun varlığı dikkati çeken önemli bulgular arasındaydı (Resim 4.21). Deneme, kontrol ve sham gruplarında tubulus kollektivus ve duktus papillarislerde IGF-I immunoreaktivitesinin görülmesi ve immunoreaktivitenin kollektivuslardan duktus papillarisine doğru gidildikçe yoğunluğunun artması yine bu gruplar arasındaki ortak bulgulardandı (Resim 4.22).



Resim 4.20. Kontrol grubu böbrek dokusunda medullaya geçiş bölgesinde yoğun IGF-I immunoreaktivitesi. Bar: 50 μ m.



Resim 4.21. Deneme grubu böbrek dokusunda medullada çıkan henlede IGF-I immunoreaktivitesi. a: Çıkan henlede pozitif immunoreaktivite, b: İnen henlede negatif immunoreaktivite. Bar: 10 μ m.



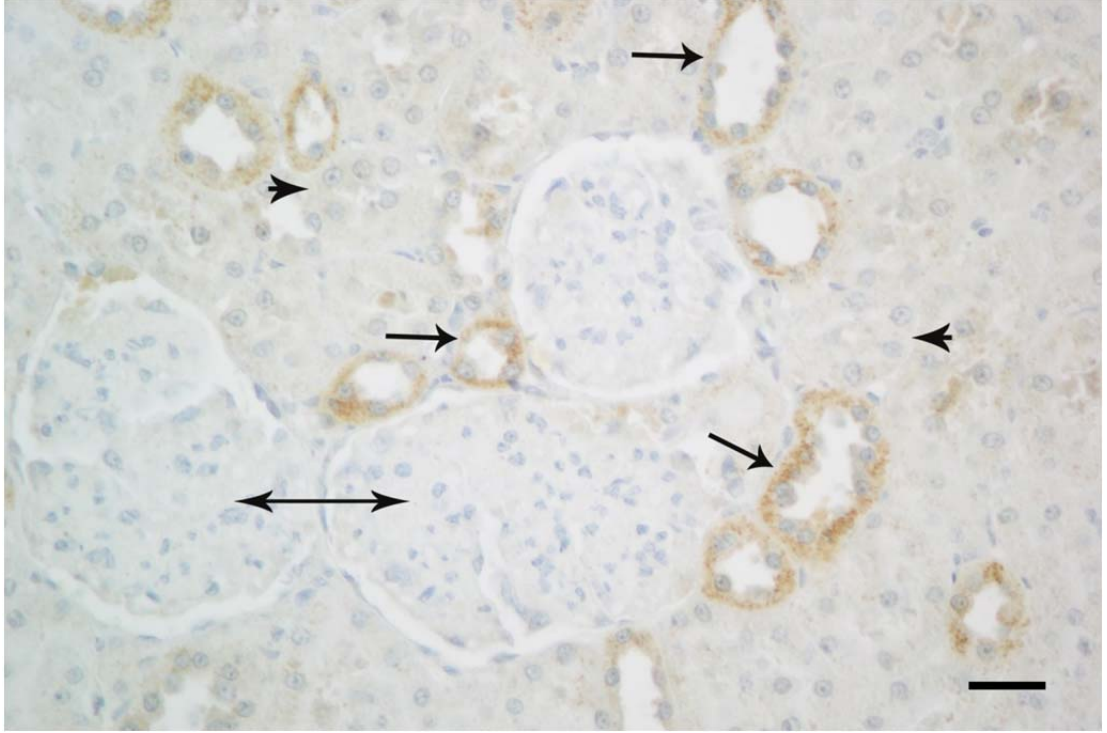
Resim 4.22. Deneme grubu böbrek dokusunda duktus papillariste IGF-I immunoreaktivitesi. Oklar: Duktus papillaris, Ok başı: Sitoplazmik IGF-I immunoreaktivitesi. Bar: 25 μ m.

Kontrol ve sham gruplarına ait doku örneklerinde IGF-I immunoreaktivitesi açısından farklılık gözlenmedi. Deneme grubuna ait doku örnekleri ile kontrol ve sham grupları arasında farklılık olduğu tespit edildi. Kontrol ve sham grubunun örneklerinde hem iç hem de dış kortekste bulunan tubulus proksimalislerin zayıf derecede reaksiyon göstermesine karşın deneme grubuna ait doku örneklerinde bu tubullerin daha yoğun reaksiyon verdiği görüldü (Resim 4.23, 4.24). Ayrıca kontrol ve sham grubuna ait bu örneklerde iç korteksteki tubulus proksimalisler neredeyse yok denecek kadar zayıf reaksiyon verirken aynı bölgedeki tubulus distalislerin ise kuvvetli derecede reaksiyon verdiği tespit edildi (Resim 4.23). Deneme grubunda iç kortekste bulunan tubulus proksimalisler ve distalisler arasında ise belirgin bir farklılık olmadığı gözlemlendi (Resim 4.24).

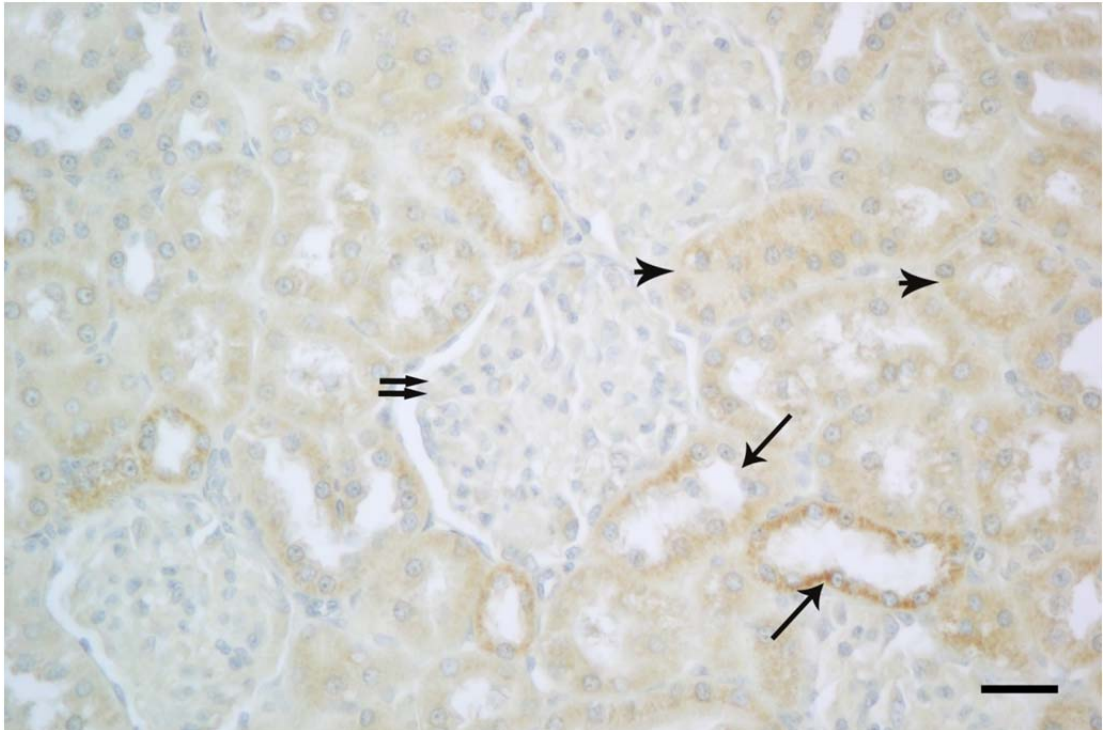
Kontrol ve sham gruplarında tubulus kollektivuslardaki immunoreaktivitenin zayıf olmasına karşın deneme grubundaki bu tubullerde daha yoğun bir immunoreaktivite gözlenmesi önemli bir farklılıktı. Ayrıca tüm gruplarda tubulus kollektivusları oluşturan epitel hücreleri arasında yoğun IGF-I immunoreaktivitesi gösteren tek tek hücreler belirlendi (Resim 4.25, 4.26).

Tablo 4.10. Böbrekteki yapılar ve IGF- I için reaksiyon yoğunluğu.

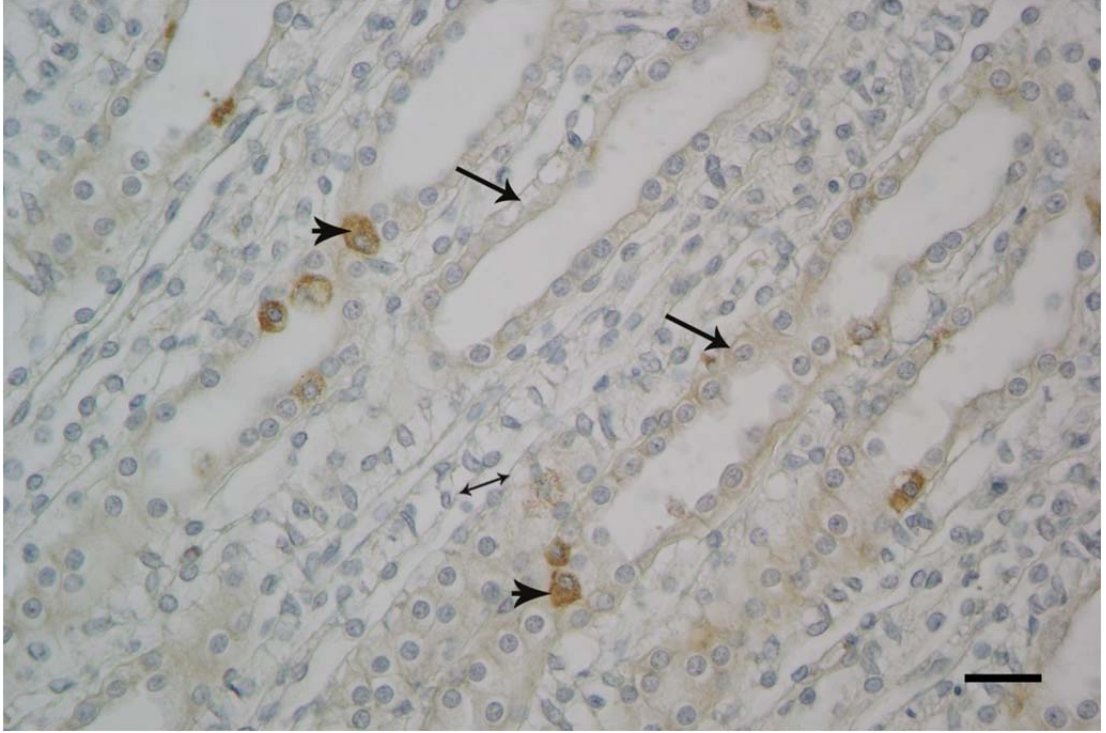
Böbrekteki Yapılar	Reaksiyon Yoğunluğu		
	Kontrol Grubu	Sham Grubu	Deneme Grubu
Glomerulus	0	0	0
Kapsül altı bölgesinde Tubulus proksimalis	+3	+3	+3
Dış korteks bölgesinde Tubulus proksimalis	0,+1	0,+1	+2,+3
İç korteks bölgesinde Tubulus proksimalis	0,+1	0,+1	+2,+3
İnen henle kulpu	0	0	0
Çıkan henle kulpu	+3	+3	+3
Tubulus distalis	+3	+3	+3
Tubulus kollektivus	+1	+1	+2,+3
Tubulus kollektivusda reaksiyon gösteren hücreler	+3	+3	+3
Duktus papillaris	+1,+2	+1,+2	+1,+2



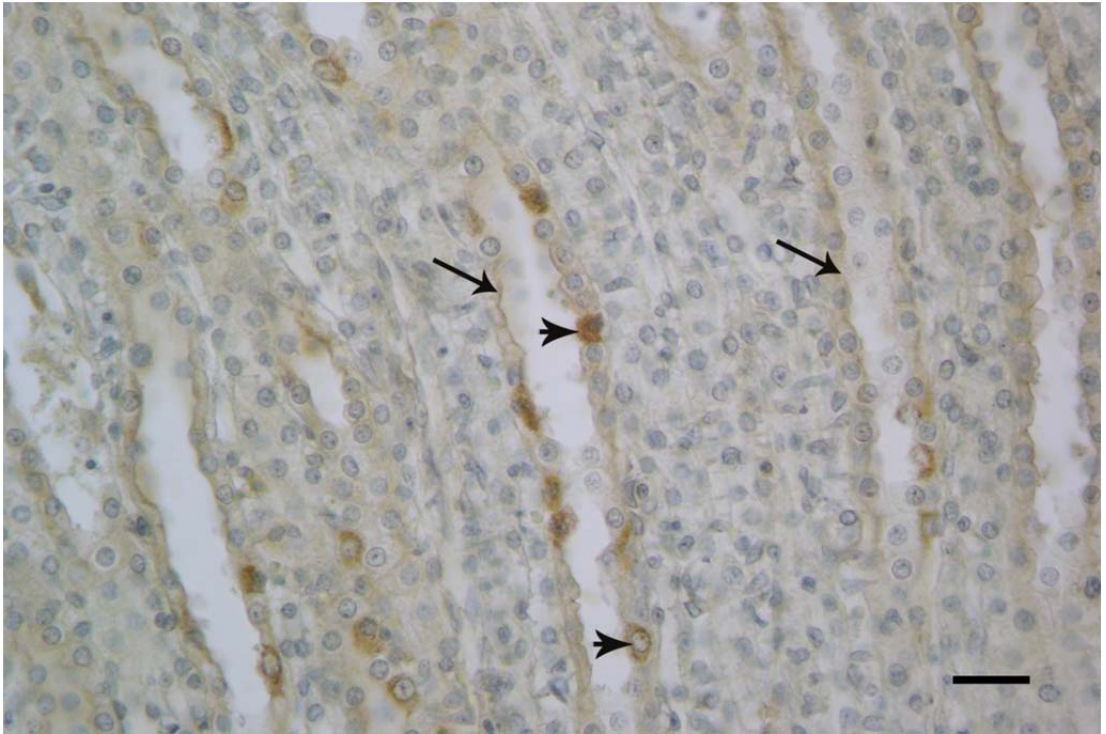
Resim 4.23. Kontrol grubu böbrek dokusunda dış kortekste IGF-I immunoreaktivitesi. Oklar: Tubulus distalisde yoğun immunoreaktivite, Ok başı: Tubulus proksimalisde zayıf immunoreaktivite, Çift yönlü ok: Glomerulusda negatif immunoreaktivite. Bar: 25 μ m.



Resim 4.24. Deneme grubu böbrek dokusunda dış kortekste IGF-I immunoreaktivitesi. Oklar: Tubulus distalisde yoğun immunoreaktivite, Ok başı: Tubulus proksimalisde orta derecede immunoreaktivite, Çift ok: Glomerulusda negatif immunoreaktivite. Bar: 25 μ m.



Resim 4.25. Kontrol grubunda tubulus kolektifuslarda IGF-I immunoreaktivitesi. Oklar: Tubulus kolektifuslarda zayıf immunoreaktivite, Ok başı: Sitoplazmik yoğun immunoreaktivite gösteren tek tek hücreler, Çift yönlü ok: İnen henlede negatif immunoreaktivite. Bar: 25 μ m.



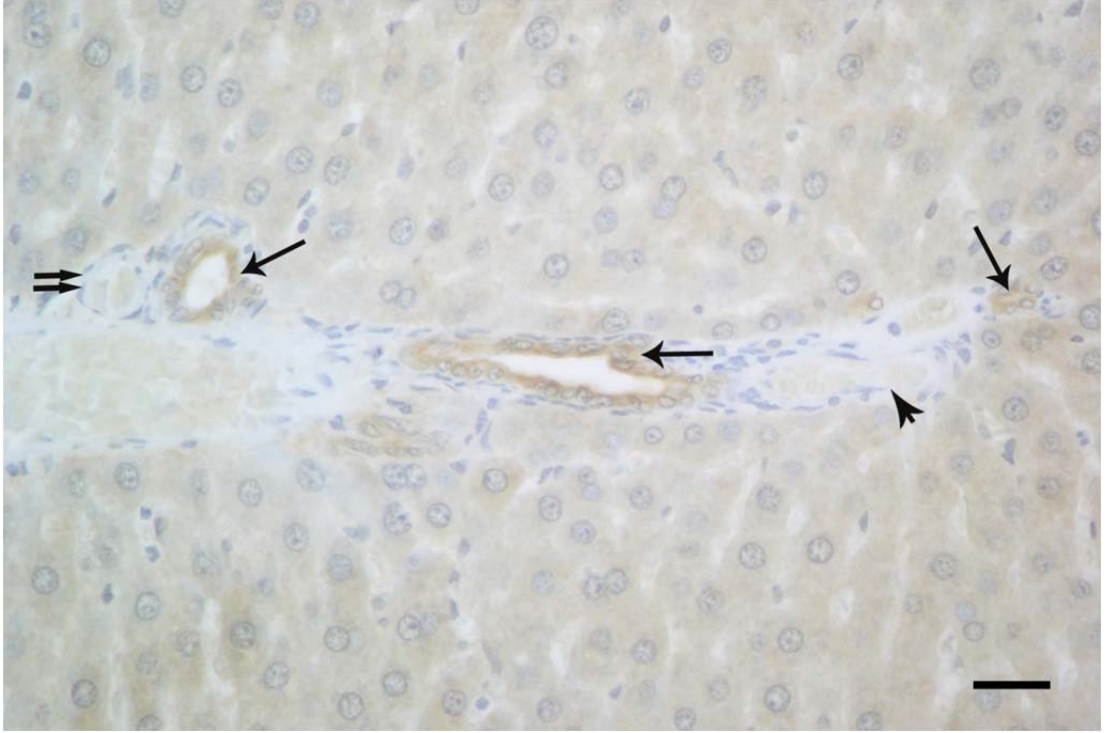
Resim 4.26. Deneme grubunda tubulus kolektifuslarda IGF-I immunoreaktivitesi. Oklar: Tubulus kolektifuslarda kuvvetli immunoreaktivite, Ok başı: Sitoplazmik yoğun immunoreaktivite gösteren tek tek hücreler. Bar: 25 μ m.

4.5.3. Karaciğerde Ghrelinin İmmunohistokimyasal Bulguları

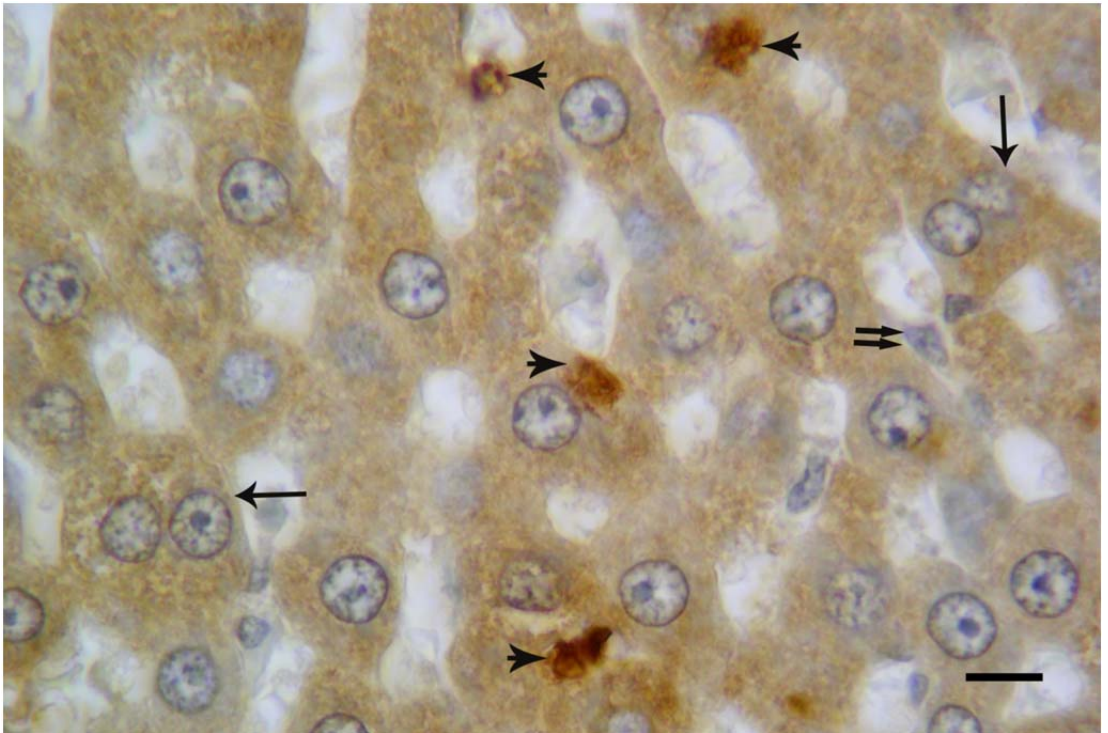
Kontrol, sham ve deneme grubunda karaciğer doku örneklerinin incelemesinde, Kupffer hücrelerinde ve endotel hücrelerinde ghrelinin immunoreaktivitesi gözlenmezken, hepatositlerde yoğun reaksiyon görüldü. Bütün gruplarda hepatositlerde nükleer tarzda bir ghrelinin immunoreaktivitesinin olmadığı, sadece sitoplazmik tarzda immunoreaktivite olduğu, bazı hepatositlerde ise hiç reaksiyon olmadığı saptandı. Grupların hepsinde çift çekirdekli hepatositlerde de aynı tarzda sitoplazmik reaksiyon olduğu görüldü. Kontrol, sham ve deneme grubu doku örneklerinde Kiernan aralığında bulunan üçlü yapıdan sadece duktus biliferusta ve sitoplazmik tarzda bir immunoreaktivite gözlenmesi gruplarda dikkati çeken benzer bulgular arasındaydı. Ayrıca üç grupta da duktus biliferustaki bu immunoreaktivitenin kuvvetli derecede bir reaksiyon olduğu görüldü. Tüm gruplarda immunoreaktivitenin özellikle vena sentralisler etrafındaki hepatositlerde kuvvetli olduğu, bu alanların dışındaki kısımlarda ise daha zayıf reaksiyon verdiği gözlemlendi. İncelenen örneklerde her üç grupta da vena sentralisler etrafında merkezde bulunan hepatositlerden periferdeki hepatositlere doğru gidildikçe ghrelinin immunoreaktivitesinin yoğunluğunun azaldığı saptandı. Ayrıca tüm gruplarda bazı bağdoku alanlarında da reaksiyon olduğu görüldü (Resim 4.27, 4.28).

Tablo 4.11. Karaciğerdeki yapılar ve ghrelinin için reaksiyon yoğunluğu.

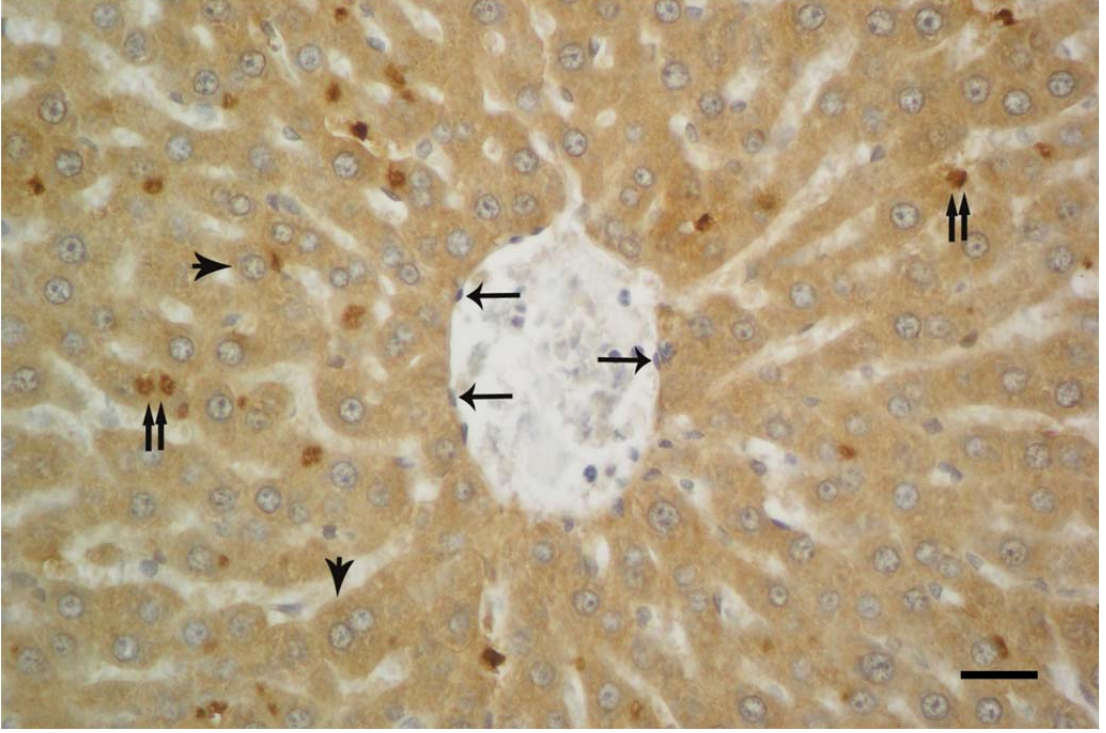
Karaciğerdeki Yapılar	Reaksiyon Yoğunluğu		
	Kontrol Grubu	Sham Grubu	Deneme Grubu
Bağ doku	+2,+3	+2,+3	+2,+3
Endotel hücreleri	0	0	0
Kupffer hücreleri	0	0	0
Duktus biliferus	0,+3	0,+3	0,+3
Kiernan aralığı çevresindeki hepatositler	0,+1,+2	0,+1,+2	0,+1
Vena sentralis çevresindeki hepatositler	+2,+3	+2,+3	+2,+3
Diğer alanlardaki hepatositler	0,+1,+2	0,+1,+2	0,+1,+2
Hepatosit sitoplazması içinde reaksiyon veren yapı	+3	+3	+3



Resim 4.27. Kontrol grubunda Kiernan aralığı bölgesinde ghrelin immunoreaktivitesi. Oklar: Duktus biliferus, Ok başı: Vena interlobularis, Çift ok: Arteriya hepatica. Bar: 25 µm.



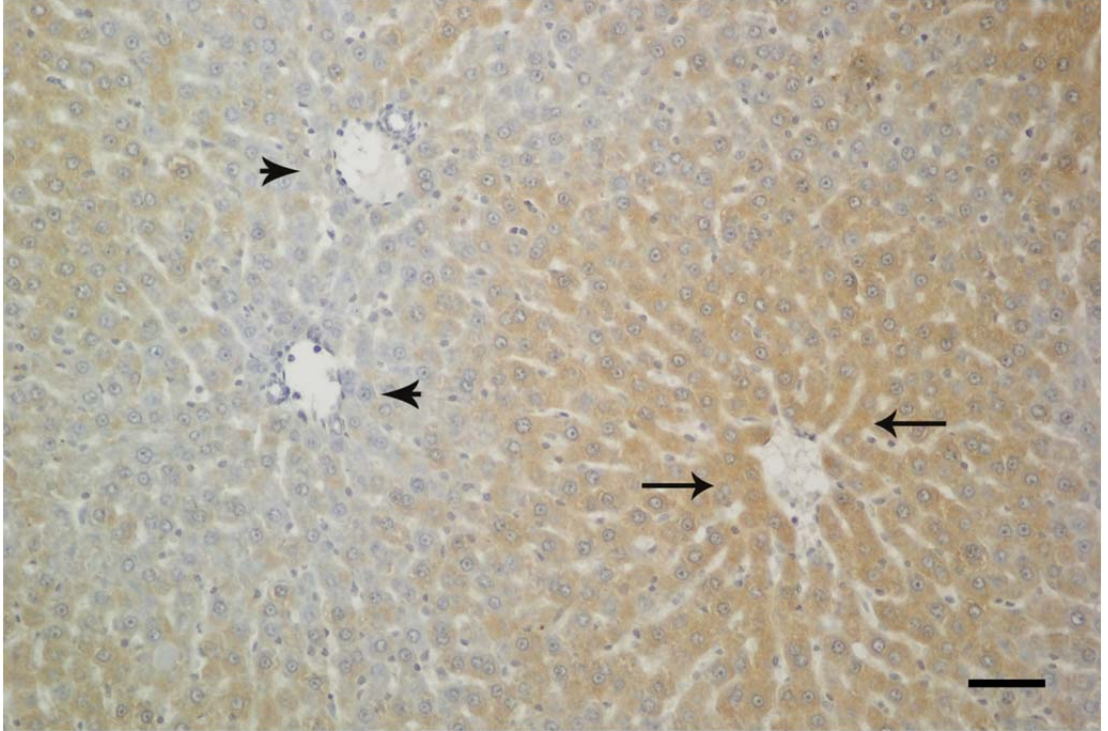
Resim 4.28. Sham grubu karaciğer hepatositlerinde ghrelin immunoreaktivitesi. Oklar: Çift çekirdekli hepatositde sitoplazmik pozitif immunoreaktivite, Ok başı: Hepatosit sitoplazmasında yoğun reaksiyon veren yapılar, Çift ok: Kupffer hücresinde negatif immunoreaktivite. Bar: 10 µm.



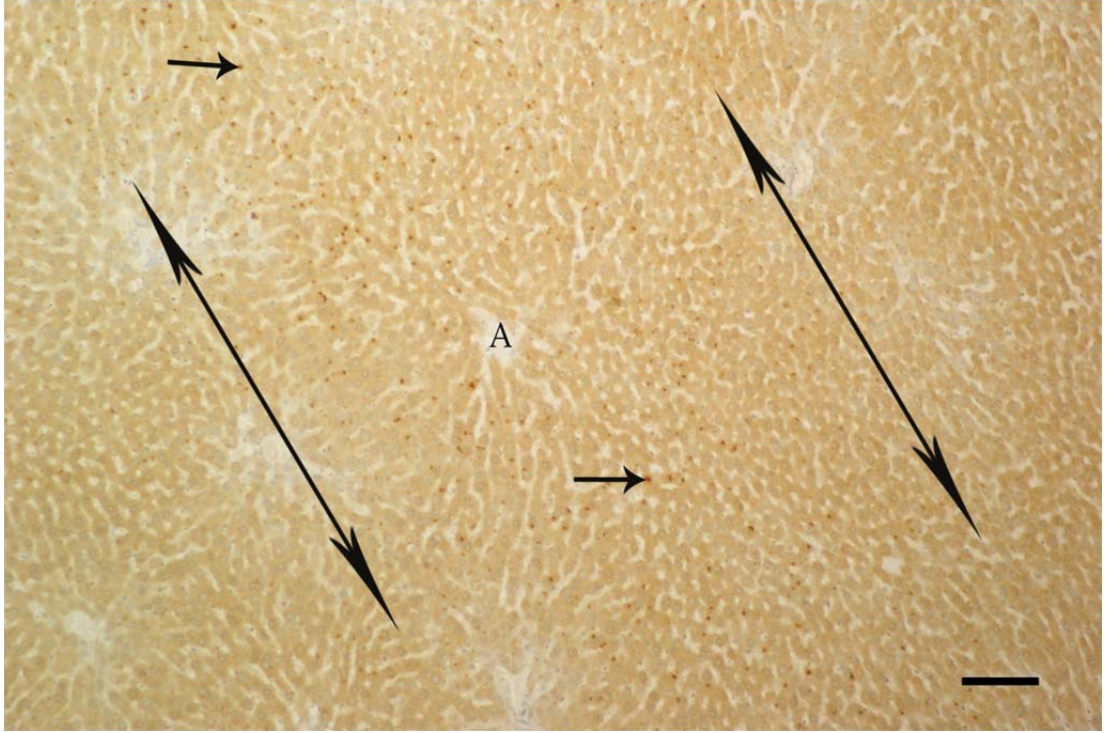
Resim 4.29. Deneme grubuna ait karaciğer dokusunda ghrelin immunoreaktivitesi. Oklar: Endotel hücresi, Ok başı: Hepatositler, Çift ok: Hepatosit sitoplazmasında immunoreaktivite gösteren yapılar. Bar: 25 µm.

Kontrol, sham ve deneme gruplarında vena sentralis ve Kiernan aralığı etrafında, az sayıda da bu alanların dışında kalan kısımlarda bulunan hepatositlerin sitoplazması içinde kuvvetli derecede reaksiyon veren yapıların olması dikkati çeken bulgular arasındaydı (Resim 4.29). Yine bu kısımlarda bulunan bazı hepatositlerin sitoplazmalarında da bu immunoreaktivitenin görülmediği gözlemlendi. Ayrıca her üç grupta da dokudaki bu yapıların belirli bölgelerde odaklar halinde olduğu dikkati çekti (Resim 4.31).

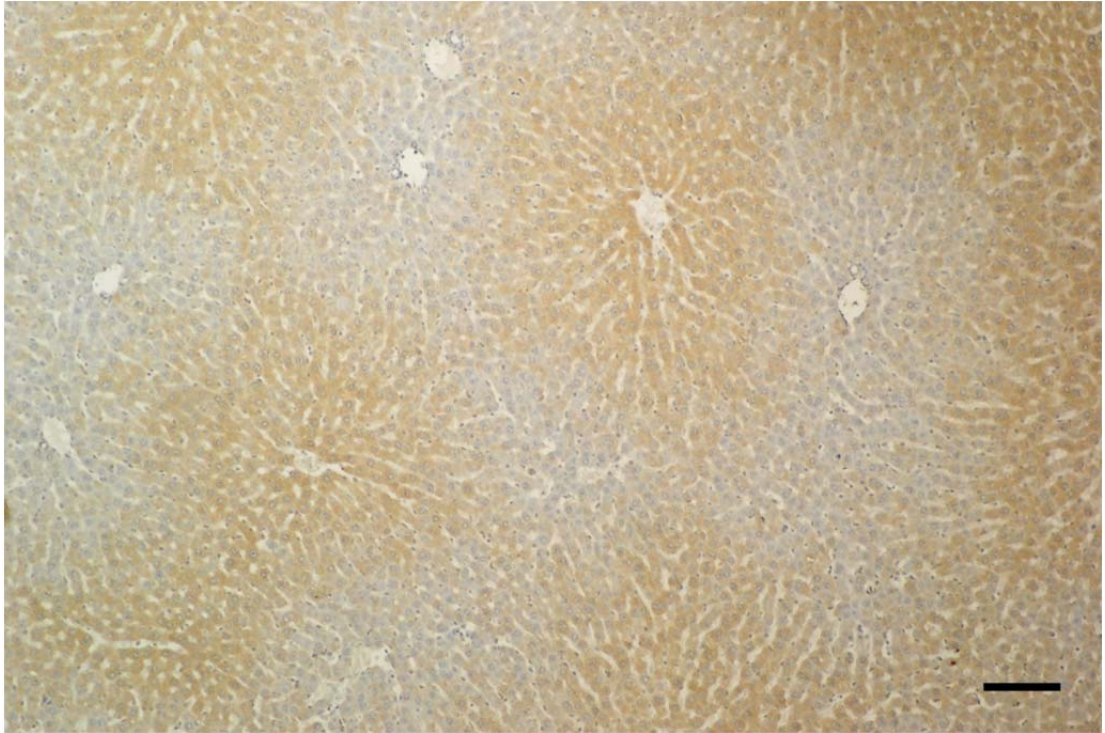
Kontrol ve sham gruplarına ait karaciğer kesitlerinde ghrelin immunoreaktivitesi açısından farklılık gözlenmezken deneme grubuna ait doku örnekleri ile diğer iki grup arasında farklılık olduğu tespit edildi. Kontrol ve sham grubunda Kiernan aralığının etrafında bulunan hepatositlerin büyük çoğunluğunda orta ve zayıf derecede reaksiyon gözlenirken deneme grubunda ise bu bölgedeki hepatositlerin çok az bir kısmında zayıf derecede immunoreaktivite, hemen hemen tamamına yakınında ise hiç reaksiyona rastlanmadı (Resim 4.30, 4.32).



Resim 4.30. Deneme grubu karaciğer dokusunda ghrelin immunoreaktivitesinin durumu. Oklar: Vena sentralis etrafında yoğun immunoreaktivite, Ok başı: Kiernan aralığı etrafında çok zayıf immunoreaktivite. Bar: 50 μ m.



Resim 4.31. Kontrol grubu karaciğer dokusunda ghrelin immunoreaktivitesi. A: Vena sentralis, Çift yönlü oklar: İki ok arasında kalan bölgedeki hepatositlerin sitoplazması içinde çok kuvvetli immunoreaktivite gösteren yapılar, Oklar: İmmunoreaktivite gösteren yapılar. Bar: 100 μ m.



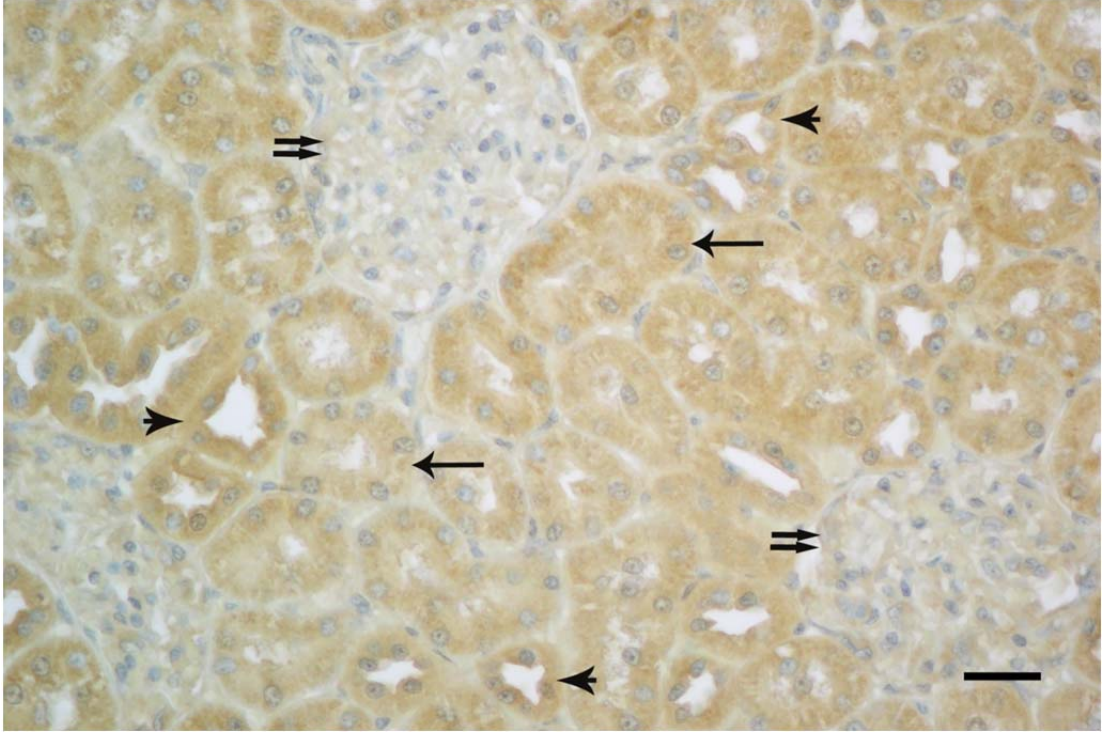
Resim 4.32. Deneme grubu karaciğer dokusunda lopçuklarda yoğun, Kiernan aralığı bölgelerinde zayıf ghrelin immunoreaktivitesi. Bar: 100 μ m.

4.5.4. Böbrekde Ghrelinin İmmunohistokimyasal Bulguları

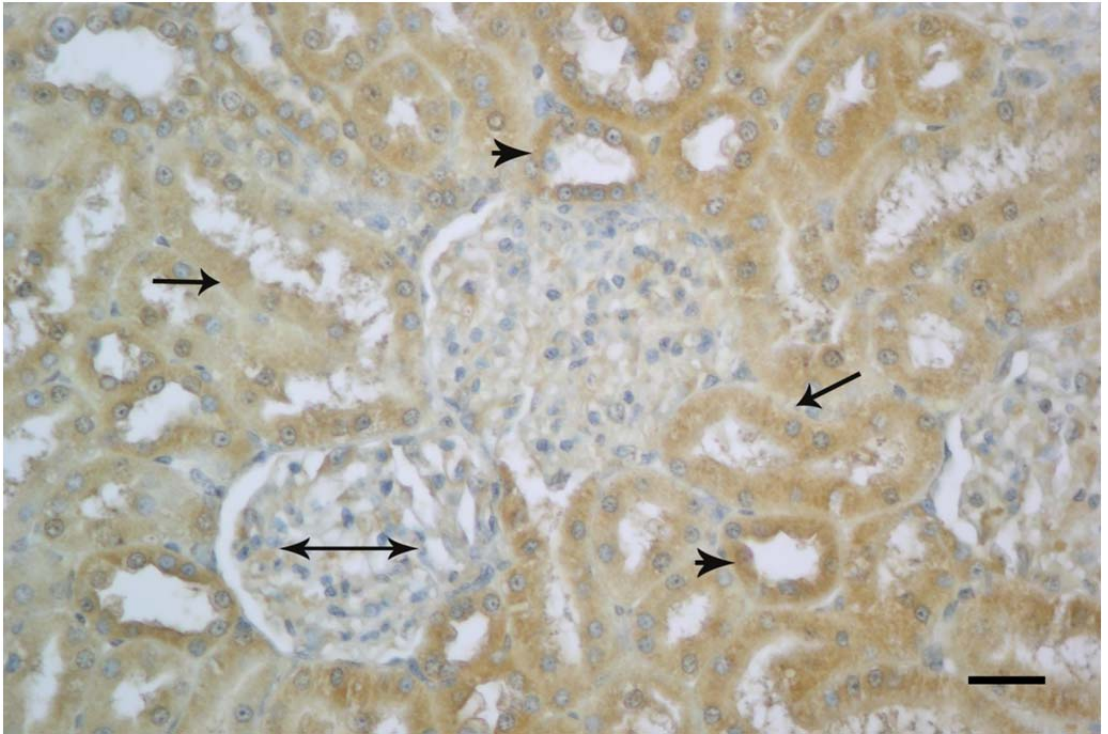
Kontrol, sham ve deneme grubu böbreklerinin korteks ve medullasında sadece sitoplazmik tarzda bir IGF-I immunoreaktivitesi olduğu tespit edildi. Kontrol, sham ve deneme gruplarında böbrek kapsülünün hemen altında bulunan, korteksteği tubulus proksimalis ve tubulus distalislerde yoğun derecede ghrelin immunoreaktivitesi gözlemlendi. Her üç grupta da glomeruluslarda immunoreaktivite belirlenmezken, tubulus proksimalis ve distalislerde ise kuvvetli derecede immunoreaktivite tespit edildi (Resim 4.33, 4.34). Ayrıca bu üç gruba ait ratların doku örneklerinde tubulus distalislerde tubulus proksimalislere göre daha kuvvetli derecede reaksiyon yoğunluğu saptandı. Bütün gruplarda medullaya geçiş kısımlarında diğer bölgelere göre daha belirgin ve çok daha kuvvetli derecede bir reaksiyon saptandı. Ayrıca bu geçiş bölgesindeki özellikle tubulus distalislerin diğer kısımlarda bulunan distalislere göre çok daha yoğun reaksiyon verdiği gözlemlendi. Böbrekteki yapılarda bulunan reaksiyon yoğunlukları Tablo 4.12’de gösterilmiştir.

Tablo 4.12. Böbrekteki yapılar ve ghrelin için reaksiyon yoğunluğu.

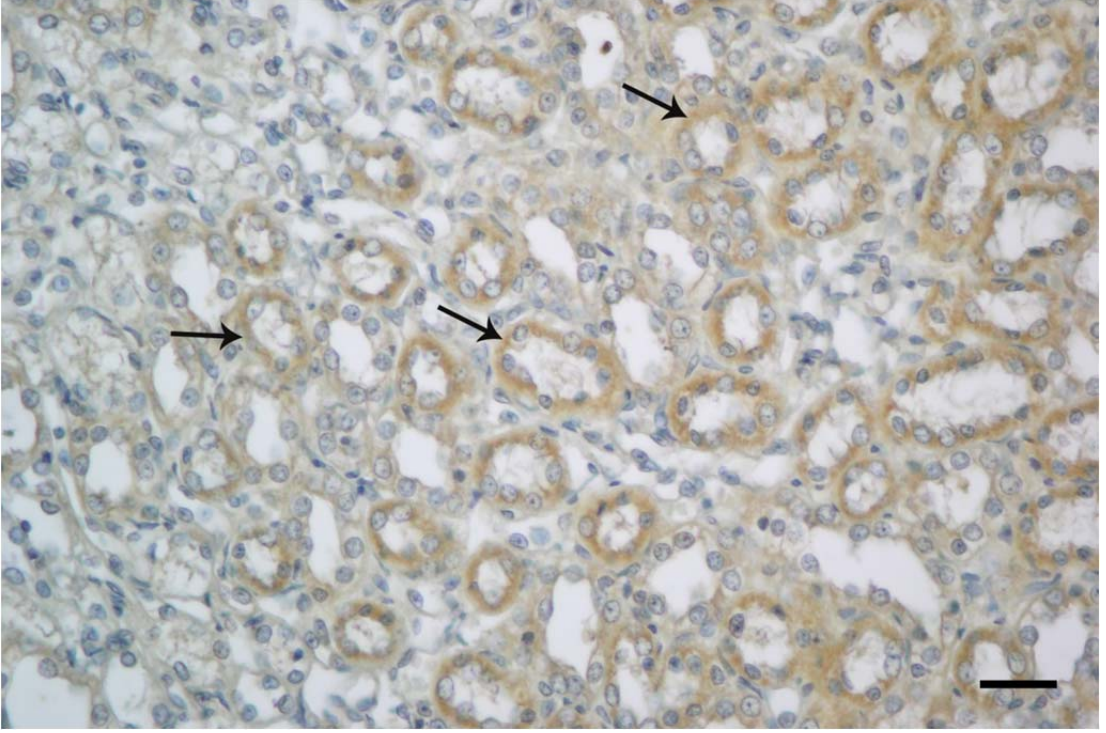
Böbrekteki Yapılar	Reaksiyon Yoğunluğu		
	Kontrol Grubu	Sham Grubu	Deneme Grubu
Glomerulus	0	0	0
Kapsül altı bölgesinde Tubulus proksimalis	+3	+3	+3
Dış korteks bölgesinde Tubulus proksimalis	+1,+2	+1,+2	+1,+2
İç korteks bölgesinde Tubulus proksimalis	+1,+2	+1,+2	+1,+2
İnen henle kulpu	+1,+2	+1,+2	0
Çıkan henle kulpu	+3	+3	+3
Tubulus distalis	+3	+3	+3
Tubulus kollektivus	+3	+3	+1
Duktus papillaris	+3	+3	+1,+2



Resim 4.33. Kontrol grubu böbrek dokusunda ghrelin immunoreaktivitesi. Oklar: Tubulus proksimalis, Ok başı: Tubulus distalis, Çift ok: Glomerulus. Bar: 25 μ m.

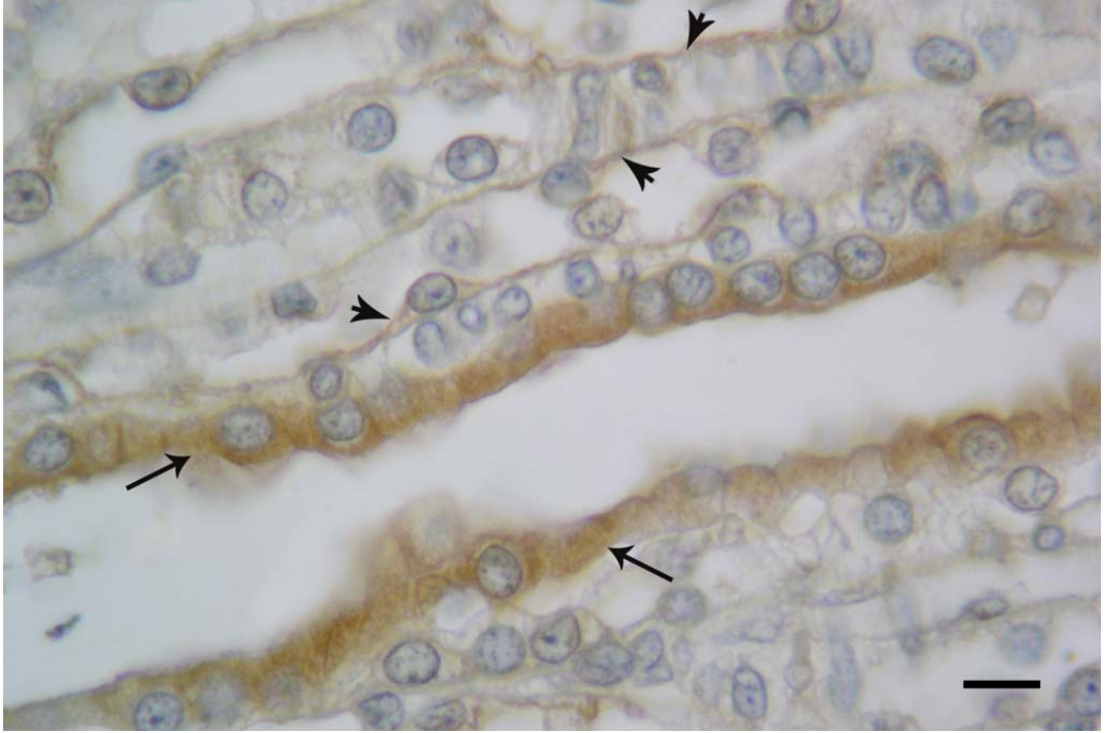


Resim 4.34. Deneme grubu böbrek dokusunda ghrelin immunoreaktivitesi. Oklar: Tubulus proksimalis, Ok başı: Tubulus distalis, Çift yönlü ok: Glomerulus. Bar: 25 μ m.

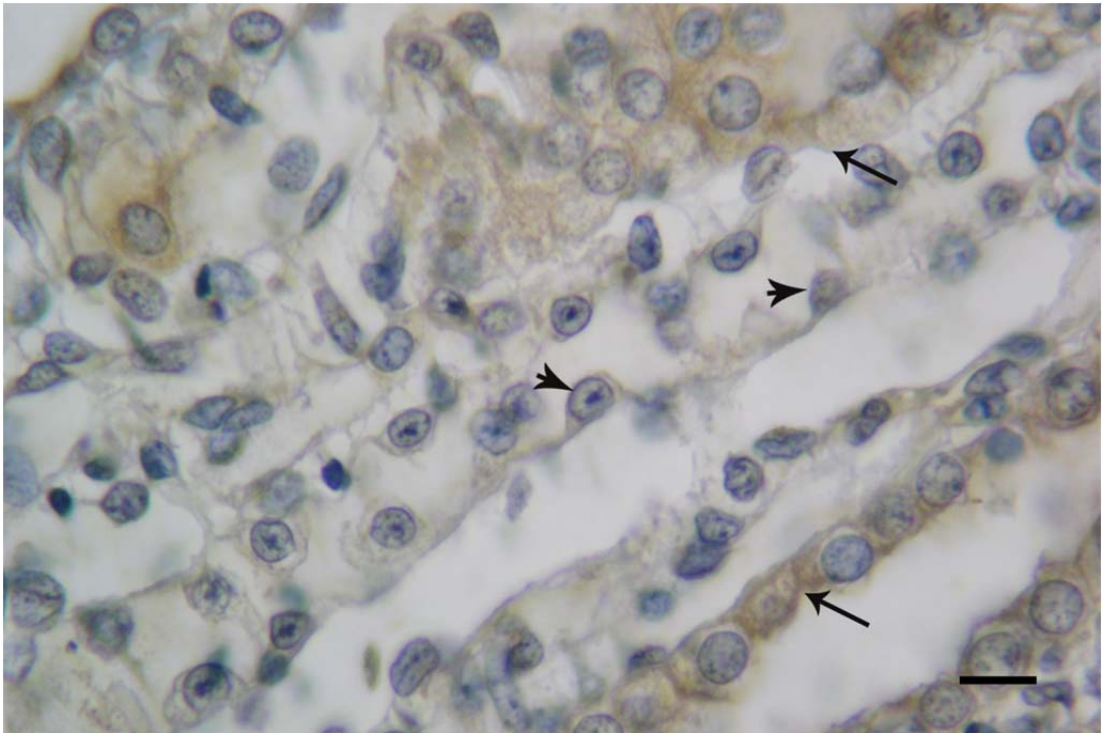


Resim 4.35. Deneme grubu böbrek dokusunda korteks-medulla sınırı bölümündeki ghrelin immunoreaktivitesi. Oklar: Çıkan henle kulpu. Bar: 25 μ m.

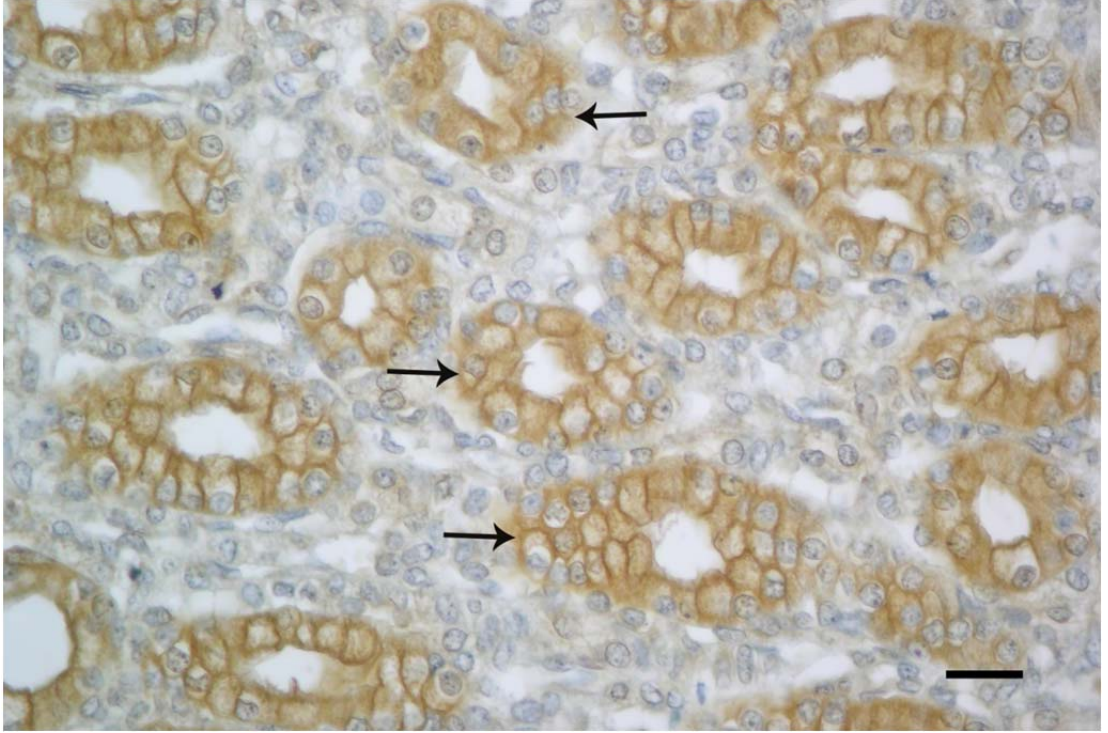
Kontrol ve sham gruplarına ait böbrek kesitlerinde ghrelin immunoreaktivitesi açısından farklılık görülmedi. Deneme grubuna ait doku örnekleri ile diğer iki grup arasında ise farklılık olduğu tespit edildi. Deneme grubunda medullada bulunan inen henlede ghrelin immunoreaktivitesi gözlenmemesine karşın kontrol ve sham gruplarının her ikisinde de inen henle bölümünde ghrelin immunoreaktivitesi saptandı. Ayrıca kontrol, sham ve deneme gruplarında çıkan henle bölümlerinde kuvvetli derecede ghrelin immunoreaktivitesinin olması dikkat çekiciydi (Resim 4.35, 4.36, 4.37).



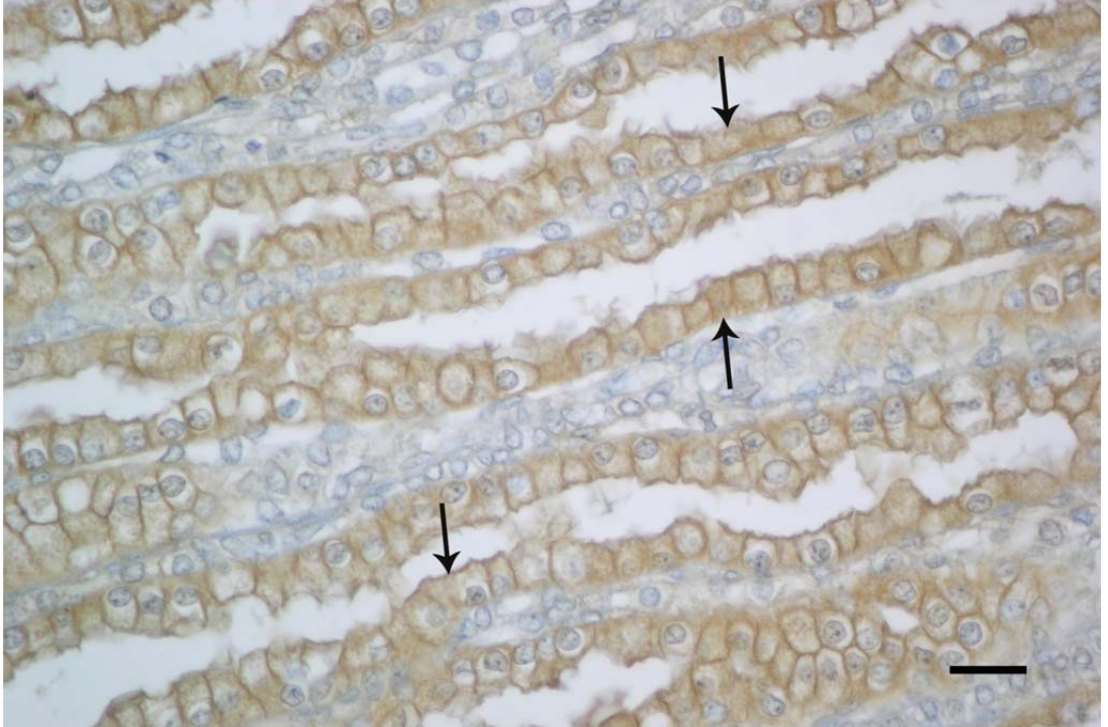
Resim 4.36. Kontrol grubu böbrek dokusunda medullada ghrelin immunoreaktivitesi. Oklar: Tubulus kolektivuslarda yoğun immunoreaktivite, Ok başı: İnen henlede pozitif immunoreaktivite. Bar: 10 μ m.



Resim 4.37. Deneme grubu böbrek dokusunda medullada ghrelin immunoreaktivitesi. Oklar: Tubulus kolektivuslarda zayıf immunoreaktivite, Ok başı: İnen henlede negatif immunoreaktivite. Bar: 10 μ m.



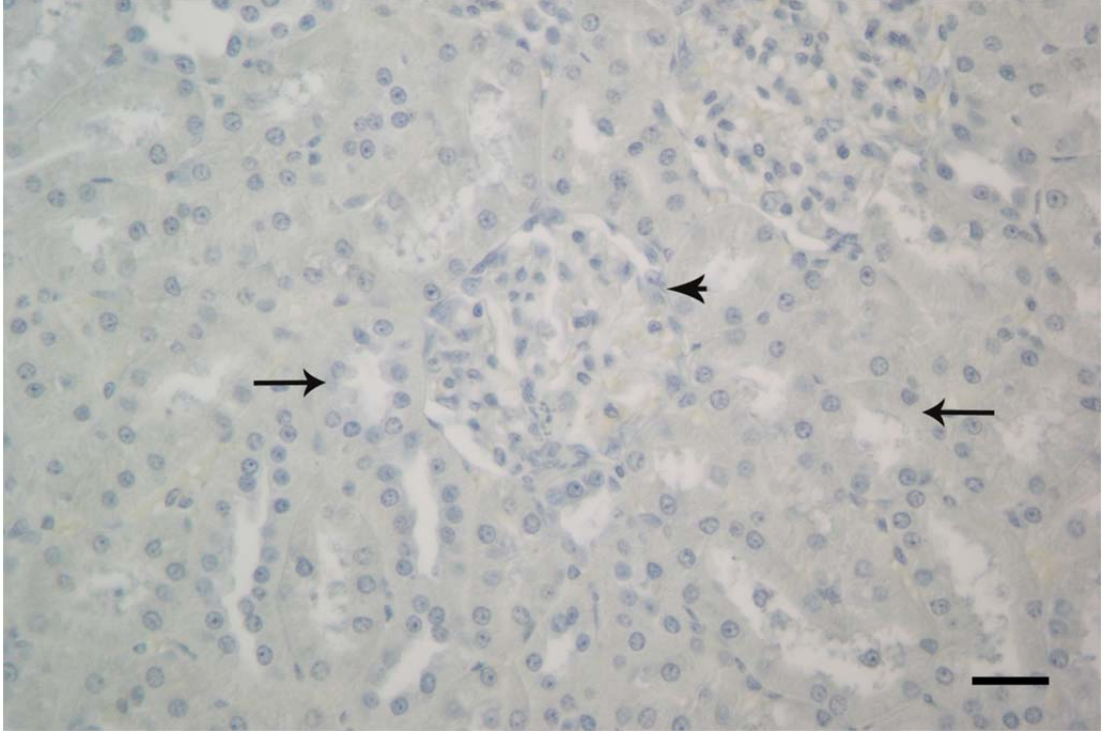
Resim 4.38. Sham grubu böbrek dokusunda duktus papillariste yoğun ghrelin immunoreaktivitesi. Oklar: Duktus papillaris. Bar: 25 μ m.



Resim 4.39. Deneme grubu böbrek dokusunda duktus papillariste orta derece yoğunlukta ghrelin immunoreaktivitesi. Oklar: Duktus papillaris. Bar: 25 μ m.

Kontrol, sham ve deneme gruplarında medullada tubulus kollektivus ve duktus papillarislerde ghrelin immunoreaktivitesi gözlemlendi. İmmunoreaktivitenin kollektivuslardan duktus papillarisine doğru gidildikçe artış göstermesi yine bu gruplar arasındaki ortak bulgulardandı. Kontrol ve sham grubundaki tubulus kollektivus ve duktus papillarislerdeki immunoreaktivitenin deneme grubuna göre daha yoğun olması bu gruplar arasındaki önemli bir farklılıktı (Resim 4.38, 4.39).

Çalışmada kullanılan tüm gruplardan alınan karaciğer ve böbrek kesitlerinde ghrelin immunoreaktivitesinin spesifik olup olmadığını tespit etmek amacıyla yapılan negatif kontrollerde ghrelin immunoreaktivitesinin olmadığı gözlemlendi (Resim 4.40).



Resim 4.40. Kontrol grubu böbrek dokusunda negatif ghrelin immunoreaktivitesi (Negatif kontrol). Oklar: Böbrek tubulleri, Ok başı: Glomerulus. Bar: 25 μ m.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışma her geçen gün önemi artan antioksidan maddelerden biri olan melatoninin eksojen uygulamasının ghrelin ve insülin benzeri büyüme faktörü-I'i (IGF-I) nasıl etkilediğini incelemek amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, erişkin erkek ratlara 3 hafta boyunca her gün melatonin uygulaması yapılmış ve sonrasında canlı ağırlık, karaciğer ve böbrek ağırlığındaki değişiklikler belirlenmiştir. Bununla beraber karaciğer ve böbrek dokusundaki histolojik değişiklikler incelenmiş, Ghrelin hormonu ve IGF-I'in dokulardaki immunohistokimyasal lokalizasyonu araştırılmıştır.

Yapılan birçok çalışmada melatoninin çeşitli etkilerini incelemek amacıyla farklı doz ve sürelerde melatonin uygulaması yapıldığı görülmüştür. Oner ve arkadaşları (81) karbontetraklorid ile oluşturulmuş karaciğer hasarında immunohistokimyasal olarak melatoninin IGF-I üzerine etkisini belirlemek amacıyla ratlara 1 ay boyunca, bir gün arayla 25 mg/kg dozunda subkutan enjeksiyon ile melatonin uygulamışlardır. Mauriz ve arkadaşları (70) yaptıkları çalışmada genç ve yaşlı rat karaciğerlerinde melatoninin antioksidan enzimlerin gen ekspresyonu ve aktivitesi üzerine olan etkisini incelemek amacıyla 4 hafta boyunca 20 mg/L dozunda melatonin içme sularına katmışlardır. Vardı ve arkadaşları (113) deneysel diyabetin karaciğerde meydana getirdiği histolojik değişiklikler üzerine melatoninin iyileştirici etkilerini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada ratlara 8 hafta boyunca 10 mg/kg (i.p.) dozda melatonin uygulamışlardır. Çolakoğlu ve arkadaşları (27) sigaranın karaciğerde oluşturduğu yapısal değişiklikler üzerine melatonin ve C vitamininin etkilerini araştırmak amacıyla ratlara 3 ay süresince 4 mg/kg (i.p.) dozda melatonin uygulaması yapmışlardır. Koral Taşçı (58), fare karaciğerinde melatoninin eksojen uygulamasının glutatyon peroksidaz enzimine etkisini incelemek amacıyla farelere 4 hafta boyunca 10 mg/kg (i.p.) dozda melatonin uygulamıştır. Cam ve arkadaşları (21) streptozotosin ile oluşturulmuş diabetik ratlarda renal hasara karşı bir antioksidan olarak melatoninin etkilerini belirlemek amacıyla 4 hafta boyunca 200 µg/kg (i.p.) melatonin uygulamışlardır. Yine başka bir çalışmada Kuş ve arkadaşları (62) erkek ratlara 2 hafta boyunca 25 mg/kg (i.p.) dozda melatonin uygulamışlardır.

Yapmış olduğumuz bu çalışmada melatonin dozu olarak çalışmalarda en çok uygulanan (5,58,97,113) doz olması bakımından 10 mg/kg olarak belirlenmiş ve intraperitoneal yol ile 3 hafta boyunca her gün uygulanmıştır.

➤ **Canlı Ağırlık Değerlendirmeleri**

Şimşek ve arkadaşları (99) ratlarda melatonin uygulaması yaptıkları çalışmada 1.gün, 21. gün ve 42. gün olmak üzere gruplar arasındaki canlı ağırlıklarını da incelemişlerdir. Çalışmanın başlangıcında benzer ağırlıklara sahip olan grupların 21. ve 42. gününde kontrol grubu ratlar ile sadece melatonin uygulanan gruba ait ratların canlı ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca kontrol ve melatonin grubunun kendi içerisinde son gün ağırlık ortalamalarının başlangıç ağırlık ortalamalarına göre artmış olduğu görülmüştür.

Cam ve arkadaşları (21) streptozotosin ile oluşturulmuş diabetik ratlarda böbrek hasarına karşı kronik melatonin tedavisinin etkilerini incelemek amacıyla 4 hafta boyunca melatonin uygulaması yapmışlardır. Canlı ağırlıklarını da incelemiş oldukları bu çalışmanın başlangıcında ilk canlı ağırlıklarının tüm gruplarda benzer olduğu, çalışmanın sonunda ise hem kontrol hem de sadece melatonin uygulanan ratların 4 haftanın sonundaki canlı ağırlıklarının başlangıç canlı ağırlıklarına göre artmış olduğu belirtilmiştir.

Terron ve arkadaşları (107) ratlarda melatoninin canlı ağırlığı üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada, kontrol ve melatonin gruplarında canlı ağırlık kazanımı bakımından kontrol grubunda artış olduğunu, melatonin grubunun canlı ağırlık kazanımında ise önemli bir azalma olduğunu belirtmişlerdir.

Doğurman ve arkadaşları (30) ratlarda hem ışık hem de karanlık periyotlarda melatonin uygulamasının canlı vücut ağırlığı üzerine olan etkisini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada melatoninin hem ışık hem de karanlık periyotlarda vücut ağırlığı artışında azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir.

Wolden-Hanson ve arkadaşları (121) yaptıkları çalışmada melatoninin doğrudan canlı ağırlığında bir azalma meydana getirdiğini bildirmişlerdir. Benzer

şekilde Rios-Lugo ve arkadaşları (94) 9 hafta süresince melatonin uygulaması yaptıkları çalışmada uygulamanın 3. haftasından itibaren melatoninin canlı ağırlık kazanımını azalttığını belirtmişlerdir.

Canpolat ve arkadaşları (23) ratlara eksojen melatonin uygulaması yaptıkları çalışmada oluşturmuş oldukları sham ve melatonin gruplarını canlı ağırlık bakımından da incelemişler ve çalışma sonunda sham grubundaki ratların canlı ağırlıklarının başlangıç ağırlıklarına göre arttığını, melatonin uygulanan gruptaki ratların canlı ağırlıklarının ise başlangıç ağırlıklarına göre azaldığını bildirmişlerdir.

Bizim çalışmamızda günlere göre ortalama canlı ağırlık bakımından deneme ve sham gruplarının canlı ağırlıklarında azalma saptandı. Ancak bu azalma için; sham grubu içinde ortalama canlı ağırlık açısından günler arasında istatistiksel düzeyde anlamlı bir fark gözlenmezken, deneme grubunda ise günler arasında istatistiksel düzeyde anlamlı ($P<0,05$) bir fark olduğu görüldü. Kontrol grubu içinde ortalama canlı ağırlıkta artma görülürken, ortalama canlı ağırlık açısından günler arasında istatistiksel düzeyde anlamlı bir fark gözlenmedi. Bizim bulgularımız Şimşek ve arkadaşları (99) ile Cam ve arkadaşlarının (21) bulgularıyla farklılık göstermiştir. Ancak bulgularımız, Terron ve arkadaşları (107), Doğurman (30), Wolden-Hanson (121), Rios-Lugo (94), Canpolat ve arkadaşları (23) ile benzer olarak grupların kendi içindeki canlı ağırlık bakımından deneme grubunda, kontrol ve sham gruplarına kıyasla istatistiksel düzeyde anlamlı ($P<0,05$) olarak azalma olduğunu ortaya çıkarmıştır. Ayrıca gruplararası ortalama canlı ağırlık bakımından 0. ve 4. günler arası istatistiksel düzeyde anlamlı fark gözlemlenmezken, 5-21 günler arası kontrol grubu ile deneme ve sham grubu arasında istatistiksel düzeyde anlamlı ($P<0,05$) fark olduğu fakat deneme ve sham grubunda istatistiksel düzeyde anlamlı fark olmadığı gözlemlenmiştir.

➤ **Histolojik Değerlendirmeler**

Wessam ve arkadaşları (119) ratların karaciğerinde toksisite ve oksidatif stres üzerinde melatoninin koruyucu etkilerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada melatonin uygulanmış ratların karaciğer dokusunda histolojik değişikliklerin olmadığını, normal histolojik görünüme sahip karaciğer yapısı gösterdiğini

bildirmişlerdir. Yaptıkları mikroskopik incelemede karaciğerde düzenli hepatosit yapısı ile belirgin vena sentralis, vena sentralisten itibaren ışınsal bir şekilde kordonlarda dizili poligonal hepatositler ile hepatic kordonların arasındaki kan sinüzoidlerini görmüşlerdir. Ayrıca yine bu çalışmada kontrol ile sadece melatonin uygulanan ratların karaciğer dokuları arasında histolojik yapı bakımından değişiklik olmadığı bildirilmiştir.

Bizim yaptığımız bu çalışmada, karaciğer dokusunda lopçuklar içinde merkezi konumda yerleşmiş vena sentralisler ile vena sentralislerin etrafında ışınsal bir biçimde dizilim göstererek Remark kordonlarını meydana getiren tek veya çift çekirdekli hepatositler gözlemlendi. Kiernan aralığında ise karaciğer üçlüsü olarak isimlendirilen arteriya hepatica, hepatic portal ven olan vena interlobularis ile safra kanalı duktus biliferus görüldü. Bu bulgulara bağlı olarak karaciğerin genel histolojik yapısının normal histolojik görünümde olduğu gözlemlenmiş ve literatür (10,45,53,105,119) bilgileriyle de paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca bizim yaptığımız çalışmanın sonuçları Wessam ve arkadaşlarının (119) bulgularıyla uyumlu olarak melatonin uygulanmış ratların normal histolojik görünüme sahip karaciğer yapısı gösterdiğini ve kontrol grubu ile arasında da genel histolojik görünüm bakımından farklılık olmadığını göstermiştir.

Ergin ve arkadaşı (34) sıçanlarda kronik melatonin enjeksiyonunun böbrekte renin granülleri üzerindeki histolojik etkisini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada kontrol grubu ile melatonin uygulanan grup arasında böbrekteki glomerulus ve jukstaglomeruler aparatusta herhangi bir histolojik farklılık gözlemlenmediğini bildirmiştir. Ayrıca yine bu çalışmada kontrol grubunda dışta korteks, içte medulla bölümü, korteksin her bölgesine yayılmış glomeruluslar ve bowman kapsülüne sahip normal histolojik görünümlü böbrekler izlediklerini belirtmişlerdir.

Bizim yaptığımız çalışmada, böbrek dokusunda korteks ve medulla bölgeleri ayırt edilmiş, kortekste; glomerulus, tubulus distalis ve tubulus proksimalislerin bulunduğu, medullada ise inen ve çıkan henle kulpu ile toplayıcı borucukların yer aldığı (tubulus kollektivus ve duktus papillaris) gözlemlenmiştir. Bu bulgular doğrultusunda böbreğin genel histolojik yapısının normal histolojik görünümde olduğu gözlemlenmiş ve literatür (10,34,45,53,105) bilgileriyle de paralellik gösterdiği

belirlenmiştir. Ayrıca yaptığımız çalışmanın sonuçları Ergin ve arkadaşının (34) bulgularıyla benzer olarak melatonin uygulanmış ratlar ile kontrol grubu arasında da böbreğin genel histolojik görünümü bakımından farklılık olmadığını göstermiştir.

Yaptığımız çalışmada karaciğerde yapılan tek çekirdekli hepatosit sayımında tüm gruplar arasında bir fark olmadığı, çift çekirdekli hepatosit sayımında ise deneme grubuna ait örneklerdeki çift çekirdekli hepatosit sayısının kontrol ve sham grubuna göre istatistiksel düzeyde anlamlı ($P < 0,05$) bir artış gösterdiği görüldü. Karaciğerde tek çekirdekli ve çift çekirdekli hepatosit sayılarının gruplar arasında karşılaştırılmasına yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanılmadı. Çift çekirdekli sayısının artışının daha ayrıntılı incelenmesi ve özellikle bu artışın melatoninin metabolik aktiviteyi artırarak mitozu tetiklediği düşüncesindeyiz.

➤ IGF-I'in İmmunohistokimyasal Değerlendirmeleri

a) Karaciğer

Oner ve arkadaşları (81) yaptıkları çalışmanın immunohistokimyasal analizinde rat karaciğerinde insülin benzeri büyüme faktörü-1 immunoreaktivitesinin hepatositlerde ekspre olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca hepatositlerdeki bu immunoreaktivitenin hem sitoplazmik hem de nükleer olarak görüldüğünü ve granüler tarzda reaksiyon olduğunu bildirmişlerdir.

Hansson ve arkadaşları (47) yetişkin ratlarda IGF-I'in immunohistokimyasal lokalizasyonunu karaciğer dokusunda incelemişler ve sonuçta IGF-I immunoreaktivitesinin hepatositlerde ve sinuzoid endotel hücrelerinde görülmediğini ya da çok zayıf bir immunoreaktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Aynı çalışmada hepatositlerdeki bu immunoreaktivitenin belirgin bir biçimde sitoplazmik tarzda olduğu görülürken çekirdekte herhangi bir immunoreaktiviteye rastlanmadığı belirtilmiştir. Ayrıca yine bu çalışmada duktus biliferinin epitel hücrelerinin boyandığı bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızda karaciğerde IGF-I immunoreaktivitesinin literatür bildirimlerine (47,81) paralel olarak sadece sitoplazmada ve granüler tarzda olduğu, ancak literatürlerin aksine nükleer tarzda bir reaksiyon olmadığı belirlendi. Ancak çalışmamızda çok az sayıda hepatositlerde ise reaksiyon olmadığı görüldü. Ayrıca çalışmamızda duktus biliferusta yoğun derecede belirlediğimiz IGF-I

immunoreaktivitesi Hannson ve arkadaşlarının bulgularını destekler niteliktedir.

Bestetti ve arkadaşları (11) buzağı, domuz ve rat karaciğerinde IGF-I immunoreaktivitesi ile ilgili yaptıkları çalışmada bağdoku altında yer alan hepatositlerde reaksiyon olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca yine bu çalışmada domuz ve ratlarda vena sentralis çevresindeki hepatositlerde diğer bölgelere göre daha yoğun bir IGF-I immunoreaktivitesi olduğu belirlenmiştir. Diğer alanlardaki hepatositlerde ise hafif bir immunoreaktivite olduğu saptanmıştır. IGF-I'in bu perivasküler lokalizasyonunun nedeninin IGF-I'in sistemik dolaşıma verilmesinden dolayı fizyolojik bir durumdan kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Yapılan bir araştırmada (111) rat hepatositlerinde IGF-I mRNA'sı tespit edilmiştir. Ancak Bestetti ve arkadaşlarının (11) yaptıkları bu çalışmada tüm hepatositlerin IGF-I mRNA'sını içermelerine karşılık bütün hepatositlerde IGF-I immunoreaktivitesinin aynı düzeyde olmadığını saptamışlardır. Bunun nedeni olarak ise IGF-I sentezinde aktif olan hücrelerin immunoreaktivite göstermesinden kaynaklandığını düşünmüşlerdir.

Bizim bulgularımız Bestetti ve arkadaşlarının (11) sonuçlarıyla, IGF-I immunoreaktivitesinin hepatositlerde görülmesi yönüyle benzerlik göstermiştir. Aynı çalışmanın sonuçları bu immunoreaktivitenin vena sentralis çevresindeki hepatositlerde diğer bölgelere göre daha kuvvetli derecede görülmesi ve immunoreaktivite dağılımının sadece karaciğerin belirli bölgelerindeki hepatositlerde yoğunlaşması bakımından bizim çalışmamızın bulgularıyla benzerlik göstermiştir. İmmunoreaktivitenin özellikle bu perivenöz bölgelerde daha yoğun olmasının nedeni olarak literatürlerde de bildirildiği (105) gibi bu bölgelerde metabolik aktivitenin yüksek olmasından ve IGF'lerin sentezlenmelerinin hemen ardından kan dolaşımına geçmelerinden (98) kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca literatürlerde rastlamadığımız ancak çalışmamızda, çift çekirdekli hepatositlerde de sitoplazmik tarzda IGF-I immunoreaktivitesinin olduğu görüldü. IGF-I'in yoğun aktivitedeki değişik aşamalarda bulunan çift çekirdekli hücrelerde de sentezlendiği görüşündeyiz. Kupffer hücreleri, endotel hücreleri ve bağ doku alanlarında ise immunoreaktivite görülmemiştir.

b) Böbrek

Hansson ve arkadaşları (47) ratlarda böbrek dokusundaki IGF-I dağılımını incelemiş ve böbrekte sadece inen henle kulpu ile toplayıcı borucuklarda IGF-I immunoreaktivitesinin görüldüğünü, diğer yapılarda immunoreaktivitenin olmadığını bildirmişlerdir.

Bortz ve arkadaşları (13) rat böbreğinde IGF-I lokalizasyonu ve sentezine ilişkin yaptıkları immunohistokimyasal çalışmada böbreklerde kortikal ve medullar toplayıcı borucuklarda lokalize, spesifik IGF-I immunoreaktivitesi saptamışlardır. Ayrıca yine bu çalışmada medullar toplayıcı borucukların tüm hücrelerinde IGF-I immunoreaktivitesi görülürken, kortikal toplayıcı borucuklarda da immunoreaktivite gösteren hücreler belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada glomerulus, proksimal tubuller, henle kulpu ve distal tubullerde immunoreaktivite görülmemiştir. Bortz ve arkadaşları (13) yaptıkları bu çalışmada böbrekteki IGF-I mRNA'sının miktarıyla immunoboyanabilir peptid dağılımının paralel olduğunu da bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda böbrekte inen henle kulpunda (47) ve toplayıcı borucuklarda (13,47) IGF-I immunoreaktivitesinin olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da literatür bildirimlerine (13,47) paralel olarak toplayıcı borucuklarda (tubulus kollektivus ve duktus papillarisde) IGF-I immunoreaktivitesi belirlenmiştir. Ancak bizim bulgularımız inen henle kulpunda bir immunoreaktivitenin olduğunu gösteren Hansson ve arkadaşlarının (47) bulgularından farklı, Bortz ve arkadaşlarının (13) bulgularını destekler niteliktedir. Ayrıca çalışmamızda tubulus proksimalis, tubulus distalis ve çıkan henle kulpunda da reaksiyon görülmesine ilişkin bulgularımız Hansson ve arkadaşları (47) ile Bortz ve arkadaşlarının (13) bulgularından farklılık göstermiştir. Ancak bulgularımızda glomeruluslarda IGF-I immunoreaktivitesinin görülmemesi Hansson ve arkadaşları (47) ile Bortz ve arkadaşlarının (13) bulgularını destekler niteliktedir. Ayrıca bizim çalışmamızda böbreğin tüm bölümlerinde IGF-I immunoreaktivitesinin sadece sitoplazmik tarzda olduğu görülmüştür.

➤ Ghrelinin İmmunohistokimyasal Değerlendirmeleri

a) Karaciğer

Taş ve arkadaşları (106) yaptıkları çalışmada rat karaciğerinde ghrelin immunoreaktivitesini hepatositlerde yoğun derecede lokalize olduğunu belirlemişlerdir.

Guo ve arkadaşları (43) ratların karaciğerinde yaptıkları çalışmada ghrelin immunoreaktivitesini orta derecede yoğunlukta hepatositlerde görmüşlerdir. Ayrıca bu ghrelin immunoreaktivitesinin de sitoplazmada tespit edildiğini belirtmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada ghrelinin immunohistokimyasal dağılımına ilişkin sonuçlarımız, Taş ve arkadaşları (106) ile Guo ve arkadaşlarının bulgularıyla (43) paraleldir. Ayrıca bulgularımızda hepatositlerdeki bu ghrelin immunoreaktivitesinin sadece sitoplazmik tarzda olması Guo ve arkadaşlarının (43) bulgularını destekler niteliktedir. İncelemelerimizde ghrelinin vena sentralis etrafındaki hepatositlerde çok daha yoğun olduğu ve Kiernan aralığındaki üçlü yapıdan biri olan duktus biliferusda da yoğun bir immunoreaktivite olduğu görülmüştür. Kupffer hücreleri ile endotel hücrelerinde ise immunoreaktivite görülmemiştir.

b) Böbrek

Yabuki ve arkadaşları (123) kemirgenlerin böbrek dokularında ghrelinin immunohistokimyasal lokalizasyonunu incelemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, rat böbreğinde tubulus distalislerde özellikle makula densada yoğun immunoreaktivite olduğunu bildirmişlerdir. Distal tubullerdeki bu reaksiyon yoğunluğunun tubulün çıkan kalın kolu ile pars kontorta arasında da benzer şekilde olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca yine bu çalışmada glomerulus, proksimal tubuller (pars kontorta ve pars recta), inen henle kulpu, toplayıcı borucuklar ve juxtaglomerular hücreler ile dokular arasındaki hücrelerde ghrelin immunoreaktivitesi olmadığını görmüşlerdir. İmmunoelektron mikroskopik yöntemle de ghrelin immunoreaktivitesinin distal tubul hücrelerinde yoğun olduğunu ve nadiren de toplayıcı borucukların epitelinde bulunduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca ghrelinin immunohistokimyasal lokalizasyonunun tüm kemiricilerde benzer şekilde görüldüğünü ve böylece türe ya da cinsiyete dayalı farklılıklar olmadığını bildirmişlerdir.

Kuloğlu ve arkadaşları (61) yaptıkları çalışmada rat bbreginde ghrelin immunoreaktivitesinin tubulus distalis epitelinde görüldüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca glomerulus, proksimal tubuller (pars kontorta ve pars recta), inen henle kulpu ve toplayıcı borucuklarda immunoreaktivitenin olmadığını belirtmişlerdir.

Aydın ve arkadaşları (8) rat böbrek dokusunda ghrelin immunoreaktivitesinin proksimal ve distal tubullerde lokalize olduğunu ve bu immunoreaktivitenin de kuvvetli derecede bir reaksiyon görüldüğünü bildirmişlerdir.

Donder ve arkadaşları (31) ratların bbreginde ghrelin immunoreaktivitesini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada böbrekte korteks ve medulladaki distal tubullerde orta derecede bir immunoreaktivite olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca yine bu çalışmada glomerulus ve proksimal tubullerde ghrelin immunoreaktivitesinin olmadığı saptanmıştır.

Bizim çalışmamızın sonuçları Yabuki (123), Kuloğlu ve arkadaşları (61), Aydın ve arkadaşları (8) ile Donder ve arkadaşlarının (31) bulgularıyla benzer olarak böbrek distal tubul epitellerinde ghrelin immunoreaktivitesinin görüldüğünü ve glomeruluslarda ise immunoreaktivite olmadığını göstermiştir. Ayrıca alışmamızda, yapılan araştırmalardan (31,61,123) farklı olarak tubulus proksimalis, inen henle ve çıkan henle kulpu ile toplayıcı borucuklarda da (tubulus kollektivus ve duktus papillarislerde) ghrelin immunoreaktivitesinin olduğu görülmüştür. Bu sonuçlarımıza paralel herhangi bir literatüre rastlanmadı. Bu durumun kullanılan materyal ve yöntemlerin farklılığından kaynaklanabileceğini ve daha ayrıntılı çalışılması gerektiğini düşünmekteyiz.

➤ Genel Değerlendirmeler

Melatoninin güçlü bir serbest radikal tutucu ve genel bir antioksidan madde olduğu ve organizmada karanlıkta pineal bezden salgılandığı bilinmektedir (125). Oner ve arkadaşlarının (81) bildirdiğine göre memelilerde pineal bezin fonksiyonu ile GH-IGF-I aksı arasında bağlantı olduğunu belirten çalışmalar (83,114) mevcuttur. Ayrıca deneysel çalışmalar pinealektomi ve uzun dönem melatonin uygulamasının tiroid, adrenal korteks ve testiküler hormonların yanısıra GH ve IGF-I'in sentez ve salınımında değişiklik yaptığını göstermiştir (83).

Vriend ve arkadaşları (114) Syrian erkek hamsterlerde yaptıkları çalışmada

10 haftalık bir süreyle akşam saatlerinde melatonin uygulamasından sonra GH-IGF-I konsantrasyonlarının önemli ölçüde arttığını bildirmişlerdir. Ayrıca IGF-I konsantrasyonlarındaki bu artışın, eksojen melatonin uygulamasının GH konsantrasyonlarındaki değişiklikleri tetikleyerek IGF-I üretimini etkilemesine bağlı olabileceğini düşünmüşlerdir.

Pawlikowski ve arkadaşları (85) melatoninin IGF-I salınımını uyararak IGF-I'in serum düzeylerinde önemli bir artış meydana getirdiğini rapor etmişlerdir.

Ostrowska ve arkadaşları (83) ratlarda pinealektomi ve uzun dönem melatonin uygulamasının GH-IGF-I aksına etkilerini inceledikleri çalışmada, günün belirli saatlerine bağlı olarak GH ve IGF-I'in sirkadiyen salınımlarındaki anormalliklerinin endojen melatonin konsantrasyonlarıyla doğrudan orantılı bir ilişkisi olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca yine bu çalışmada melatoninin doğrudan ya da dolaylı olarak diğer hormonları ve büyüme faktörlerinin konsantrasyonlarında değişiklikleri tetikleyerek, IGF-I sentez ve sekresyonunu çok yönlü olarak etkilediğini belirtmişlerdir. Bunlara bağlı olarak pineal bezin gün boyunca GH-IGF-I aksı fonksiyonunu etkileyebildiği ve endojen melatoninin konsantrasyonlarında değişikliklere bağlı olarak IGF-I mekanizmasında önemli rol oynadığını bildirmişlerdir.

Picinato ve arkadaşları (89) melatoninin IGF-I ve insülin reseptör sinyalizasyon yollarını aktive ederek pankreas adacıklarının büyüme ve farklılaşmasını düzenleyebildiğini bildirmişlerdir.

Oner ve arkadaşları (81) rat karaciğerinde yaptıkları immunohistokimyasal çalışmada melatoninin hepatositlerde IGF-I ekspresyonunu arttırdığını belirtmişlerdir.

Bizim çalışmamızda karaciğerde kontrol ve sham gruplarında IGF-I immunoreaktivitesinin benzer yapıda ve belirli alanlarda yoğunlaştığı görüldü. Deneme grubunda ise sınırlı bölgelerdeki reaksiyondan çok karaciğerin hemen hemen tümüne yayılmış bir IGF-I immunoreaktivitesi saptandı. Böbrekte, tubulus proksimalisler ve tubulus kollektivuslarda kontrol ve sham gruplarında IGF-I immunoreaktivitesi zayıf iken, deneme grubunda yoğun bir reaksiyon belirlendi. Yaptığımız çalışmada melatonin uygulamasının IGF-I immunoreaktivitesini özellikle karaciğerde belirgin olmak üzere, böbrekte de arttırdığı görüşüne varıldı. Yapılan

çalışmalarda (83,85,89,114) melatoninin IGF-I'in serum düzeylerini arttırdığı, ayrıca başka bir araştırmada (81) hepatositlerde IGF-I immunoreaktivitesini de arttırdığı bildirilmiştir. Bu sonuçlarla bulgularımız paralel bulunmuştur.

Canpolat ve arkadaşları (23) yaptıkları bir çalışmada eksojen olarak melatonin uygulanan ve pinealektomi yapılan ratların hipotalamik arkuat nkleuslarındaki ghrelinin immunohistokimyasal olarak dağılımlarını ve ghrelin serum düzeylerini araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonuçları, hipotalamik nükleusda ghrelin miktarının pineal bezin çıkarılması ile azaldığını ve eksojen melatonin ile arttığını açıkça ortaya koymuştur. Bu artışın, puberte başlangıcında genel olarak inhibitör etkilere sahip olduğu bildirilen (115) melatoninin hipotalamik ghrelin üretiminde artışa yol açarak puberteyi geciktirici etki ortaya koymasına bağlı olabileceğini düşünmüşlerdir. Ayrıca hipotalamik arkuat nükleusda ghrelinin immunohistokimyasal aktivitesinde dikkat çekici değişiklikler olmasına rağmen, ghrelin serum düzeylerinde önemli bir değişiklik olmadığını belirtmişlerdir. Yine bu çalışmada pinealektomi sonrasında ghrelin boyanmasının neredeyse tamamen ortadan kalkmasıyla, ghrelinin düzenlenmesinde melatonin ve pineal faktörlerin de fizyolojik etkisi olduğunu göstermişlerdir.

Mustonen ve arkadaşları (78) ratlarda melatonin tedavisinin ghrelin düzeyleri üzerindeki etkisini inceledikleri çalışmada melatoninin ghrelin üretimini baskılayarak dolaşımdaki ghrelin seviyelerini azalttığını ve buna bağlı olarak da beyinde ghrelin sentezinin düzenlenmesinde bir etken olduğunu belirtmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada ghrelin immunoreaktivitesi açısından ise karaciğerde gruplar arasında genel olarak bir farklılık olmadığı gözlendi. Böbrekte ise, inen henlede gözlenen ghrelin immunoreaktivitesi kontrol ve sham gruplarından farklı olarak deneme grubunda gözlenmedi. Ayrıca tubulus kollektivus ve duktus papillaristeki reaksiyon yoğunluğunun diğer gruplara göre deneme grubunda daha düşük olduğu belirlendi. Çalışmamızda saptadığımız bulgulara bağlı olarak melatonin uygulamasının ghrelin immunoreaktivitesini arttırıp azaltmadığı konusunda belirgin bir sonuca ulaşılamadı. Ancak böbrekte toplayıcı borucuklarda immunoreaktivitede çok az bir düşüşe yol açtığı görüldü. Yapılan çalışmalarda ghrelinin puberte başlangıcında arttığını, sonraki dönemde ise azaldığını bildiren (115) araştırmalar vardır.

➤ **Sonuç;**

Bu çalışmada melatonin uygulanan ratların karaciğer ve böbreklerinde histolojik yapı, IGF-I ve ghrelinin immunohistokimyasal lokalizasyonu ve canlı ağırlık incelemesi yapıldı. Yapılan histolojik incelemelerde karaciğer ve böbreğin histolojik yapısının klasik bilgilerle (10,34,45,53,105,119) paralellik gösterdiği, herhangi bir farklılığın bulunmadığı belirlenmiştir.

Histolojik olarak karaciğerde yapılan tek çekirdekli hepatosit sayımında tüm gruplar arasında bir fark olmadığı, çift çekirdekli hepatosit sayımında ise deneme grubuna ait örneklerdeki çift çekirdekli hepatosit sayısının kontrol ve sham grubuna göre istatistiksel düzeyde anlamlı ($P \leq 0,05$) bir artış gösterdiği görülmüştür. Çift çekirdekli sayısının artışının daha ayrıntılı incelenmesi ve özellikle bu artışın melatoninin metabolik aktiviteyi arttırarak mitozu tetiklediği görüşündeyiz.

Yaptığımız araştırmada ağırlık ölçümleri bakımından, karaciğer ve böbrek dokularının ağırlıklarında gruplar arasında istatistiksel düzeyde bir farkın bulunmadığı belirlenmiştir. Canlı ağırlık incelemelerinde melatonin enjeksiyonunun literatür bildirimlerinin (23,30,94,107,121) bir kısmına uygun olarak canlı ağırlığı azalttığı belirlenmiştir.

Çalışmamızda karaciğerde kontrol ve sham gruplarında IGF-I immunoreaktivitesinin belirli alanlarda odaklar halinde yoğunlaştığı görülmüştür. Deneme grubunda ise yine odaklar halinde fakat sınırlı bölgelerdeki reaksiyondan çok karaciğerin hemen hemen tümüne yayılmış bir IGF-I immunoreaktivitesi saptanmıştır. Ayrıca literatürlerde rastlamadığımız ancak çalışmamızda, çift çekirdekli hepatositlerde de sitoplazmik tarzda IGF-I immunoreaktivitesinin olduğu görülmüştür. Buna bağlı olarak da IGF-I'in yoğun aktivitedeki değişik aşamalarda bulunan çift çekirdekli hücrelerde de sentezlendiğini düşünmekteyiz.

İncelemelerimizde IGF-I immunoreaktivitesi yapılan çalışmalardan farklı olarak tubulus proksimalis, tubulus distalis ve çıkan henlede belirlenmiştir. Bu durum daha ayrıntılı olarak incelemeyi gerektirmektedir. Ayrıca bizim çalışmamızda böbreğin tüm bölümlerinde IGF-I immunoreaktivitesinin sadece sitoplazmik tarzda olduğu görülmüştür. Yaptığımız çalışmada melatonin uygulamasının IGF-I immunoreaktivitesini özellikle karaciğerde belirgin olmak üzere, böbrekte de arttırdığı görüşüne varıldı.

Çalışmamızda karaciğerdeki ghrelin immunoreaktivitesinin vena sentralis etrafındaki hepatositlerde çok daha yoğun olduğu ve Kiernan aralığındaki üçlü yapıdan biri olan duktus biliferusda da yoğun bir immunoreaktivite olduğu görülmüştür. Ayrıca çalışmamızda, yapılan araştırmalardan (31,61,123) farklı olarak böbrekte tubulus proksimalis, inen henle ve çıkan henle kulpu ile toplayıcı borucuklarda da (tubulus kollektivus ve duktus papillarislerde) ghrelin immunoreaktivitesinin olduğu belirlenmiştir. Bulgularımıza bağlı olarak melatonin uygulamasının ghrelin immunoreaktivitesini artırıp azaltmadığı konusunda belirgin bir sonuca ulaşılamadı. Ancak böbrekte toplayıcı borucuklarda (tubulus kollektivus ve duktus papillaris) immunoreaktivitede çok az bir düşüşe yol açtığı görüldü.

Böbrekte inen henle kulpunda ghrelin immunoreaktivitesinin görülmesine karşılık IGF-I immunoreaktivitesinin olmamasının dışında karaciğer ve böbrek dokularında ghrelin ve IGF-I'in immunohistokimyasal lokalizasyon bölgeleri açısından aralarında fark olmadığı, aynı bölgelerde lokalize olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, çalışmamızdan elde edilen bulguların, serbest radikallerle mücadelede güçlü bir antioksidan olan melatonin ile antioksidan özelliği olan IGF-I ve ghrelinin aralarındaki ilişkinin anlaşılmasına yardımcı olarak melatoninin koruyucu ve tedavi edici etkilerine katkılar sağlayacağı düşüncesindeyiz.

6. ÖZET

Bu çalışma eksojen olarak melatoninin uygulaması yapılan ratların karaciğer ve böbreğinde ghrelin ve IGF-I'in immunohistokimyasal lokalizasyonunun incelenmesi amacıyla yapılmıştır.

Çalışmada kullanılan 30 adet erkek Sprague Dawley rat, deneme (n=10), sham (n=10) ve kontrol (n=10) olmak üzere üç gruba ayrıldı. Deneme grubuna 3 hafta süresince etanolde çözdürülüp serum fizyolojikle sulandırılmış 10 mg/kg dozda melatonin (i.p.) uygulandı. Sham grubuna da sadece etanol ve serum fizyolojik solüsyonu uygulandı. Kontrol grubuna ise hiçbir uygulama yapılmadı. Deney süresi bitiminde, grupların canlı ağırlıkları, karaciğer ve böbrek ağırlıkları, karaciğer ve böbrek doku örneklerinde ghrelin ve IGF-I'in immunohistokimyasal lokalizasyonu ve rutin histolojik boyamalarla da dokunun normal histolojik yapısı incelendi.

Yapılan immunohistokimyasal incelemeler sonucunda deneme grubundaki melatonin uygulamasının IGF-I immunoreaktivitesini özellikle karaciğerde belirgin olmak üzere, böbrekte de arttırdığı sonucuna varıldı. Çalışmamızda saptadığımız bulgulara bağlı olarak melatonin uygulamasının ghrelin immunoreaktivitesini artırıp azaltmadığı konusunda belirgin bir sonuca ulaşılamadı. Ancak böbrekte toplayıcı borucuklarda (tubulus kollektivus ve duktus papillaris) immunoreaktivitede çok az bir düşüşe yol açtığı görüldü. Histolojik incelemeler sonucunda gruplar arasında hiçbir farklılığa rastlanmadı. Karaciğerde yapılan tek çekirdekli hepatosit sayımında tüm gruplar arasında bir fark olmadığı, çift çekirdekli hepatosit sayımında ise deneme grubuna ait örneklerdeki çift çekirdekli hepatosit sayısının kontrol ve sham grubuna göre istatistiksel düzeyde anlamlı bir artış gösterdiği görüldü. Ayrıca ağırlık ölçümleri bakımından, canlı ağırlık incelemelerinde melatonin uygulamasının canlı ağırlığı azalttığı belirlendi. Karaciğer ve böbrek dokularının ağırlıklarında gruplar arasında istatistiksel düzeyde bir farkın bulunmadığı görüldü.

Anahtar sözcükler: Melatonin, Karaciğer, Böbrek, IGF-I, Ghrelin, İmmunohistokimya.

7. SUMMARY

The purpose of this study was to examine the immunohistochemical localization of ghrelin and IGF-I in livers and kidneys of rats to which the melatonin was administered exogenously.

30 male Sprague Dawley rats used in the study were divided into three groups as experimental (n=10), sham (n=10), and control (n=10). The experimental group was administered with 10 mg/kg melatonin (i.p.) that was dissolved in ethanol and diluted with normal saline for 3 weeks. Ethanol and isotonic NaCl solution was administered to sham group. No administration was performed on the control group. At the end of the experiment time, some examinations were made regarding the live weights, liver and kidney weights of groups, as well as immunohistochemical localization of ghrelin and IGF-I in liver and kidney tissue samples and the normal histological structure of the tissue by routine histological stainings.

As a result of the immunohistochemical examinations, it was concluded that melatonin administration in the experimental group distinctly increased the IGF-I immunoreactivity especially in the liver and also in the kidney. Based on the results determined in this study, we could reach no distinct result regarding whether the melatonin administration increased or decreased the ghrelin immunoreactivity. However, it was observed to have caused a very little decrease in the immunoreactivity of collecting tubules in kidneys (tubulus collectivus and ductus papillaris). As a result of the histological examinations, we observed no difference between groups. As a result of the uninucleate hepatocyte count performed on the liver, it was observed that there was no difference between all groups. On the other hand, the binucleate hepatocyte count concluded that there was a statistically significant increase in the number of binucleate hepatocytes in the samples of the experimental group, compared to the control and sham groups. Besides, in terms of the weight measurements, it was determined that the melatonin administration decreased the live weight in the live weight examinations. No statistical difference was observed between groups in terms of liver and renal tissue weights.

Keywords: Melatonin, Liver, Kidney, IGF-I, Ghrelin, Immunohistochemistry.

8. KAYNAKLAR

1. **Akkuş, İ.:** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları. Konya, 1995.
2. **Allan, G.J., Flint, D.J., Patel, K.:** İnsulin-like growth factor axis during embryonic development, London, 122: 31-39, 2001.
3. **Angeloni, S.V., Glynn, N., Ambrosini, G., Garant, M.J., Higley, J.D., Suomi, S., Hansen, B.C.:** Characterization of the rhesus monkey ghrelin gene and factors influencing ghrelin gene expression and fasting plasma levels. *Endocrinology*. 145(5): 2197-2205, 2004.
4. **Arendt, J.:** Melatonin. *Clin. Endocrinol.* 29: 205-229, 1988.
5. **Armağan, A., Uz, E., Yılmaz, H.R., Soyupek, S., Oksay, T., Özçelik, N.:** Effects of melatonin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Asian J. Androl.* 8(5): 595-600, 2006.
6. **Arvat, E., Di Vito, L., Broglio, F., Papotti, M., Muccioli, G., Dieguez, C., Casanueva, F.F., Deghenghi, R., Camanni, F., Ghigo, E.:** Preliminary evidence that ghrelin, the natural GH secretagogue (GHS)-receptor ligand, strongly stimulates GH secretion in humans. *J. Endocrinol. Invest.* 23(8): 493-495, 2000.
7. **Aydın, S.:** Ghrelin hormonunun keşfi: araştırmaları ve klinik uygulamaları. *Turk J. Biochem.* 32: 76-89, 2007.
8. **Aydın, S., Sahin, İ., Ozkan, Y., Dağ, E., Gunay, A., Guzel, S.P., Catak, Z., Ozercan, M.R.:** Examination of the tissue ghrelin expression of rats with diet-induced obesity using radioimmunoassay and immunohistochemical methods. *Mol. Cell Biochem.* 365: 165-173, 2012.
9. **Baker, J., Liu, J.P., Robertson, E.J., Efstratiadis, A.:** Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell.* 75: 73-82, 1993.
10. **Banks, W.J.:** Applied Veterinary Histology. Third Edition. Mosby-Year Book, Inc. Missouri, 1993.
11. **Bestetti, G.E., Blum, J.W., Rossi, G.L.:** Immunohistochemistry of hepatic IGF-I in calf, pig and rat. *J. Vet. Med. A.* 39: 747-751, 1992.

12. **Beyer, C.E., Steketee, J.D., Saphier, D.:** Antioxidant properties of melatonin-an emerging mystery. *Biochem. Pharmacol.* 56: 1265-1272, 1998.
13. **Bortz, J.D., Rotwein, P., Devol, D., Bechtel, P.J., Hansen, V.A., Hammerman, M.R.:** Focal expression of insulin-like growth factor I in rat kidney collecting duct. *The Journal of Cell Biology.* 107: 811-819, 1988.
14. **Brzezinski, A.:** Melatonin In humans. *N. Engl. J. Med.* 336: 186-195, 1997.
15. **Brzozowski, T., Konturek, P.C., Sliwowski, Z.:** Prostaglandin/cyclooxygenase pathway in ghrelin-induced gastroprotection against ischemia-reperfusion injury. *JPET.* 319: 477-487, 2006.
16. **Bubenik, G.A., Pang, S.F.:** The role of serotonin and melatonin in gastrointestinal physiology: ontogeny, regulation of food intake and mutual serotonin-melatonin feedback. *J. Pineal Res.* 16: 91-99, 1994.
17. **Burgi, U., Gerber, H., Peter, H.J.:** Transformation of normal thyroid into colloidal goiter in rats and mice. *Endocrinol.* 135: 2688, 1994.
18. **Burrin, J.M., Paterson, J.L., Sharp, P.S., Yeo, F.H.:** Monoclonal and polychonal antibodies compared for radioimmunoassay of somatomedin-C in patients with acromegaly or hypopituitarism. *Clin. Chemistry.* 33: 1593-1596, 1987.
19. **Busby, W.H., Klapper, D.G., Clemmons, D.R.:** Purifications of a 31.000 dalton insulin like growth factor binding protein from human amniotic fluid. *J. Biol. Chemist.* 263: 14203-14210, 1988.
20. **Calvo, J., Boya, J., Borregon, A., Garcia- Maurino, J.E.:** Presence of glial cells in the rat pineal gland: A light and electron microscopical immunohistochemical study. *The anatomical Record.* 220: 424-428, 1988.
21. **Cam, M., Yavuz, Ö., Güven, A., Ercan, F., Bukan, N., Üstündağ, N.:** Protective effects of chronic melatonin treatment against renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Pineal Res.* 35: 212-220, 2003.
22. **Campos, J.E., Gualillo, O., Lago, F., Otero, M., Blanco, M., Gallego, R., Garcia-Caballero, T., Goldring, M.B., Casanueva, F.F., Gomez-Reino, J.J., Dieguez, C.:** The endogenous growth hormone secretagogue (ghrelin) is synthesized and secreted by chondrocytes. *Endocrinology.* 146(3): 1285-1292, 2005.

23. **Canpolat, S., Aydin, M., Yasar, A., Colakoglu, N., Yilmaz, B., Kelestimur, H.:** Effects of pinealectomy and exogenous melatonin on immunohistochemical ghrelin staining of arcuate nucleus and serum ghrelin levels in the rat. *Neurosci. Lett.* 410(2): 132-136, 2006.
24. **Cassoni, P., Papotti, M., Ghe, C., Catapano, F., Sapino, A., Graziani, A., Deghenghi, R., Reissmann, T., Ghigo, E., Muccioli, G.:** Identification, characterization, and biological activity of specific receptors for natural (ghrelin) and synthetic growth hormone secretagogues and analogs in human breast carcinomas and cell lines. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 86: 1738-1745, 2001.
25. **Chang, L., Ren, Y., Liu, X., Li, W.G., Yang, J., Geng, B., Weintraub, N.L., Tang, C.:** Protective effects of ghrelin on ischemia/reperfusion injury in the isolated rat heart. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 43(2): 165-170, 2004.
26. **Chung, H., Kim, E., Lee, D.H., Seo, S., Ju, S., Lee, D., Kim, H., Park, S.:** Ghrelin inhibits apoptosis in hypothalamic neuronal cells during oxygen-glucose deprivation. *Endocrinology.* 148(1): 148-159, 2007.
27. **Çolakoğlu, N., Ozan, E., Sönmez, M.F., Yılmaz, S., Ozan, G.:** Sigaranın karaciğerde oluşturduğu yapısal değişiklikler üzerine melatonin ve C vitamini etkileri. *Fırat Tıp Derg.* 10(3): 108-112, 2005.
28. **Davis, J.C.:** The relation between the pancreatic alpha cells and certain cells in the gastric mucosa. *The Journal of Pathology and Bacteriology.* 67(1): 237-240, 1954.
29. **D'Ercole, A.J.:** Somatomedins / insulin-like growth factors, in Brook GD (edt) *Clinical Paediatric Endocrinology* second edn, Blackwell Scientific Publications. Oxford. 74-95, 1989.
30. **Doğurman, H., Uzunören, N., İkilimur, E., Altuğ, T.:** Melatonin uygulanan sıçanlarda ağırlık artışı, gonad gelişimi ve kan glutasyon düzeyleri. *Endokrinolojide Yönelişler.* 7(4): 114-116, 1998.
31. **Donder, E., Doğan, M.M., Kuloğlu, T., Dabak, Ö.D., Kocaman, N., Ozkan, Y.:** The investigation of the effects of enalapril and losartan on ghrelin immunoreactivity in kidney of streptozotocin-induced diabetic rats. *Fırat Tıp Dergisi.* 18(1): 1-6, 2013.

32. **Dornonville, D.E., Lacour, C., Lindstrom, E., Norlen, P., Hakanson, R.:** Ghrelin stimulates gastric emptying but is without effect on acid secretion and gastric endocrine cells. *Regulatory Peptides*. 120: 23-32, 2004.
33. **Dzaja, A., Dalal, M.A., Himmerich, H., Uhr, M., Pollmacher, T., Schuld, A.:** Sleep enhances nocturnal plasma ghrelin levels in healthy subjects. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 286: 963-967, 2004.
34. **Ergin, K., Başaloğlu, H.K.:** Kronik melatonin enjeksiyonunun renin granülleri üzerindeki histolojik etkisi. *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.* 15(2): 25-28, 2008.
35. **Erlich, S.S., Apuzzo, M.L.J:** The pineal gland: anatomy, physiology and clinical significance. *J. Neurosurg.* 63: 321-341, 1985.
36. **Eurell, J. A., Frappier, B.L. (Eds.):** Dellmann's Textbook of Veterinary Histology. Sixth Edition. Blackwell Publishing USA, 2006.
37. **Fant, M., Munro, H., Moses, A.C.:** An Autocrine / paracrine role for insulin like growth factor in the regulation of human placental growth. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 63: 499-505, 1986.
38. **Fu, Z., Kubo, T., Noguchi, T., Kato, H.:** Developmental changes in the mRNA levels of IGF-I and its related genes in the reproductive organs of japane quail(*Coturnix coturnix japonica*). *IGF Research*. 11: 24-33, 2001.
39. **Ganong, W.F.:** Tıbbi Fizyoloji. Barış Kitabevi. 1999.
40. **Garcia-Fernandez, M., Castilla-Cortazar, I., Diaz-Sanchez, M., Navaro,I., Puche, J.E, Castilla, A., Diaz-Casares, A., Clavijo, E., Gonzalez-Baron, S.:** Antioxidant effects of insulin-like growth factor-1(IGF-I) in rats with advanced liver cirrhosis. *BMC Gast. Entr.* 5: 5-7, 2005.
41. **Gnanapavan, S., Kola, B., Bustin, S.A., Morris, D.G., Mcgee, P., Fairclough, P., Bhattacharya, S., Carpenter, R., Grossman, A.B., Korbonits, M.:** The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 87: 2988-2991, 2002.
42. **Greenspen, F.S.:** Somatomedins in basic and clinical endocrinology. Spencer E.M. (Ed), Appleton & Lange USA. 7: 133-146, 1991.

43. **Guo, Z.F., Ren, A.J., Zheng, X., Qin, Y.W., Cheng, F., Zhang, J., Wu, H., Yuan, W.J., Zou, L.:** Different responses of circulating ghrelin, obestatin levels to fasting, re-feeding and different food compositions, and their local expressions in rats. *Peptides*. 29: 1247-1254, 2008.
44. **Guyton, A.C., Hall, J.E.:** Tıbbi Fizyoloji. Nobel Tıbbıtabevleri Ltd. Şti. İstanbul, 1996.
45. **Gülmez, N.:** Sindirim Sistemi III. 185-196. Özer, A. (Editör). Veteriner Özel Histoloji. I. Baskı. Nobel Yayın. Ankara, 2008.
46. **Hamada, T., Ootomi, M., Horikawa, K., Niki, T., Wakamatu, H., Ishida, N.:** The expression of the melatonin synthesis enzyme: Arylalkylamine N-Acetyltransferases in the suprachiasmatic nucleus of rat brain. *Biochem and Biophys. Res. Commun.* 258: 772-777, 1999.
47. **Hansson, H.A., Nilsson, A., Isgaard, J., Billig, H., Isaksson, O., Skottner, A., Andersson, L.K., Rozell, B.:** Immunohistochemical localization of insülin-like growth factor I in the adult rat. *Histochemistry*. 89: 403-410, 1988.
48. **Hardeland, R., Reiter, R.J.:** The significance of the metabolism of the neurohormone melatonin. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 17: 347-356, 1993.
49. **Hataya, Y., Akamizu, T., Takaya, K., Kanamoto, N., Ariyasu, H., Saijo, M., Moriyama, K., Shimatsu, A., Kojima, M., Kangawa, K., Nakao, K.:** A low dose of ghrelin stimulates growth hormone (GH) release synergistically with GH-releasing hormone in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 86: 552-555, 2001.
50. **Hsu, S.M., Raine, L., Fanger, H.:** Use of Avidin-Biotin-Peroxidase Complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *Journal Histochemistry & Cytochemistry*. 29: 577-580, 1981.
51. **Ianaş, O., Olinescu, R., Bădescu, I.:** Melatonin involvement in oxidative processes. *Endocrinologie*. 29(3-4): 147-53, 1991.

- 52. Janssen, J.A., Van Der Toorn, F.M., Hofland, L.J., Van Koetsveld, P., Broglio, F., Ghigo, E., Lamberts, S.W., 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.* 145(6): 711-716, 2001.
- 53. Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O.:** Temel Histoloji. Çev. Ed.: Aytekin, Y. 7. Baskı. Barış Kitabevi. İstanbul, 1992.
- 54. Kaiya, H., Darras, V.M, Kangawa, K.:** Ghrelin in birds: Its structure, distribution and function. *The Journal of Poultry Science.* 44(1): 18, 2007.
- 55. Kasimay, O., Iseri, S.O., Barlas, A., Bangir, D., Yegen, C., Arbak, S., Yegen, B.C.:** Ghrelin ameliorates pancreaticobiliary inflammation and associated remote organ injury in rats. *Hepatol. Res.* 36(1): 11-19, 2006.
- 56. Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M., Matsuo, H., Kangawa, K.:** Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature.* 402: 656-660, 1999.
- 57. Kojima, M., Hosoda, H., Matsuo, H., Kangawa, K.:** Ghrelin: discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *Trends Endocrinol. Metab.* 12: 118-122, 2001.
- 58. Koral Taşçı, S., Gülmez, N.:** Melatonin uygulanan farelerin karaciğer dokusunda glutatyon peroksidazın immunohistokimyasal dağılımı ve RT PCR ile gen ekspresyonu. Doktora Tezi. Kars, 2011.
- 59. Korbonits, M., Goldstone, A.P., Gueorguev, M., Grossman, A.B.:** Ghrelin-a hormone with multiple functions. *Frontiers in Neuroendocrinology.* 25: 27-68, 2004.
- 60. KostECKA, Z., Blahovec, J.:** İnsulin-like growth factor binding proteins and their functions. *Endocrine. Regulations.* 33: 90-94, 1999.
- 61. Kuloğlu, T., Dabak, D.Ö.:** Determination of ghrelin immunoreaktivite in kidney tissues of diabetic rats. *Renal Failure.* 31: 562-566, 2009.
- 62. Kuş, İ., Zararsız, İ., Ögetürk, M., Yılmaz, H.R.:** Formaldehit nörotoksitesine bağlı hipokampusta gelişen oksidatif hasar ve melatonin hormonunun koruyucu etkisi: deneysel bir çalışma. *Fırat Tıp Derg.* 12(4): 256-260, 2007.

63. **Kvetnoy, I., Sandvik, A.K., Waldum, H.L.:** The diffuse neuroendocrine system and extrapineal melatonin. *J. Mol. Endocrinology*. 18: 1-3, 1997.
64. **Lerner, A.B., Case, J.D., Takahashi, Y.:** Isolation of melatonin, pineal factor that lightens melanocytes. *J. Am. Chem. Soci.* 80: 2587, 1958.
65. **LeRoith, D.:** Insulin-like growth factors. *N. Engl. J. Med.* 336: 633-640, 1997.
66. **Litwack, G.:** Ghrelin, first edition, Elsevier, USA. 77: 13-25, 2008.
67. **Li, W.G., Gavril, D., Liu, X., Wang, L., Gunnlaugsson, S., Stoll, L.L., McCormick, M.L., Sigmund, C.D., Tang, C., Weintraub, N.L.:** Ghrelin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappaB activation in human endothelial cells. *Circulation*. 109(18): 2221-2226, 2004.
68. **Longoni, B., Salgo, M.G., Pryor, W.A., Marchiafava, P.L.:** Effects of melatonin on lipid peroxidation induced by oxygen radicals. *Life Sci.* 62: 853-859, 1998.
69. **Luna, L.G.:** Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. Third Ed. Me Graw-Hill Book Comp. 1968.
70. **Mauriz, J.L., Molpeceres, V., Garcia-Mediavilla, M.V., Gonzalez, P., Barrio, J.P., González-Gallego, J.:** Melatonin prevents oxidative stress and changes in antioxidant enzyme expression and activity in the liver of aging rats. *J. Pineal Res.* 42(3): 222-230, 2007.
71. **McQueeney, K., Dealy, C.N.:** Roles of insulin-like growth factor-1(IGF-I) and IGF-I binding protein-2(IGFBP-2) and -5(IGFBP-5) in developing chick limbs. *Growth hormone & IGF research*. 11: 346-363, 2001.
72. **Mitchell, S.E., Nogueiras, R., Rance, K., Rayner, D.V., Wood, S., Dieguez, C., Williams, L.M.:** Circulating hormones and hypothalamic energy balance: regulatory gene expression in the Lou/C and Wistar rats. *Journal of Endocrinology*. 190(3): 571-579, 2006.
73. **Mills, N.C., D'Ercole, A.J., Underwood, L.E., Han, J.:** Synthesis of somatomedin C/ insulin-like growth factor 1 bay human placenta. *Mol. Biol. Rep.* 11(4): 231-236, 1986.
74. **Monzavi, R., Cohen, P.:** IGFs and IGFBPs : role in health and disease. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 16: 433-447, 2002.

75. **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.* 486(3): 213-216, 2000.
76. **Morton, G.J., Schwartz, M.W.:** The NPY/AgRP neuron and energy homeostasis. *International Journal of Obesity.* 25: 56-62, 2001.
77. **Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K., Rodwell, V.W.:** Harper'in *Biyokimyası*, Barış Kitabevi, İstanbul, 595-614, 1993.
78. **Mustonen, A.M., Nieminen, P., Hyvarinen, H.:** Preliminary evidence that pharmacologic melatonin treatment decreases rat ghrelin levels. *Endocrine.* 16: 43-46, 2001.
79. **Neely, E.K., Beukers, M.W., Oh, Y., Cohen, P., Rosenfeld, R.G.:** Insulin-like growth factor receptors. *Acta. Pediatr Scand. (Suppl).* 372: 83-90, 1991.
80. **Norstedt, G., Levinovitz, A., Moller, C., Erikson, L.C., Anderson, G.:** Expression of insulin-like growth factor I and II mRNA during hepatic development, proliferation and carcinogenesis in the rat. *Carcinogenesis.* 9(2): 209-213, 1988.
81. **Oner, J., Kuş, I., Oner, H.:** Melatonin increases the expression of insulin-like growth factor I in rats with carbontetrachlorid- induced hepatic damage. *Journal of Animal and Veterinary Advances.* 8(11): 2256-2261, 2009.
82. **Oner, J., Oner, H., Sahin, Z., Demir, R., Ustunel, I.:** Melatonin is as effective as testosterone in the prevention of solves muscle atropy induced by castration in rats. *Anat. Rec.* 291(4): 448-455, 2008.
83. **Ostrowska, Z., Kos-Kudla, B., Swietochowska, E., Marek, B., Kajdaniuk, D., Ciesielska-Kopacz, N.:** Influence of pinealectomy and long-term melatonin administration on GH-IGF-I axis function in male rats. *Neuro. Endocrinol. Lett.* 22(4): 255-262, 2001.
84. **Palaoğlu, S., Beşkonaklı, E.:** Pineal bez ve yaşlanma. *Turkish J. Geriatrics.* 1(1): 13-18, 1998.

85. **Pawlikowski, M., Kolomecka, M., Wojtezak, A., Karasek, M.:** Effects of six months melatonin treatment on sleep quality and serum concentrations of estradiol, cortisol, dehydroepiandrosterone sulfate and somatomedin C in elderly women. *Neuroendocrinol. Lett.* 23: 17-19, 2002.
86. **Peino, R., Baldelli, R., Rodriguez-Garcia, J., Rodriguez-Segade, S., Kojima, M., Kangawa, K., Arvat, E., Ghigo, E., Dieguez, C., Casa-nueva, F.F.:** Ghrelin-induced growth hormone secretion in humans. *Eur. J. Endocrinol.* 143(6): 11-14, 2000.
87. **Penev, P.D., Zee, P.C.:** Melatonin: a clinical perspective. *Ann. Neurol.* 42: 545-553, 1997.
88. **Peter, H.J., Burgi, U., Gerber, H.:** Pathogenesis of nontoxic diffuse and nodular goiter. In: *The thyroid* 7th Ed: Brawerman LE, Utiger RD, New York Lippincott-Raven. 890-908, 1996.
89. **Picinato, M.C., Hirata, A.E., Cipolla-Neto, J., Curi, R., Carvalho, C.R., Anhô, G.F., Carpinelli, A.R.:** Activation of insulin and IGF-I signaling pathways by melatonin through MT1 receptor in isolated rat pancreatic islets. *J. Pineal Res.* 44(1): 88-94, 2008.
90. **Rauch, F., Schoenau, E.:** Skeletal development in premature infants: A review of bone physiology beyond nutritional aspects. *Archives of disease in childhood fetal and neonatal edition.* 86: 82-85, 2002.
91. **Reiter, R.J.:** The mammalian pineal gland: structure and function. *Am. J. Anat.* 162(4): 287-313, 1981.
92. **Reiter, R.J.:** Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals: a brief review. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 26: 1141-1155, 1993.
93. **Reiter, R.J.:** Functional aspects of the pineal hormone melatonin in combating cell and tissue damage induced by free radicals. *Eur. J. Endocrinol.* 134: 412-420, 1996.
94. **Rios-Lugo, M.J., Joménez-Ortega, V., Fernández-Mateos, M.P., Scacchi, P.A., Cardinali, D.P., Esquifino, A.I.:** Melatonin effect on plasma adiponectin, leptin, insulin, glucose, triglycerides and cholesterol in normal and high fat-fed rats. *J. Pineal Res.* 49(4): 342-348, 2010.

- 95. Rocha, E.M., Cunha, D.A., Cameiro, E.M., Boshero, A.C., Sead, M.J., Vellase, L.A.:** Identification of insulin in the tear film and insulin receptor and IGF-I receptor on the human ocular surface. *Physiology*. 43: 963-967, 2002.
- 96. Rosenfeld, R.G.:** Disorders of growth hormone and insulin-like growth factor secretion and action. In: Sperling MA (ed). WB Saunders Co, Philadelphia, *Pediatric Endocrinology*. 117-171, 1996.
- 97. Schaffazick, S.R., Siqueira, I.R., Badejo, A.S., Jornada, D.S., Pohlmann, A.R., Netto, C.A., Guterres, S.S.:** Incorporation In polymeric nanocapsules Improves the antioxidant effect of melatonin against lipid peroxidation In mice brain and liver. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 69(1): 64-71, 2008.
- 98. Shimasaki, S., Shimonaka, M., Zhang, H.P., Ling, N.:** Identification of five different insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) from adult rat serum and molecular cloning of a novel IGFBP-5 in rat and human. *Journal of Biological Chemistry* (in press). 1991.
- 99. Simsek, N., Kaya, M., Kara, A., Can, I., Karadeniz, A., Kalkan, Y.:** Effects of melatonin on islet neogenesis and beta cell apoptosis in streptozotocin-induced diabetic rats: an immunohistochemical study. *Domestic Animal Endocrinology*. 43: 47-57, 2012.
- 100. Soriano-Guillen, L., Barrios, V., Chowen, J.A., Sánchez, 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.* 144(1): 30-35, 2004.
- 101. SPSS.:** 2.0 Windows and Smart Viewer, 2010.
- 102. Şener, G.:** Karanlığın hormonu: Melatonin. *Marmara Eczacılık Dergisi*. 14: 112-120, 2010.
- 103. Takeda, R., Nishimatsu, H., Suzuki, E., Satonaka, H., Nagata, D., Oba, S., Sata, M., Takahashi, M., Yamamoto, Y., Terauchi, Y., Kadowaki, T., Kangawa, K., Kitamura, T., Nagai, R., Hirata, Y.:** Ghrelin improves renal function in mice with ischemic acute renal failure. *J. Am. Soc. Nephrol.* 17(1): 113-121, 2006.

- 104.Tanaka, M., Hayashida, Y., Iguchi, T., Nakao, N., Nakai, N., Nakashima, K.:** Organization of the mouse ghrelin gene and promoter: occurrence of a short noncoding first exon. *Endocrinology*. 142(8): 3697-3700, 2001.
- 105.Tanyolaç, A.:** Özel Histoloji. Yorum Basın Yayın San. Ankara, 1999.
- 106.Taş, U., Ögetürk, M., Meydan, S., Irmak Sapmaz, H., Dabak, D.Ö., Kuloğlu, T., Sarsılmaz, M.:** Tolüen solutulan sıçanların karaciğerinde ghrelin ekspresyonu. *F.Ü. Sağ. Bil. Tıp. Derg.* 23(3): 151-154, 2009.
- 107.Terron, M.P., Delgado-Adamez, J., Pariente, J.A., Barriga, C., Paredes, S.D., Rodriguez, A.B.:** Melatonin reduces body weight gain increases nocturnal activity in male Wistar rats. *Physiology & Behavior*. 118: 8-13, 2013.
- 108.Tschop, M., Weyer, C., Tataranni, P.A., Devanarayan, V., Ravussin, E., Heiman, M.L.:** Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes*. 50: 707-709, 2001.
- 109.Üstündağ, B., Canatan, H.:** Melatonin: Güçlü bir antioksidan ve serbest radikal giderici. *Fırat Tıp Der.* 1: 7, 1999.
- 110.Valcavi, R., Zini, M., Maestroni, G.J., Conti, A., Portioli, I.:** Melatonin stimulates growth hormone secretion through pathway other than the growth hormone-releasing hormone. *Clin. Endocrinol(Oxf)*. 39(2): 193-199, 1993.
- 111.Van Neste, L., Husman, B., Moeller, C., Andersson, G., Norstedt, G.:** Cellular distribution of somatogenic receptors and insulin-like growth factor-I mRNA in the rat liver. *J. Endocrinol.* 119: 69-74, 1988.
- 112.Vanecek, J., Sugden, D., Weller, J.L., Klein, D.C.:** Atypical synergistic α 1- and β -adrenergic regulation of adenosine -3',5'-monophosphate and guanosine 3',5'- monophosphate in rat pinealocytes. *Endocrinology*. 116(6): 2167-2173, 1985.
- 113.Vardı, N., Iraz, M., Öztürk, F., Gül, M., Uçar, M., Çetin, A., Nalçacı, N., Otlı, A.:** Deneysel diyabetin sıçan karaciğerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler üzerine melatoninin iyileştirici etkileri. *Türkiye Klinikleri J. Med. Sci.* 27: 641-648, 2007.

- 114.Vriend, J., Sheppard, M.S., Borer, K.T.:** Melatonin increases serum growth hormone and insulin-like growth factor I (IGF-I) levels in male Syrian hamsters via hypothalamic neurotransmitters. *Growth Dev. Aging.* 54: 165-167, 1990.
- 115.Waldhauser, F., Boepple, P.A., Schemper, M., Mansfield, M.J., Crowley W.F.:** Serum melatonin in central precocious puberty is lower than in age-matched prepubertal children. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 73: 793-796, 1991.
- 116.Wang, G., Lee, H.M., Englander, E., Greeley, G.H.:** Ghrelin not just another stomach hormone. *Regul. Pept.* 105: 75-81, 2002.
- 117.Wang, H.S., Chard, T.:** The role of insulin-like growth factor I and insulin like growth factor binding protein I in the control of human fetal growth. *J. Endocrinol.* 132: 11-19, 1992.
- 118.Wang, H.S., Lim, J., English, J., Irwine, L., Chard, T.:** The concentration of insulin like growth factor I and insulin like growth factor binding protein I in human umbilical cord serum at delivery relation to fetal weight *J. Endocrinol.* 129: 459-464, 1991.
- 119.Wessam, M., Wahab, A.:** AlCl₃. induced toxicity and oxidative stress in liver of male rats: Protection by melatonin. *Life Science Journal.* 9(4): 2012.
- 120.Whatmore, A.J., Hall, C.M., Jones, J., Westwood, M., Clayton, P.E.:** Ghrelin concentrations in healthy children and adolescents. *Clin. Endocrinol.* 59(5): 649-654, 2003.
- 121.Wolden-Hanson, T., Mitton, D.R., McCants, R.L., Yellon, S.M., Wilkinson, C.W., Matsumoto, A.M., Rasmussen, D.D.:** Daily melatonin administration to middle-age male rats suppresses body weight, intraabdominal adiposity, and plasma leptin and insulin independent of food intake and total body fat. *Endocrinology.* 141(2): 487-497, 2000.
- 122.Wren, A.M., Seal, L.J., Cohen, M.A., Brynes, A.E., Frost, G.S., Murphy, K.G., Dhillo, W.S., Ghatei, M.A., Bloom, S.R.:** Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 86(12): 5992, 2001.

- 123.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.* 126: 231-238, 2006.
- 124.Yakar, S., Liu, J.L., Roith, D.L.:** The growth hormone/insulin-like growth factor-1 system:İmplications of organ growth and development. *Pediatry Nephrol.* 14: 544-549.
- 125.Yazıcı, C., Köse, K.:** Melatonin: Karanlığın antioksidan gücü. *Erciyes Üniv. Sağ. Bil. Derg.* 13(2): 56-65, 2004.
- 126.Yılmaz, B.:** Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi. Feryal Matbaacılık. Ankara, 1999.
- 127.Zık, B.:** Uriner Sistem. 197-218. Özer, A. (Editör). *Veteriner Özel Histoloji.* I. Baskı. Nobel Yayın. Ankara, 2008.

9. ÖZGEÇMİŞ

Tokat'ın Turhal ilçesinde 15.02.1984 tarihinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Turhal'da tamamladım. 2001 yılında Kafkas Üniversitesi Kars Sağlık Yüksekokulu'nda lisans öğrenimime başladım ve 2005 yılında bu yüksekokuldan mezun oldum. 2005 yılında Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek lisans öğrenimime başladım. 2005-2007 yılları arasında Kafkas Üniversitesi Kars Sağlık Yüksekokulu'na bağlı olarak staj alanındaki öğrencilerden sorumlu görevli olarak çalıştım. 2008 yılında Yüksek lisans öğrenimimi tamamlayarak, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora eğitimime başladım. 2012 yılında Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi'ne hemşire olarak atandım halen ameliyathane hemşiresi olarak görevime devam etmekteyim. Evli ve bir çocuk annesiyim.