

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PUBERTE DÖNEMİNDE CAPSAİCİN UYGULANAN SIÇANLARIN
BÖBREK DOKUSUNDA VASKÜLER ENDOTEL BÜYÜME FAKTÖRÜ'NÜN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL LOKALİZASYONU

KADER ÇİFÇİ
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

DANIŞMAN
Prof. Dr. MÜMTAZ NAZLI

2011-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PUBERTE DÖNEMİNDE CAPSAİCİN UYGULANAN SIÇANLARIN
BÖBREK DOKUSUNDA VASKÜLER ENDOTEL BÜYÜME FAKTÖRÜ'NÜN
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL LOKALİZASYONU

KADER ÇİFÇİ
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

DANIŞMAN
Prof. Dr. MÜMTAZ NAZLI

2011-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Kader ÇİFÇİ tarafından hazırlanmış olan "Puberte Döneminde Capsaicin Uygulanan Sıçanların Böbrek Dokusunda Vasküler Endotel Büyüme Faktörü'nün İmmünohistokimyasal Lokalizasyonu" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerekoy ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

12.09.2011

Adı Soyadı

İmza

Başkan: Prof.Dr. Nurhayat Yecan GÜLMEZ

Üye : Prof.Dr. Mümtaz NAZLI

Üye : Doç.Dr. Hasan ÖZEN

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

Prof. Dr. Mehmet ÇİTİL

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince bana ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren sevgili danışman hocam Prof.Dr. Mümtaz NAZLI' ya ve çalışmamda bana gösterdikleri yardım ve destekten dolayı Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof.Dr. Nurhayat YECAN GÜLMEZ, Prof.Dr. Şahin ASLAN, Prof.Dr. Hakan KOCAMIŞ, Doç.Dr. Ebru KARADAĞ SARI,, Yrd.Doç. Dr. Turgay Deprem, Yrd.Doç.Dr. Seyid Ali BİNGÖL, Arş.Gör.Dr Serap KORAL TAŞÇI, Öğr.Gör.Dr. Sevda ELİŞ YILDIZ, Arş.Gör.Dr. Gökhan NUR ve doktora öğrencisi Seher KOÇ SALTAN' a, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ailemin tüm bireyelerine ve emeği geçen herkese teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmamda benden yardımlarını esirgemeyen 19 Mayıs Üniversitesi Patoloji A.B.D. Öğretim Üyesi Doç.Dr. Mahmut SÖZMEN' e çok teşekkür ederim.

KISALTMALAR

ADH: Antidiüretik Hormon

AEC: Aliminum extruders council

cDNA: Komplementary DNA

CAG: Krom alum jelatin

GFAP: Glial fibrillary acidic protein

HRP: Horseradish peroxidase

H₂O₂: Hidrojen peroksit

NO: Nitrik oksit

PBS: Fosfat buffer salin

PGI₂: Prostacyclin

PIGF: Plasenta büyüme faktörü

STAT3: Activator of transcription 3

VEGF: Vasküler endotel büyüme faktörü

VEGFR: Vasküler endotel büyüme faktör reseptörü

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Tablo Listesi	I
Şekil Listesi	II
1. GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER	1
1.1. Böbrek	1
1.1.1. Böbreklerin Embriyonel Gelişimi	1
1.1.2. Böbreklerin Histolojisi	1
1.1.2.1. Korpuskulum renis	2
1.1.2.2. Tubulus proksimalis	3
1.1.2.3. Henle kulpu	3
1.1.2.4. Tubulus distalis	3
1.1.2.5. Tubulus konnektivus	4
1.1.2.6. Toplayıcı Borucuklar	4
1.2. SİTOKİNLER	4
1.2.1. Sitokinlerin Alt Grupları	5
1.3. BÜYÜME FAKTÖRLERİ	5
1.3.1. Vasküler endotel büyüme faktörü	6
1.3.1.1. Giriş	6
1.3.1.2. Tarihçesi	6
1.3.1.3. VEGF Ailesi	7
1.3.1.4. VEGF' nin Reseptörleri	10
1.3.1.5. VEGFR' nin Sinyal İletisi	12
1.3.1.6. VEGF' nin Fonksiyonları	12
1.4. Capsaicin	14

2. MATERYAL VE METOD	17
2.1. Materyal	17
2.1.1. Deney Hayvanları ve Bakım Koşulları	17
2.2. Metot	17
2.2.1. Deney Grupları ve Capsaicin Uygulanması	17
2.2.2. Capsaicin Uygulanması	17
2.3. Histolojik İncelemeler	18
2.4. İmmunohistokimyasal İncelemeler	18
3. BULGULAR	21
3.1. Deneme ve kontrol grubuna ait VEGF immünoreaktivitesinin karşılaştırılması	21
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	30
5. ÖZET	34
6. SUMMARY	35
7. KAYNAKLAR	36
8. ÖZGEÇMİŞ	44

TABLO LİSTESİ**Sayfa No****Tablo 1.** VEGF izoformlarının özellikleri

8

Tablo 2. VEGF ailesi ve fonksiyonları

9

Tablo 3. Puberte döneminde capsaicin uygulanan sıçanların deneme ve kontrol grubunda böbrek yapılarına ait VEGF düzeylerinin karşılaştırılması

21

ŞEKİL LİSTESİ	Sayfa No
Şekil 1: Capsaicinin kimyasal yapısı	14
Şekil 2: Kontrol grubuna ait sıçan böbreği. Normal yapıdaki tubulus distalis, tubulus proksimalis ile korpuskulum renis	23
Şekil 3: Deneme grubuna ait sıçan böbreği. Normal yapıdaki çıkan henle	23
Şekil 4: Deneme grubuna ait sıçanların böbrek dokusunda VEGF immünoreaktivitesi. Korteks ve medulla	24
Şekil 5: Kontrol grubuna ait sıçanların böbrek dokusunda VEGF immünoreaktivitesi. Korteks ve medulla	24
Şekil 6: Deneme grubuna ait sıçanların böbrek korteksinde VEGF immünoreaktivitesi	25
Şekil 7: Kontrol grubuna ait sıçanların böbrek korteksinde VEGF immünoreaktivitesi	25
Şekil 8: Deneme grubuna ait tubulus konnektivus ve çıkan henlede VEGF' nin immünohistokimyasal lokalizasyonu	26
Şekil 9: Kontrol grubuna ait tubulus konnektivus ve çıkan henlede VEGF' nin immünohistokimyasal lokalizasyonu	26
Şekil 10: Puberte döneminde capsaicin uygulanan deneme grubundaki sıçanların böbrek dokusundaki damar endoteline ait VEGF' nin immünohistokimyasal lokalizasyonu	27
Şekil 11: Puberte döneminde capsaicin uygulanan kontrol grubundaki sıçanların böbrek dokusundaki damar endoteline ait VEGF' nin immünohistokimyasal lokalizasyonu	27
Şekil 12: Deneme grubuna ait tubulus kollektivuslarda VEGF' nin immünohistokimyasal lokalizasyonu	28

Şekil 13: Kontrol grubuna ait tubulus kollektivuslarda VEGF' nin immünohistokimyasal lokalizasyonu	28
Şekil 16: Negatif kontrol	29

1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

1.1. Böbrek

Böbrekler, vücudun homeostasisini düzenlemeyle görevli hayati organlardır. Temel fonksiyonları vücutta meydana gelen metabolizma artıklarının büyük kısmını dışarı atma ve vücut sıvılarındaki yer alan maddelerin çoğunun konsantrasyonunu kontrol etmektir. Böbrek vücudun asit- baz dengesi, kan basıncı ve sıvı volümünü ayarlar ve idrarı oluşturur. Ayrıca eritropoetin ve renin gibi önemli hormonları üretmekle görevlidir. Eritropoetin kemik iliğinde kırmızı kan hücrelerinin yapılması üzerine etkilidir, renin ise kan basıncını ayarlama görevlidir (13).

1.1.1. Böbreklerin Embriyonel Gelişimi

Üriner sistemde böbreklerin gelişimi kademeli olarak ürogenital kıvrım boyunca kranialden kaudale sırasıyla pronefroz , mezonefroz ve metanefroz olmak üzere üç kademede gelişir. En ilkel böbrek tipi pronefrozdur. Pronefroz amphioxus ve ilkel balıklarda işlevseldir. Mezenefroz kanatlı ve kurbağada, metanefroz ise kanatlı, memeli hayvanlarda ve insanda daimi böbrek fonksiyonunu yerine getirir (27).

1.1.2. Böbreklerin Histolojisi

Böbrekler sağlı sollu olarak karın boşluğunun arka bölgesinde bulunan bir çift organdır. Böbreğin dış kısmı fibröz kapsül ile çevrilidir. Kapsül içerisinde az da olsa elastik fibriller yer almaktadır. Yaşla birlikte kapsül ve fibrillerin sayısında artış olur. Fibröz kapsül, böbreğin hilus (göbek) denilen iç bükey kısmından organın içerisine girer. Bütün bu bağdokulu kısımlar böbreğin intersitisyum denilen iç kısmını oluşturmaktadır. İntersitisyumun bulunduğu kısımlar ise böbreğin parenşimini oluşturur. Böbrek parenşimi nefron ve toplayıcı borucuklar olarak iki kısımdan meydana gelir. Böbrek parenşimi, embriyonel kökenini nefrogen mezenşimden alırsa nefron, eğer wolff kanalından alırsa buna da toplayıcı borucuklar denir. Parenşim üniteleri

ve interstisyum, böbrekte kendine özgü bir yayılım göstermektedir. Bu nedenle böbrek dokusunda iki ayrı bölge olan korteks ve medulla ayırt edilir. Korteks ve medulla arasındaki sınır iki elin birbirine geçtiği gibi girintili çıkıntılı bir yapıyı andırır. Nefronu oluşturan yapılar şunlardır (53).

Nefron

- Korpuskulum renis (Malpigi cisimciği)
- Tubulus proksimalis
- Henle kulpu
- Tubulus distalis
- Tubulus konnektivus

Toplayıcı borucular

- Tubulus kollektivus
- Duktus papilaris

1.1.2.1. Korpuskulum renis: Malpighi cisimciği de denilir. Kortekste yer alır. Bu yapı glomerulus ve bowman kapsülü denilen iki yapıdan oluşur. Korteks içerisine sağlı sollu dallanan arteria interlobularislerin her biri aferent arteriolü oluşturmaktadır. Aferent arterioller ilk olarak özel arteriyal kılcallara dönüşür ve daha sonra kıvrımlar oluşturarak glomerulus yapısını meydana getirirler. Malpighi cisimciğinde, glomerulusu oluşturan aferens ve eferens arteriollerin bulunduğu kısma damar kutpu, bu kutbun tam karşısında bulunan ve süzülen sıvıyı ileten tüpün başlangıç kısmına da idrar kutpu denir. Damar kutpunda aferens arteriolden geçen kan miktarını düzenleyen bir mekanizma bulunur.

Bowman kapsülünün glomerulusa bakan kısmına iç (visseral), dış duvarına bakan kısmına ise dış (periyatal) yaprak denir. Bu yaprağın her ikisi de epitel hücrelerinden oluşur. İç yaprak kılcıl damarları sararak kılcallar üzerinde uzunca sitoplazmik uzantılar oluşturur ki bu yapılara podosit adı verilir. Dış yaprak ise tek katlı yassı epitel hücrelerden oluşur (64).

1.1.2.2. Tubulus proksimalis: Bu yapı idrar kutpundan başlayıp bowman kapsülünde pariyetal yaprağın devamı şeklindedir. İki yapıdan oluşmaktadır. Bu yapılar pars kontorta olan çok kıvrımlı bir yapı ve korteksten medullaya uzanan düz parça da pars rektadır. Tubulus proksimalis bowman aralığına geçen ultrafiltratın 3/4' lük kısmının geri emilimini sağlayan bölümüdür. Görünümleri ışık mikroskopunda fırçası bir kenar gibi olup bu yapılar tubulus lümenini daraltır. Elektron mikroskopundaki görünümleri mikrovillusludur. Böbrekte çok miktarda sıvı hareketi söz konusudur. Böbreklerde de gelişmiş bir damar sistemi olmadığından tubuluslar tarafından bu iş yürütülmektedir. Tubulus proksimalislerde su, glikoz, küçük moleküllü proteinler ve bazı iyonlar geri emilebilirler (64).

1.1.2.3. Henle kulpu: Hipertonik ortamdaki primer idrararın sekonder idrara dönüşmesinde görevli olup medullada bulunan henle kulpu, inen (desendens) ve çıkan (asendes) olmak üzere iki yapıdan oluşur. İnen henlenin duvarını oluşturan hücreleri yassıdır. İnen henlenin membranları suyun geçişinde önemli bir yere sahiptir. İnen henleye göre çıkan henlenin çapı daha geniştir. İnen henle sadece suyun geçişine izin verirken çıkan henle hem suyun geçişine olanak verir, hem de suda eriyen (tuz, üre v.b) maddelerin geçişini sağlar (64).

1.1.2.4. Tubulus distalis: Çıkan henlenin devamı biçiminde olup, düz parça ile bundan sonraki kıvrımlı parçalardan oluşur. Tubulus proksimalislere göre daha kısa olan bu yapı kortekste bulunur. Asit boyalarla boyandıklarında sitoplazmaları açık renkte boyanır ve sınırları tam olarak belli değildir. Tubulus distalislerde çok miktarda mitokondriyon ve mikrovilluslar bulunur. Bu yapılar sayesinde aktif bir sodyum iyon transportu oluşur. Yani idrara hidrojen ve amonyum iyonları salınır. Bu sebepten tubulus distalis, adren korteksinden salgılanan aldosteron ile hipofiz arka lobundan gelen antidiüretik hormon (ADH)'un etkisiyle asit-baz dengesi ve su metabolizmasının düzenlenmesinde, yani tüm organizmada iç dengenin sabit tutulmasında önemli bir yere sahiptir (64).

1.1.2.5. Tubulus konnektivus: Tubulus distalisten sonraki kısa bağlantı yerleridir. Korteks ve medulla sınırında bulunan bu yapı birleşerek medulla kısmına geçip böbreğin toplayıcı borucuklarını oluştururlar. Sitoplazmaları çok iyi boya almayan kübik hücrelerden oluşur (64).

1.1.2.6. Toplayıcı borucuklar: Tubulus kollektivus ve duktus papillaris denilen iki yapıdan oluşur. Tubulus kollektivuslar tubulus konektivustan sonraki borucuk şeklinde yapılardır. Medullar radyustan başlayan madulanın korteksine komşu olan kısmıdır. Başlangıçta basit prizmatik olan hücreler, pelvis renalise doğru gittikçe yüksek prizmatik bir şekil alırlar. Burada çapları biraz daha artar. Sitoplazmaları organel bakımından fakirdir ve sitoplazmanın rengi soluktur. Özellikle de suyun reabzorsiyonunda görevlidir (64).

Duktus papillarisler tubulus kollektivusların bir araya gelmesiyle oluşur. Genellikle duvarları tek katlı çok yüksek prizmatiktir. Mikrovilluslar hiç olmadığından ya da çok kısa olduğu için lumenleri düzgündür. Meydana gelen idrar, duktus papillaristen kaliks renalise ya da pelvis renalise ve oradan da üreterler aracılığıyla idrar kesesine geçer (64).

1.2. SİTOKİNLER

Bağışıklık sisteminde üretilen hücrelerdeki sitokinler, bağışıklık sisteminde yer alan birçok hücre fonksiyonunu düzene koymaktadır. Sitokinler bağışıklık sisteminde birçok mikroorganizma v.b. antijenlerin yardımıyla hücrelerde farklı yanıtlar oluşturabilirler. Sitokinler lenfositlerden salgılanırlarsa lenfokin, monositler tarafından salgılanırsa monokin, kemotaksiste etkiliyse kemokin, sadece bir lökosit tarafından üretilip diğer lökositlerde etkiliyse interlökin diye adlandırılır (8).

Sitokinler lenfosit, monosit, makrofaj ve diğer bazı hücrelerden salgılanan peptid ya da glikoprotein yapıda olan maddelerdir. Antijene özgü olmayıp etkileri nonspesifiktir. Genellikle lokal etkinlik gösterirler. Bazı sitokinler salgılandıkları hücreyi etkilerler bunlara otokrin etki, bazıları yakınlarındaki komşu hücreleri etkilerler bunlara da parakrin etki, bazıları da

vücutun uzak bölgelerine farklı dokuları etkilemek amacıyla (kan ya da plazmayla taşınıp) yayılırlar bunlara da endokrin etki denir (3,23,30,47,51).

Sitokinler çok çeşitli hücreler (hemopoietik ve non-hemopoietik hücrelerin hepsi) tarafından üretilirler ve hücrelerin civarında veya canlının her yerinde etkili olabilirler. Bu etkileri diğer kimyasal maddeler ve sitokinlerin bulunmasına oldukça bağlıdır (23,30,47,51).

1.2.1. Sitokinlerin Alt Grupları

Sitokinler İnterlökinler, Koloni Stimule Edici Faktörler, Tümör Nekrotize Edici Faktörler ve İnterferon olmak üzere 4 alt gruba ayrılmaktadır (45).

1.3. BÜYÜME FAKTÖRLERİ

Büyüme faktörleri ağırlıkları 4.000-60.000 Dalton arasında olan, küçük bir miktarları dahi hücre aktivitesinde etkili proteinlerdir (59). Büyüme faktörü terimi ilk olarak T lenfositler ve makrofajlarca üretilmiş olan bir madde için kullanılmıştır. Büyüme faktörü hücreleri endokrin, parakrin, otokrin ve intakrin şeklinde mekanizmalarla etkilerini gösterirler (49).

Endokrin faktörler hücreye kan yoluyla gidip uzağında bulunan hücreyi etkiler. Parakrin faktörler salgılandıkları yerde etkilidir. Otokrin faktörler; kendilerince salgılanan hücre fonksiyonlarında etkilidir (59,22). İntakrin faktörler ise bazı transforme fibroblastlarla hiç salgılanmamış faktörlerde hücrenin kendi içinde etkilidir (8).

Büyüme faktörünün bir hücreyi etkileyebilmesi için, etkilediği hücrede o faktöre özgü reseptöre sahip olması gerekir. Kendine özgü reseptöre bağlandığı zaman hücre içerisinde bir sinyale sebep olan cevap ortaya çıkar. Etki genellikle tirozin kinaz uyarılmasıyla ortaya çıkar. Büyüme faktöründe her hücrenin kendine özgü reseptörleri bulunur (59,35).

Büyüme faktörlerinin; büyümeyi arttırmanın dışında birçok etkileri vardır. Büyüme faktörleri yangı, anjiyogenezis oluşumu, bağışıklık tepkileri, doku onarımı ve yara iyileşmesi gibi birçok fizyolojik işlemlerde önemli rolleri bulunmaktadır. Vasküler endotel büyüme faktörünün doku onarımı, uterus ve plasenta üzerine birçok etkileri vardır (26).

1.3.1. Vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF)

1.3.1.1. Giriş

Vasküler endotel büyüme faktörü değişik türdeki uyarılara yanıt oluşturup, 34-46 kDa ağırlığında değişik hücre tiplerinden üretilen, dimerik yapılı bir glikoproteindir. Bu yapının vasküler endotel hücre tipleri üzerinde etkili olabilmesi için spesifik transmembran reseptörlere bağlanması gerekir. Bu reseptörlere bağlanarak sinyal yollarını aktive eder ve bir takım etkilerle sonuçlanır. Bu etkiler şunlardır:

- Vasküler endotel hücrelerin artması
- Vasküler endotel hücrelerde göçün başlaması
- Apoptozdan engellemek için olgunlaşmamış endotel hücrelerin oluşması
- Kapillerde vasküler geçirgenliğin artması (54).

1.3.1.2. Tarihçesi

Vasküler endotel büyüme faktörü ilk olarak 1983 yılında Senger ve arkadaşları kobay tümörlerinde büyüme faktörünü elde etmiştir. Daha sonra kobay derisinde vasküler sızıntı meydana geldiğinden dolayı vasküler permeabilite faktörü diye adlandırıldı (75,56). 1989' da ise siğir hipofizinden elde edilen bu maddenin kuvvetli bir endotel mitojen olduğu görülmüş ve vaskülotropin ya da VEGF diye adlandırılmıştır (20,66,75). Daha sonra ise vasküler endotel büyüme faktörünün diğer üyeleri tanımlanmıştır (75).

1.3.1.3. VEGF Ailesi

Son zamanlarda VEGF ile ilgili yapılmış olan çalışmalarda, VEGF ailesinin Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörlerinin süper ailesinin son derece önemli bir üyesi olduğunu ortaya koymaktadır. VEGF ailesi tam olarak bilinen 6 üyeden oluşmaktadır. Bunlar VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, Plasenta Büyüme Faktörü (PlGF)' dir (33,44). Fakat son olarak 2004 yılında Takahashi ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada yılan zehrinde VEGF' nin yapısına benzeyen bir madde bulunmuş ve bu yapı da sv-VEGF(VEGF-F) olarak adlandırıldı (63).

VEGF' nin cDNA serisindeki salgı aktivitesini yapan hidrofobik ve sekretuar başındaki N- terminal serisinde şifrelenmiştir (66).

VEGF-A

Genel olarak literatürlerde human VEGF ya da vasküler permeabilite faktörü olarak adlandırılır. VEGF-A geni 6p21.3 nolu kromozom kolunda kodlanmıştır (33). VEGF-A' nın aminoasit dizilerine göre adlandırılan 6 adet izoformu bulunmaktadır. Bunlar VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₃, VEGF₁₈₉, ve VEGF₂₀₆' dir. Bu izoformların en önemlileri 121, 165, 189 ve 206' dir (19). İzoformlar arasındaki en büyük fark heparine olan afiniteleridir. Bu afiniteden dolayı hücre yüzeyine ve ekstrasellüler matrikse bağlanabilirler İzoformların arasında sadece VEGF₁₂₁ dışındakilerin hepsi heparine bağlanmaktadır. Bu yüzden VEGF₁₂₁ serbest çözünebilir özelliğine sahip bir proteindir (18). VEGF₁₈₉ ve VEGF₂₀₆ ekstrasellüler matrikse bağlanarak heparin afiniteleri oldukça yüksektir. VEGF₁₆₅ ise heparin afinitesi biraz daha düşüktür, düşük olduğu için bir kısmı proteince bağlanır diğer kısmı da çözünür (2,19). VEGF₂₀₆, VEGF' nin orijinal formudur ve yaklaşık olarak 34-46 kDa ağırlığında homodimerik bir glikoproteindir (66).

Tablo 1: VEGF izoformlarının özellikleri (19).

	VEGF₁₂₁	VEGF₁₆₅	VEGF₁₈₉	VEGF₂₀₆
Heparin afinitesi	+	++	+++	+++
Difüzibilite	++++	+++	+	+
Biyolojik potans	++	++++	?	?

VEGF- B

İlk olarak VEGF-A ile % 23' ü homolog olan sinyal peptit bölündükten sonra, 186 aminoasitli bir protein meydana gelir. Daha sonra ise ekson 6' da meydana gelen alternatif bir ek ile birbirinden farklı COOH⁻ grupları içeren 167 aminoasitli proteine dönüşür (44). VEGF-B, vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü- 1 (VEGFR-1)' e bağlanıp monositlerin diferensiyasyonu ve aktivasyonunda rol oynar (11).

VEGF-C

Lenfatik damarların oluşumunda (lenfanjiogenez) rol almaktadır. VEGFR- 2 ve VEGFR-3' e bağlanıp vasküler ve lenfatik endotel hücrelerde mitojenik etkilidir (11, 17). VEGF- benzeri protein de denir. % 16' sı VEGF- A' ya benzeyen 388 aminoasitli bir yapıdır (44). 2003' te Qingchang ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada küçük hücreli dışı akciğer kanserinde VEGF- C' nin lenfanjiogenez, anjiogenez ve akciğer kanserinde etkili olduğu görülmüştür (37).

VEGF-D

VEGF- A ile % 31 oranında aynı aminoasitler içeren ve 334 aminoasitten meydana gelen bir proteindir (1). C – terminal uçlarında sistein domainleri bakımından zengindir. Bu yüzden VEGFR-2 ve VGFR- 3' e bağlanarak VEGF- C' ye benzer işlevleri bulunur (44,11).

VEGF-E

Aminoasit dizilimi % 25 oranında VEGF- A ile aynı olan bir proteindir. En önemli özelliği VEGF-2' ye bağlanıp güçlü mitojenik ve permeabilite artırıcı faktördür (11).

PIGF

VEGF ailesinde tanımlanmış ilk üyedir. İlk önce sinyal peptitler bölünürken 131 aminoasiti vardı. Sonra ise yeni aminoasitler eklenip % 37 oranında VEGF-A ile benzeyen 152 aminoasitli bir yapı oluşmuştur (44). Özelliği VEGF-B' de olduğu gibi VEGFR-1' e bağlanarak anjiogenezde etkilidir (11).

Tablo 2: VEGF ailesi ve fonksiyonları (25).

Ligand	Reseptör	Fonksiyon
VEGF- A	VEGFR- 1 ve 2 Nöropolin- 1	Vasküler devamlılık, anjiogenez
VEGF- B	VEFR- 1	Bilinmiyor
VEGF- C	VEGFR- 2 ve 3	Lenfanjiogenez
VEGF- D	VEGFR- 2 ve 3	Lenfanjiogenez
VEGF- E	VEGFR- 2	Anjiogenez
PIGF	VEGFR-1, Nöropolin-1	Anjiogenez, İnflamasyon

1.3.1.4. VEGF' nin Reseptörleri

Bu büyüme faktörünün endotel hücrelerinde etkili olabilmesi kendine özgü reseptöre bağlanabilmesine bağlıdır. VEGF' nin tam olarak 3 adet reseptörü bulunmaktadır. Bunlar: VEGFR -1, VEGFR-2 ve VEGFR- 3' tür. İlk olarak embriyogenez sırasında sentezlenen VEGF reseptör-1 (VEGFR-1, flt-1) ve VEGF reseptör-2 (VEGFR-2, flk-1,KDR) bulunmuştur (8). Bu reseptörler yaklaşık 1300 aminoasitten oluşmuş olup, % 44 aminoasiti ortak olan iki bölümden oluşmaktadır. İlk bölüm hücre içerisinde tirozin kinaz etki alanına sahip olan hücre içi bölümdür. Diğer bölümü ise hücre dışarısında bulunan ligand bağlama bölgesi olan 7 adet immünooglobulin yapısına benzeyen tek kısa membran köprü dizilerinden oluşmaktadır (17).

VEGFR-1 ve VEGFR-2 endotel hücreleri üzerinde yer almaktadır, VEGFR-3 ise lenf damarları üzerinde yer alır. Bu reseptörler aktivasyonu esnasında çoğu hücre içerisinde bulunan sinyal iletim proteinlerini fosforile edip endotel hücrelerinde proliferasyon, migrasyon ve diferansiyonu sağlamaktadır. Embriyogenez sırasında VEGF reseptörleri endotel hücrelerin üzerinde bulunmaktadır (16).

Tirozin kinaz etki mekanizmasına sahip olan VEGF reseptörleri kendine özgü ligandlara bağlandığında dimerizasyon meydana gelmekte ve bu şekilde hücre içerisinde mekanizmalara yanıt oluşmaktadır. VEGF' nin uyarılmış olduğu endotel hücre reseptörlerinde proteinlerin bir kısmında fosforilasyon oluşur ve bunun sayesinde ikincil haberciler uyarılır ve mesaj hücre içerisine iletilir (41). Ayrıca heparin sülfat da VEGF' nin reseptörlerine bağlanmasını sağlar ve bu mesajın hücre içine iletilmesine yardımcı olur (8).

VEGF, VEGFR-1' e genel olarak VEGFR-2' den daha yüksek bir bağlanma kapasitesine sahiptir, VEGFR-1' in yapısı VEGFR-2' nin yapısıyla benzerdir (68). Fakat VEGFR-1' in tirozin kinaz etki mekanizması VEGFR-2' ye göre daha zayıftır (69). Yapılan bazı çalışmalarda VEGFR-1' in doku yapımının belirlenmesinde ve vaskülogenezde önemli rolünün olduğu

gösterilmiştir; ancak VEGF' nin etki mekanizmasında önemli olmadığı, tam tersine yanıtıcı ve tuzak bir reseptör olduğu anlaşılmıştır (50). VEGFR-1' in 7 tane ligand benzeri bölümün altısını içeren ve plazmada serbest olarak dolaşan çözünebilir özellikli olduğu düşünülen bir başka reseptöre rastlanmıştır ve bu yapı da sVEGFR-1 olarak isimlendirilmiştir. Meme kanseri, preeklamsi ve beyin iskemisinde olan patolojik çalışmalarda sVEGFR-1'e rastlanmıştır. VEGFR-1'in bu formu kompetitif inhibitör görevi görmektedir. Yani negatif etkili olmakta ve fonksiyonunu yerine getirememektedir. Yine aynı şekilde plazmada VEGFR-2' nin serbest dolaşan yapısı bulunmuş ve bu da sVEGFR-2 diye adlandırılmıştır. Bu reseptörde sVEGFR-1' de olduğu gibi negatif etkili olup anjiyogenezisi engellediği düşünülmektedir ve çalışmalar halen bu yönde devam etmektedir (75).

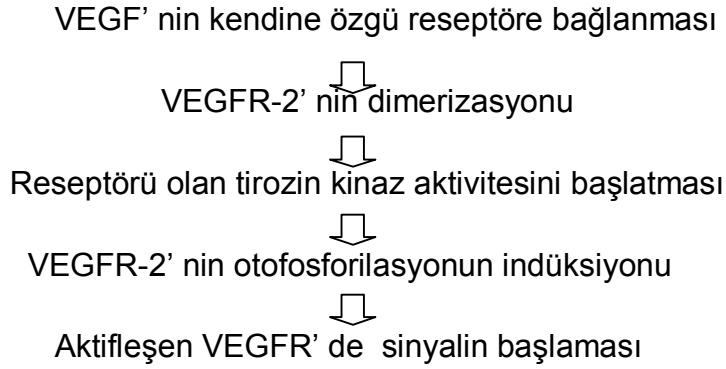
VEGFR-2' nin fareler üzerinde yapılmış olan çalışmalarında VEGFR-2' nin yokluğunda farelerin hematopoietik prekürsörlere, farklılaşmış endotel hücrelere ve kan damarlarının olmadığı görülmüştür. Bu durum VEGFR-2' nin hem endotel, hem de hematopoietik öncül hücrelerin gelişmesinde zorunlu olduğunu göstermektedir. Tam tersine VEGFR-1' in yapımında oluşan aksaklıklarda olgun endotel hücreleri oluşurken, bu damarlarda aşırı genişleme ve yapısal bozuklukların olduğu görülmüştür. Bu durum VEGFR-1' in hücre-hücre ya da hücre-matriks etkileşiminin kontrolü ile doku mimarisinin belirlenmesinde rol aldığı görülmüştür (50).

Reseptör ailesinin bir diğer üyesi olan VEGFR-3 ise lenfatik damar gelişiminde etkili olan VEGF-C ve VEGF-D' nin bağlandığı reseptör olup, lenfanjiogenezde rol almaktadır (50).

VEGFR-1, VEGF-A ve PIGF' ye yüksek bir affinite ile bağlanır fakat kemotaktik cevap ve iyi derecede bir proliferasyon elde edilemez. Ancak PIGF' ye bağlanamayıp VEGF' ye sıkıca bir şekilde bağlanan VEGFR-2 ile iyi bir cevap elde edilir (66).

1.3.1.5. VEGFR' nin Sinyal İletisi

VEGF-2' ye bağlandıktan sonra farklı intrasellüler sinyal ileti yolları, VEGF' nin etkilerine aracılık eder. VEGFR-2' nin aktivasyonu diğer tirozin kinaz reseptörlerinde olduğu gibi aynı yolu izlemektedir. Bu yol aşağıda gösterildiği gibidir (15).



1.3.1.6. VEGF' nin Fonksiyonları

VEGF primer vasküler endotel hücreler üzerinde etkili olan bir büyüme faktörüdür. Vaskülogenez ve anjiogenezde önemli rol oynamaktadır (36). Anjiogenik etkilerinin yanı sıra, endotel hücrelerin migrasyonunu aktive etmiş ve bu faktör geri çekildiği zaman vaskülarizasyonda gerileme olduğu görülmüştür (19).

VEGF endotel hücrelerinin proliferasyonu ile, büyüme faktörüne doğru göç edip yeni damarların oluşmasını sağlamaktadır. Anjiogenezde etkili olan VEGF, yaralanmalardan sonra yüzeysel olan epidermal keratonositler salgılanmakta ve VEGF indüklenir. Bununla birlikte kan akımı artar ve yeni kan damarları şekillenir, bu sayede yara iyileşmesi gerçekleşmiş olur. İskemik tavşan ekstremitelerinde ve domuz koroner arterlerinde azalmış kan akımına karşı, eksojen verilen VEGF yanıt olarak bu hayvanlarda yeni damar oluşumu ve perfüzyonunu artırır (57). VEGF anjiogenik bazı hastalıklarda da etkilidir. Hastalıklara örnek olarak balon anjioplastinin ardından arterlerde yeni intima tabakasının oluşumunu engellemesine ve endotel hücre

oluşmasına yardımcı olur. Ek olarak, miyokardial iskemilerde ve periferik uzuv iskemilerinin kolleteral damarların oluşumunu sağlar (3).

Endokondral kemik oluşumunda anjiogenezis ve VEGF önemli rol almaktadır. Kemik gelişimi için epifizyal büyüme plaklarında hipertrofik kondrositlerde gereken yanıt yeni kan damarlarının meydana gelmesiyle oluşur. Bu sebeple, bölgede hipertrofik kondrositlerle birlikte VEGF salgılanır ve yeni kan damarları oluşur (19). VEGFR-1' de osteoblastlar üzerinde kemotaktik etkilidir (17). VEGF aynı zamanda kemik iliğinden endotel öncü hücrelerin periferik dolaşıma geçmesine yardımcı olmaktadır (73).

VEGF' nin etkilerinden biri de NO salınımı ve NO tarafından vazodilatasyon uyarılıp hipotansif bir etki yaratmaktadır. Aynı zamanda von-Willebrand faktörünün salgılanmasını artırarak, PGI₂ üretiminin uyarılmasına yardımcı olmaktadır (77,71).

Watanabe ve arkadaşlarının insan deri epitelinde yapmış oldukları çalışmada VEGF' nin yaşlanmayı geciktirici etkisinin olduğu görülmektedir (70).

Kleespies ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada tümöre yakın olan endotel hücrelerdeki VEGF reseptörlerindeki mRNA' ların arttığı görülmüştür. Yapılan bu çalışma VEGF' nin tümör anjiogenezisi, tümör büyümesi ve kan yoluyla yayılmasında önemli etkisinin olduğu görülmektedir. Bu da VEGF' nin hastalıkların ilerlemesine yardımcı olduğunu gösterir (33).

Rosenstein ve arkadaşlarının iskemi ve spinal kord yaralanmalarıyla ilgili yapmış oldukları çalışmada sinir sistemini koruduğu, sinir sisteminin büyümesine yardımcı olduğu görülmüştür. Bu çalışmada GFAP (+) astrositlerde ciddi derecede mitozisi uyardığı görüldü (52).

VEGF, inflamasyonun geç dönemlerindeki monositlerde kuvvetli kemotaksin özelliğe sahiptir. Monosit ve makrofaj kökenli sitokinlerle endotel doku faktörünün artışı sağlayıp, koagülasyon major bileşiklerinin içinde yer

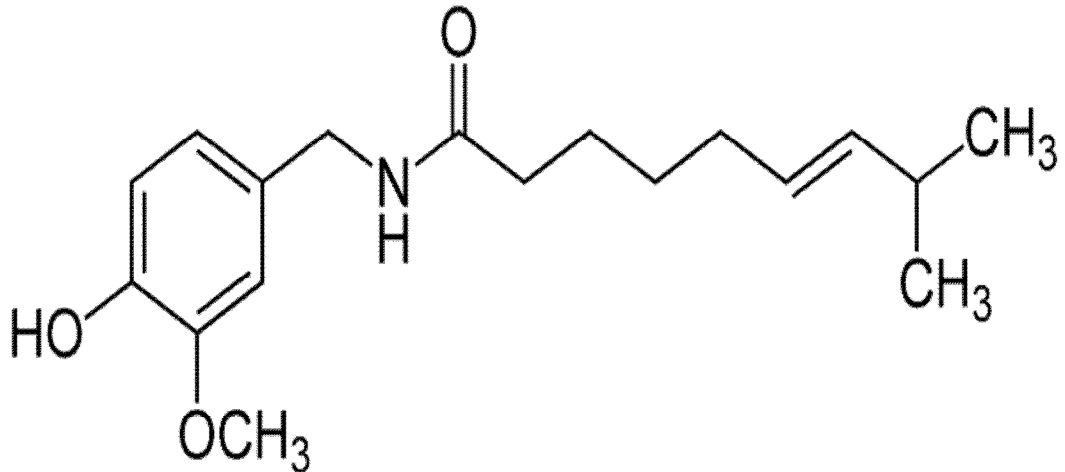
alır. Aynı zamanda da granülosit-makrofaj öncül hücrelerin koloni oluşmasında etkilidir (21).

Aynı zamanda VEGF' nin endotel hücrelerini apoptozise karşı koruduğu bilinir (33).

1.4. Capsaicin

Capsicum annum olarak adlandırılan, Solanaceae familyasının Capsium cinsinden olup acı kırmızı biber olarak bilinir. İlk olarak Güney Amerika' da keşfedilmiştir anavatanı Meksika olarak bilinir, aynı zamanda Güney Asya ülkeleri ve ülkemizin Güney Doğu Anadolu Bölgesinde 7000 yıldır yetiştirilmektedir. Acı ve keskin tadı olduğu için yemeklerde baharat olarak kullanılmakta, ayrıca bu maddeden sos da yapılmaktadır (31,34,48).

Bu bitki ilk olarak 1846 yılında Turneyfort isimli Fransız botanikçi tarafından acı bibere acılığını veren alkaloid yapıdan izole edilmiştir. İzole edilen bu bileşenin vaniloidler ile yakından ilişkili olduğu düşünülmüş ve bu maddeye capsaicin adı verilmiştir (61).



Şekil 3: Capsaicinin kimyasal yapısı (61).

Vaniloidler endojen ve ekzojen olmak üzere iki gruba ayrılır. Bu vanilloid etkenler, genel olarak bazı reseptörler ve periferel sinir sonları ile etkileşime girerler (61, 28).

Acı kırmızı biberin dünyada en çok kullanıldığı yer Hint ve Meksika mutfağıdır (61,76). Acı kırmızı biber çok önceden ağrı kesici ve gıda katkı maddesi olarak kullanılırdı. Yapılan birçok çalışmada acı kırmızı biber yerine etken madde olarak capsaicin kullanılmıştır. Capsaicin ilk olarak gastrointestinal daha sonra ise solunum ve kardiyovasküler sistemle birlikte birçok sistem üzerinde etkili olduğu saptanmıştır. Capsaicin bulunduğu organa göre, etkisi, uygulama yerine ve dozuna göre farklılık gösterir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ise farmakolojik ve fizyolojik etkilerinden dolayı tıpta ve ilaç sanayisinde çok sık kullanılmaktadır (34).

Capsaicin uygulamalarında kullanıldığı doz oldukça önemlidir. Az uygulanan capsaisin immun sistemi uyarırken, çok uygulandığında immun yanıt baskılanır. Bu tamamen SP salınımı ve somatostatin ile alakalıdır. Düşük dozlu uygulanan capsaicinler SP salınımı uyarılarak, damarlarda geçirgenlik artmış olur, böylece reaksiyon olan bölgeye T lenfosit göçü başlar. Bu sayede T lenfositlerin sentezi artmış olur. Fazla miktarda uygulanan capsaicinde ise nöronlarda aşırı eksitasyon gerçekleşir daha sonra ise yoğun oluşan eksitasyona bağlı olarak da sinirlerde desensitasyon başlar ve nöronların SP salınımı durdurulur. Yani immun sistem baskılanmış olur (7).

Capsaicinin metabolizma üzerine önemli etkileri vardır. Örneğin karbonhidrat metabolizmasında karaciğer enzimlerinin çalışmasına, ayrıca lipidlerin de yıkılmasına yardımcı olur ve bu yıkımlarla birlikte oksijen tüketiminde artışa sebep olur. Vücutta solunumu arttırıp azalttıktan sonra, serum glikoz-insülin değerlerinde artışa neden olur. Capsaicin karaciğer glikojen seviyelerinin çabuk azalmasıyla serum trigliserid seviyelerinde kademeli olarak artış sağlanır, dolaşım sisteminin çalışmasına yardımcı olur ve bu şekilde metabolizmada etkili olur (39, 43).

Capsaicin sindirim sistemi üzerinde anti-kanserojenik ve anti-mikrobiyal etkiye sahiptir. Salmonella enteris ile enfekte olan kanatlılara diyetle capsaicin verilmiş ve capsaicin buradaki iyileştirici etkisinin olduğu görülmüştür (72).

Yanıklar üzerinde ağrıyı gidermek için tedavi edebilmek amacıyla periferel sinirlere capsaicin uygulanmış ve capsaicin periferel sinirlerde analjezik etkisinin olduğu görülmüştür (31,10).

Ratlarda yapılan başka bir çalışmada küçük kesiler oluşturularak capsaicin uygulaması yapılmış ve burada da aynı şekilde analjezik etkili olduğu görülmüştür (46).

Uzun süreli capsaicin uygulamalarında midedeki aspirin, alkol ve stres durumlarında oluşan hasarlarda kapsaisin afferent nöronlarda etkili olarak iyileşmeye yardımcı olduğu ve midede koruyucu olarak görev yaptığı görülmektedir (65).

Capsaicinin lokal uygulamaları capsaicinde etkili nörojenik fibriller yenilenir ve nörojenik vasküler reaksiyon azalır bunlara bağlı olarak da ağrı eşiği artmış olur. Lokal uygulanan capsaicin deride lezyonlara neden olmazken, neonatal uygulanan deride lezyonlara sebep olur (10,40).

Capsaicin, farmakolojik ve toksikolojik etkilerinden dolayı, değişik tipte insan tümör hücrelerinin büyümesine engel olmakta ve tümörlerin öldürülmesini sağlayarak kanser tedavilerinde iyileşmeye yardımcı olmaktadır (60). Epidemiyolojik çalışmalar capsaicin tüketiminin kolon kanseri riskinde azalma olduğunu gösterir (24).

Son zamanlarda yapılmış olan çalışmalarda capsaicin tümör başlangıcını ya da VEGF' nin yeni hücre oluşturmasını sağlamaktadır (42). Bununla beraber, capsaicin doğada çok acı olarak bulunduğu için, nadiren anjiogenezis ile ilgili hastalıkları tedavi ettiği düşünülmektedir. Spesifik capsaicin moleküler ve karakteristik yapısı itibarıyla direkt olarak damar fonksiyonlarıyla ilgili olduğu anlaşılmıştır (48).

2. MATERYAL ve METOD

Kafkas Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanan bu çalışmada daha önce çiftleşmemiş ve herhangi bir çalışmada kullanılmamış 20 adet sıçan kullanıldı.

2. 1. Materyal

2. 1. 1. Deneş Hayvanları ve Bakım Koşulları

Çalışmada kullanılan sıçanlar $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ortam sıcaklığında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortamda standart kafeslerde barındırıldı. Ratlar, adlibitum, standart rodent yemi ile beslendi. İçme suyunu serbest olarak tüketmeleri sağlandı.

2. 2. Metot

2. 2. 1. Deneş Grupları ve Capsaicin Uygulanması

Çalışmada kullanılan deneş hayvanları Erzurum Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Deneş Hayvanları Merkezi'nden temin edildi. Araştırmaya puberte (50. gün) dönemdeki sıçanlar alındı. Sıçanlar deneme ve kontrol olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Deneme grubundaki (n=10) deneş hayvanlarına 1 hafta boyunca hergün 1 mg/kg capsaicin %10 ethanol, %1 Tween 20 ve %80 distile su ile çözdürüldükten sonra subkutan olarak uygulaması yapıldı. Kontrol grubunda ise subkutan yolla capsaicin yerine 1 mg/kg dozdaki %10 ethanol, %1 Tween 20 ve %80 distile su içeren karışım subkutan olarak hayvanlara uygulandı. Daha sonra bir hafta ara verilip bu sürenin sonunda her iki gruptaki hayvanlar eter anestezi altında öldürölüp böbrekleri alındı. Alınan böbrekler rutin doku takibine alındı.

2. 2. 2. Capsaicinin Uygulanması

Capsaicin oranının belirlenmesinde Tütüncü ve arkadaşları (2009) ile Moran ve ark. (2003) yaptığı çalışma dikkate alındı. Deneme grubundaki sıçanlara 1 mg/kg dozdaki capsaicin (Sigma M 2028) %10 ethanol içinde çözdürüldükten sonra % 1 Tween 20 (Merck M8170772100) ve %80 distile su ilave edildi. Günlük olarak hazırlanan capsaicin daha sonra subkutan

olarak karın bölgesine insülin enjektörü ile 1 hafta süre ile her gün aynı saatte enjekte edildi. Kontrol grubu için ise capsaicin ilave edilmeden hazırlanan çözelti aynı dozda 1 hafta süreyle her gün subkutan yolla uygulandı. Bir hafta sonra her iki gruptaki sıçanlar eter anestezi altında öldürülüp böbrekleri alındı.

2. 3. Histolojik İncelemeler

Eter anestezi ile öldürüldükten sonra alınan böbrekler histolojik ve immunohistokimyasal analizlerde kullanılmak üzere Formaldehit ve Bouin solüsyonunda tespit edildi. Daha sonra yıkama, şeffaflandırma, infiltrasyon, bloklama ve kesim işlemleri sırasıyla yapıldı. Kesim hazırlanmış olan parafin bloklardan, mikrotom cihazında 4 µm. kalınlığında seri kesitler alınarak yapıldı. Alınan kesitler su banyosu (40-42 °C) içinde açılarak, lamlara yerleştirildi. Lam üzerindeki doku kesitleri Crossman üçlü boyaması (Triple Boyama) ile boyandı (12).

2. 4. İmmunohistokimyasal İncelemeler

Parafin bloklardan alınan 4 µm'lik kesitlerde VEGF'nin varlığı immunohistokimyasal yöntemlerden indirekt streptavidin-biotin-peroksidaz yöntemi kullanılarak gösterildi. Doku örnekleri, %10 luk formol ve Bouin solüsyonuna alındı. Dokular en fazla 48 saat tespit solüsyonunda bekletildi. Daha sonra yukarıda sayılan rutin histolojik yöntemler kullanılarak dokular parafine gömüldü. Mikrotom ile alınan 4 µm kalınlığında seri kesitler, önceden krom alum jelatin (CAG) ile kaplanmış lamlara alındı. Yöntem basamakları;

1. Lamlar, CAG ile kaplanmadan önce temizlemek amacıyla absöü alkole, 2-3 damla asit damlatılmasıyla elde edilen asit-alkolde bir süre bekletildi ve daha sonra %50 lik alkolde bekletildi. Daha sonra lamlar distile su içine alınıp yıkandı. Yıkama sonrası lamlar CAG içine alındı ve kurutulduktan sonra doku kesitleri bu lamlar üzerine alındı.

2. Parafin kesitler, CAG"lı lamlarda 1 gece 46°C"de bekletildi.
3. Deparafinizasyon işlemi için, dokular sırasıyla Xylol I, II ve III"e alındı (3×10 dakika).
4. Kesitler sırasıyla absolüt alkol I ve II (2×2 dakika), %96, %80 ve %70"lik alkolde sırasıyla bekletildi (3×2 dakika).
5. Kesitler distile suda 1 defa çalkalandı, sonra distile suda bekletildi (2 dakika).
6. Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için, dokular absolüt metanolde hazırlanan %3 lük hidrojen peroksit (H₂O₂)"de inkube edildi (15 dakika).
7. PBS de 1 defa çalkalandı.
8. Kesitler, mikrodalga da sitrat tamponu içinde maksimum sıcaklıkta (800 watt) bekletilerek ısı uygulandı (10 dakika).
9. Kesitler, sitrat tamponundan çıkarılarak PBS içine alındı ve dokuya zarar vermeden kurulandı.
10. Kesitler, Primer antikor (1/100; Mouse anti-VEGF; C-1, sc,7269, Santa Cruz Biotechnology Inc, Santa Cruz, CA.,U.S.A.) ile oda ısısında 1 saat inkübe edildi.
11. Kesitler süre sonunda PBS ile yıkandı.
12. Kesitler, Biotinlenmiş Rabbit anti-Mouse antibody (1/300; E0354; Dako Glostrup, Denmark) solüsyonu ile muamele edildi (30 dakika), süre sonunda PBS"ye daldırılıp çıkarılarak kurulandı.
13. Kesitler, streptavidin HRP (1/300; P0397, Dako Corp.) solüsyonu ile muamele edildi (30 dakika) ve süre bitiminde PBS"ye daldırılıp çıkarılarak kurulandı.

14. Kesitler, AEC substrate (C01-12; Golden Bridge Int., Life Science Division, Mukilteo, WA, USA) solüsyonu ile muamele edildi. Solüsyon eklendikten sonra kontrollü olarak mikroskop altında incelenerek (2-20 dakika) reaksiyon gerçekleştiğinde lamalar Gill's hematoksilende 20 saniye boyandı ve çeşme suyunda 5 dakika yıkandı

15. Kesitler kurularak su bazlı yapıştırıcı damlatılıp lamelle kapatıldı. Işık mikroskopunda preparatlar incelendikten sonra fotoğrafları çekildi.

3. BULGULAR

Çalışma örneklerini Kafkas Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanan daha önce çiftleşmemiş ve herhangi bir çalışmada kullanılmamış 20 adet sıçan oluşturdu.

Bu çalışmada hazırlanan kesitler histolojik ve immunohistokimyasal teknikler kullanılarak incelendi. İmmunohistokimyasal değerlendirme için boyanma yaygınlığı ve şiddeti baz alındı. Boyanma yok ise (–), hafif boyanma (+), orta derecede boyanma (++) , kuvvetli boyanma varsa (+++) kabul edildi.

Puberte döneminde capsaicin uygulanan sıçanların böbrek dokusuna ait tripple boyamalarında deneme ve kontrol grubunda başta tubul epiteli, korpuskulum renis olmak üzere (şekil 2 ve 3) diğer yapıların genel görünümünde bir değişiklik gözlenmedi, normal histolojik bulgular tespit edildi.

3.1. Deneme ve kontrol grubuna ait VEGF immünoreaktivitesinin karşılaştırılması

Olgulara ait genel özellikler Tablo-3' de gösterilmiştir.

	Deneme	Kontrol
Korpuskulum Renis	-	-
Tubulus Proksimalis	+	++
Tubulus Distalis	++	+
Tubulus Konnektivus	++	+++
Çıkan Henle	++	+++
Tubulus Kollektivus	+++	++

Tablo 3: Puberte döneminde capsaicin uygulanan sıçanların deneme ve kontrol grubunda böbrek yapılarına ait VEGF düzeylerinin karşılaştırılması.

Korteks ve medullada bulunan genel görünümde yapılan mikroskopik incelemede VEGF immünoreaktivitesinde her iki bölgede de spesifik

boyanmanın olduğu (Şekil 4 ve 5) fakat kontrol grubunun medullasına ait immünoreaktivitenin deneme grubuna göre daha fazla spesifik boyanmanın olduğu tespit edildi (Şekil 5).

Deneme ve kontrol grubunda korpuskulum reniste herhangi bir immünoreaktivitenin olmadığı görüldü (Şekil 6 ve 7). Deneme grubunda yer alan tubulus proksimalislerde hafif boyanma, tubulus distalislerde ise VEGF immünoreaktivitesinin varlığının orta düzeyde olduğu tespit edildi (Şekil 6). Kontrol grubunda ise VEGF immünoreaktivitesinin varlığı tubulus proksimalislerde orta derecede iken, tubulus distalislerde hafif boyanmanın olduğu tespit edildi (Şekil 7).

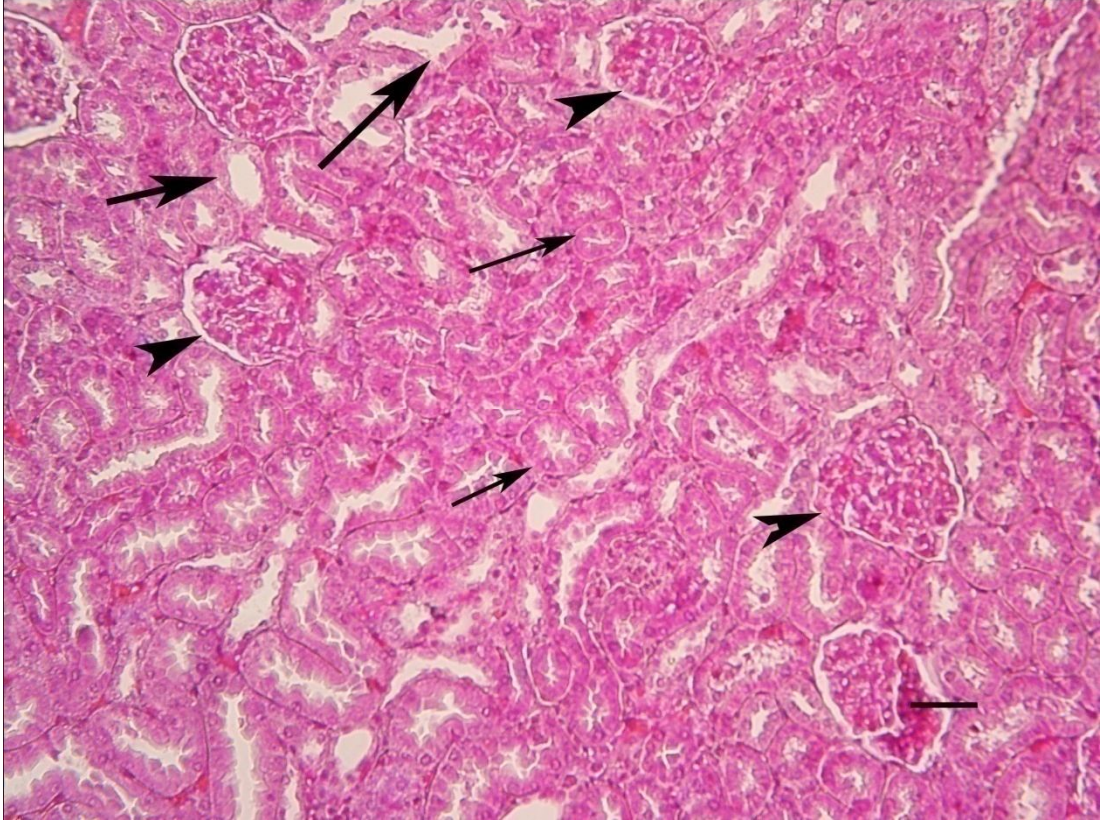
Deneme grubuna ait tubulus konnektivus ve çıkan henlede orta derecede (Şekil 8), kontrol grubunda ise daha yoğun VEGF immünoreaktivitesinin olduğu tespit edildi (Şekil 9).

Deneme ve kontrol grubuna ait damar endotelinde (Şekil 10 ve 11) VEGF immünoreaktivitesinin olmadığı tesbit edildi.

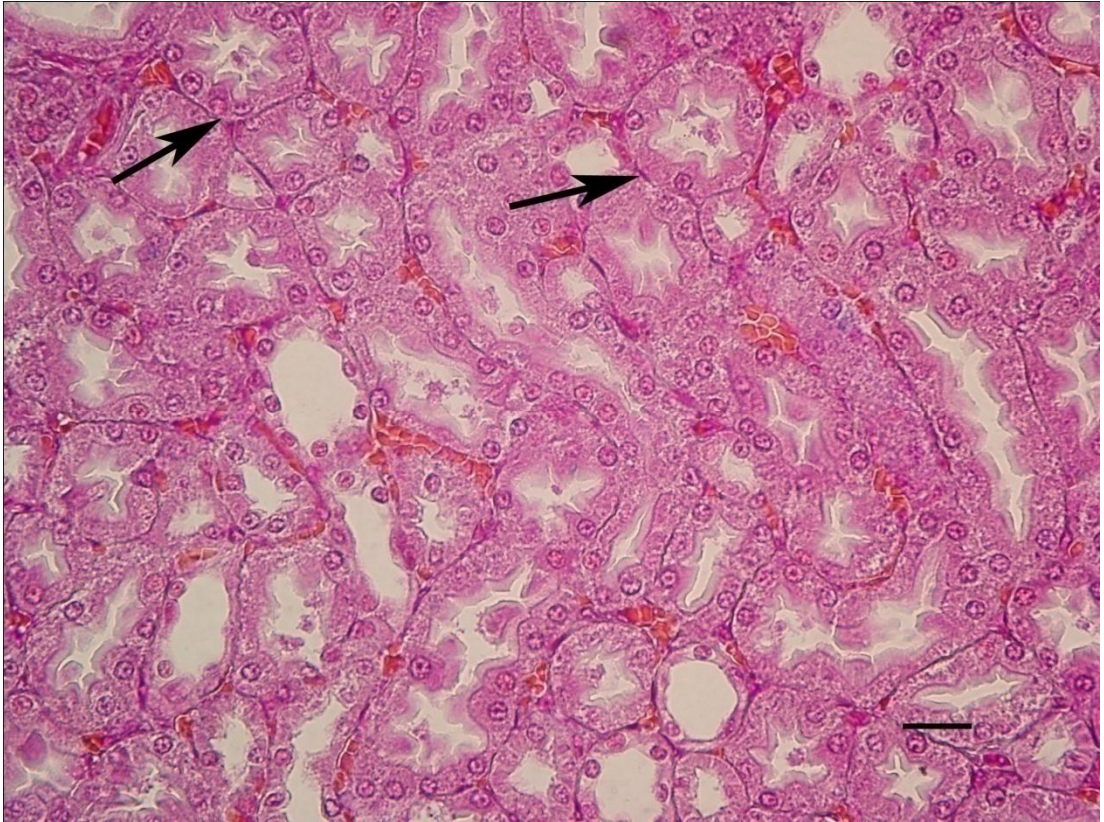
Deneme grubuna ait tubulus kollektivuslarda daha yoğun (Şekil 12), kontrol grubunda ise orta derecede VEGF immünoreaktivitesinin olduğu tespit edildi (Şekil 13).

Çalışmada genel olarak VEGF immünoreaktivitesinde çekirdek boyamasının olmadığı, sitoplazmik bir boyamanın olduğu tespit edildi.

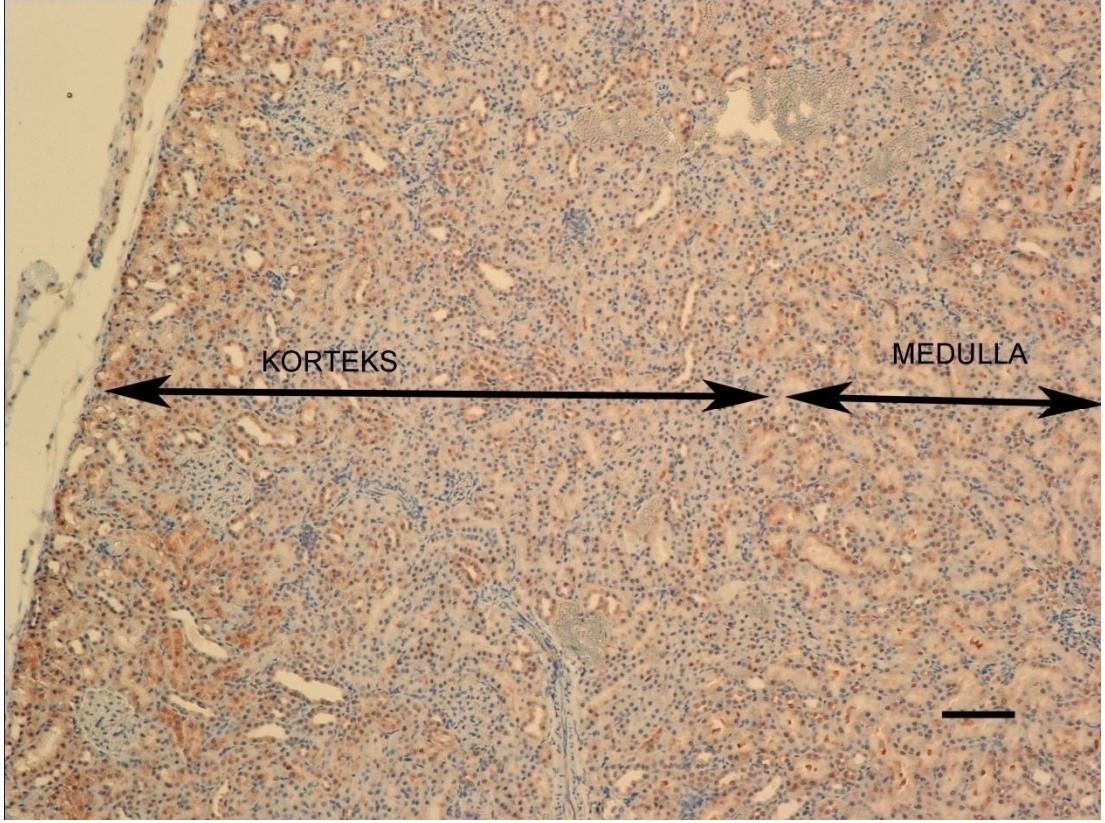
Çalışmada kullanılan örneklerin VEGF için spesifik immünoreaktivitenin olup olmadığını görmek için deneme ve kontrol grubundan birer kesit alarak primer antikor yerine PBS kullanıldı. Negatif kontroldeki kesitlerde immünoreaktivitenin olmadığı tespit edildi (Şekil 14).



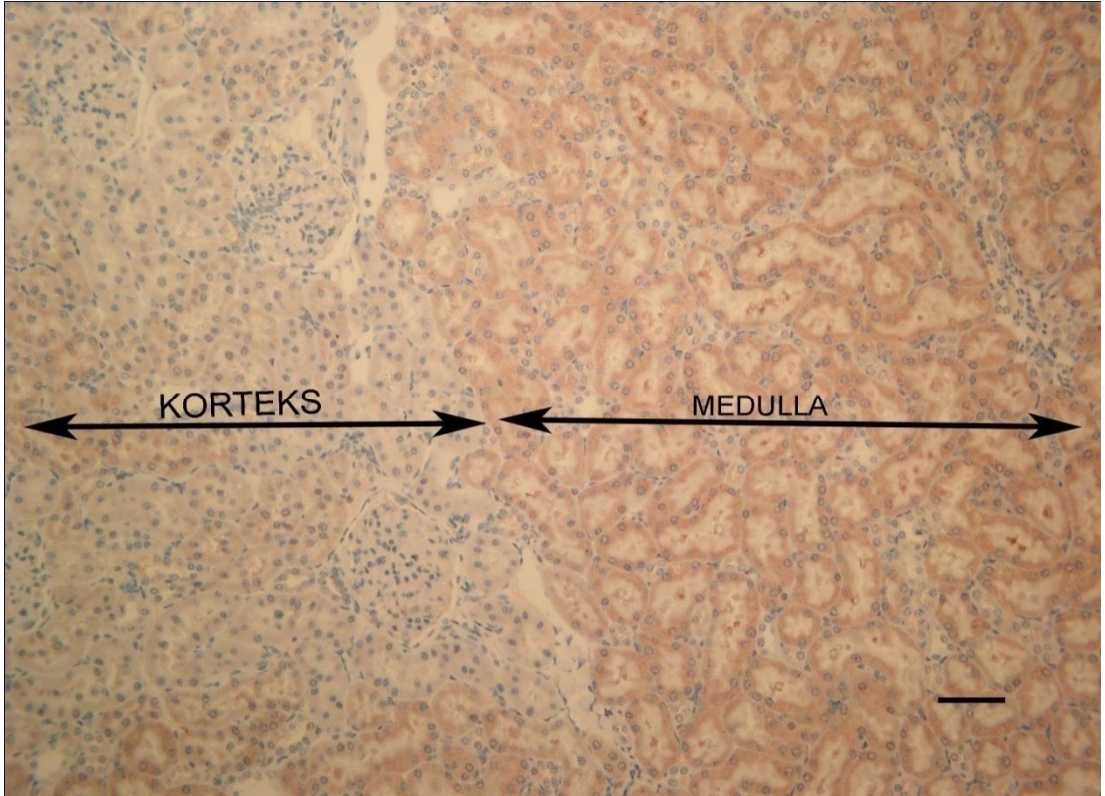
Şekil 2: Kontrol grubuna ait sıçan böbreği. Normal yapıdaki tubulus distalis (kalın ok), tubulus proksimalis (ince ok) ile korpuskulum renis (ok başı) (triple boyama) (Bar:100µm).



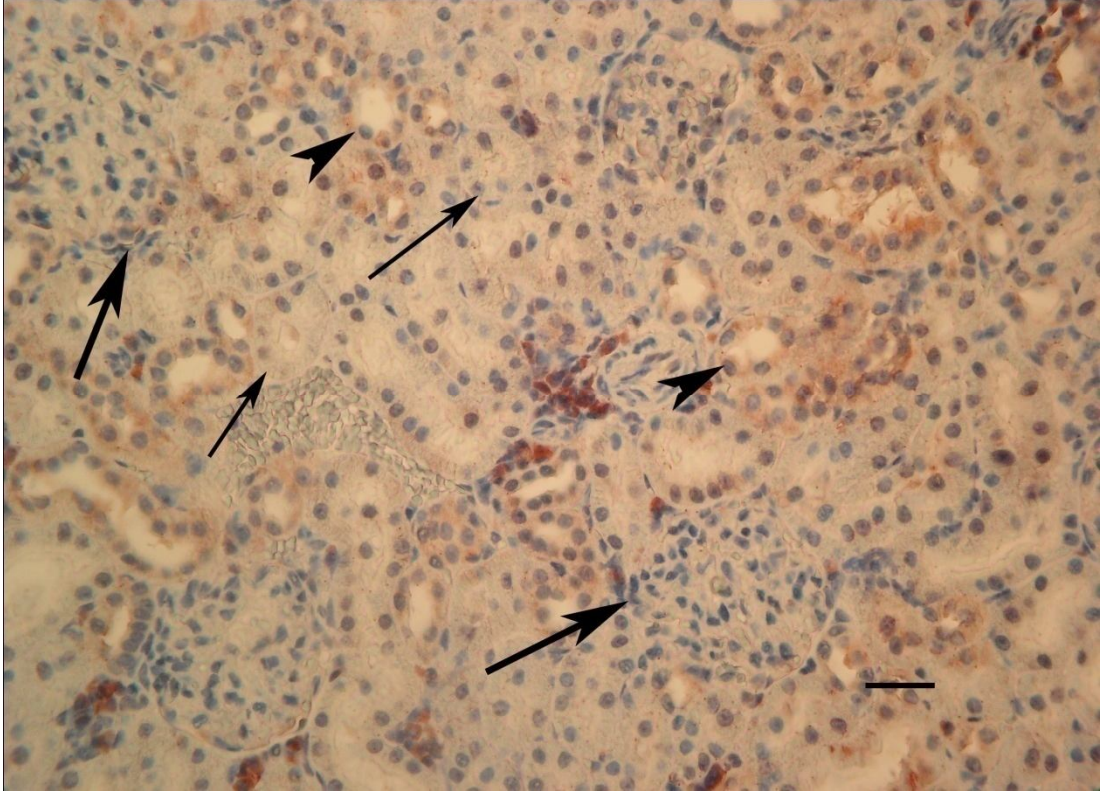
Şekil 3: Deneme grubuna ait sıçan böbreği. Normal yapıdaki çıkan henle (ok) (triple boyama) (Bar 50: µm).



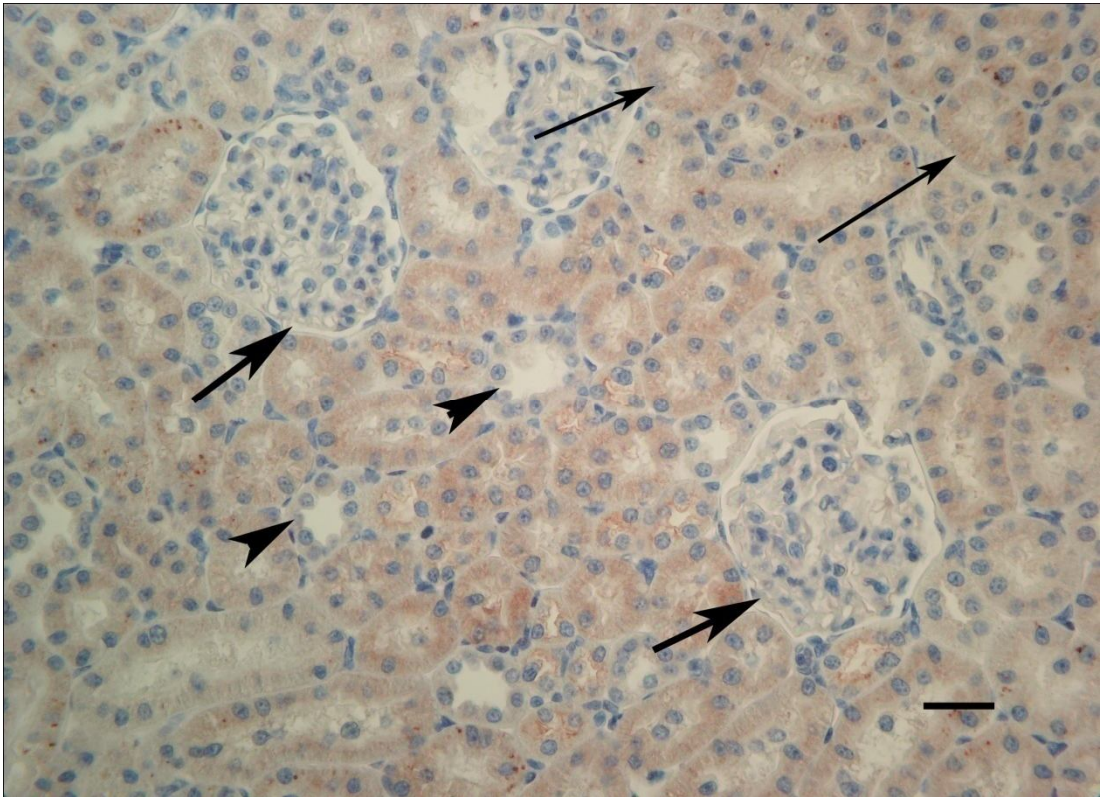
Şekil 4: Deneme grubuna ait sıçanların böbrek dokusunda VEGF immünoreaktivitesi. Korteks ve medulla (Bar: 200µm).



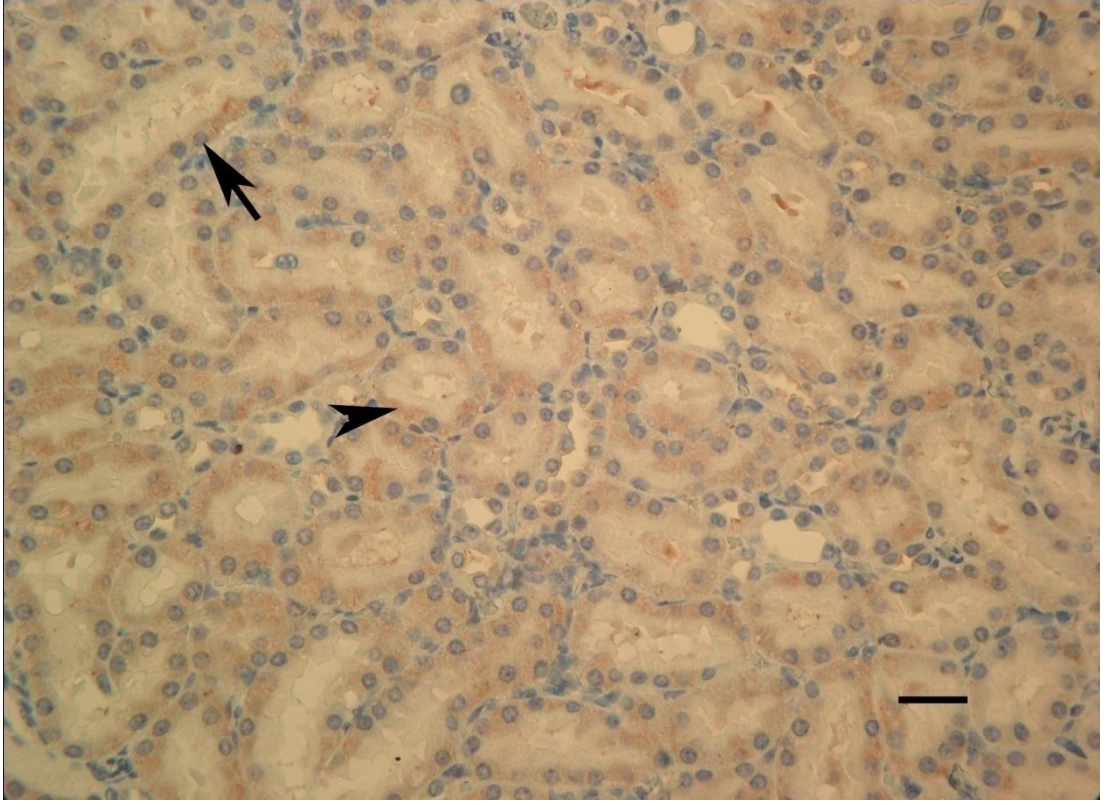
Şekil 5: Kontrol grubuna ait sıçanların böbrek dokusunda VEGF immünoreaktivitesi. Korteks ve medulla (Bar: 100 µm).



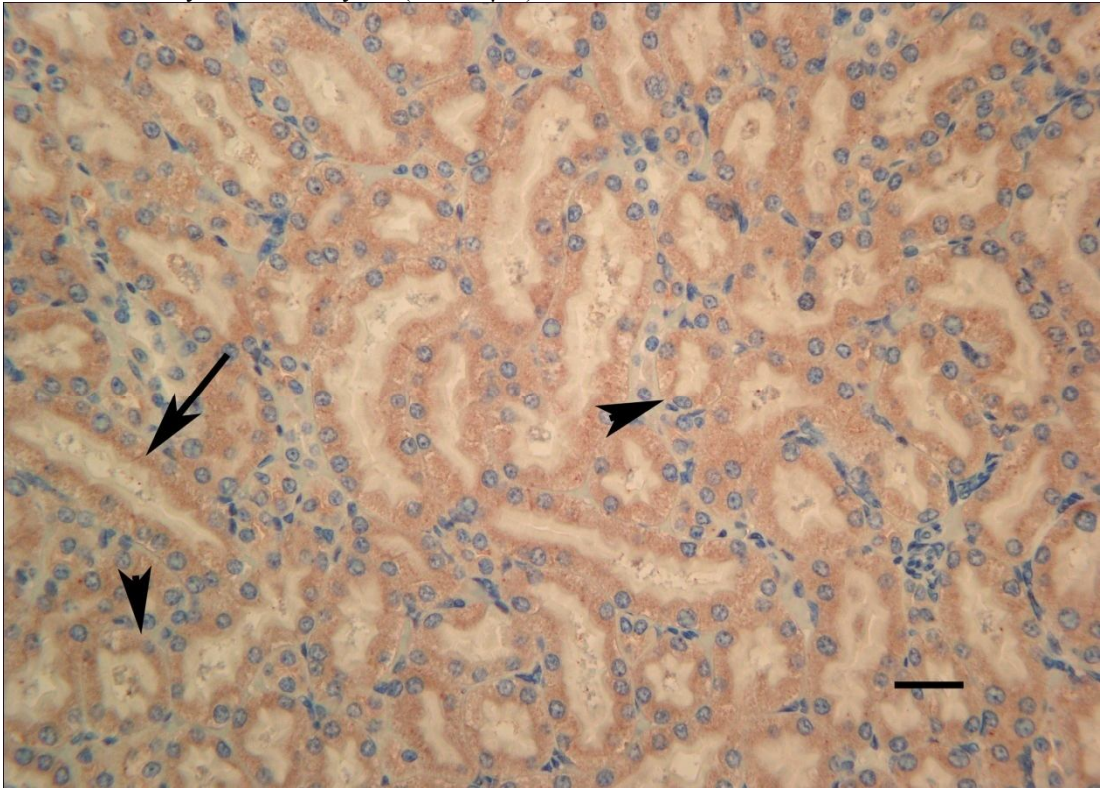
Şekil 6: Deneme grubuna ait sıçanların böbrek korteksinde VEGF immünoreaktivitesi. Tubulus distalis (ok başı), tubulus proksimalis (ince ok), korpuskulum renis (kalın ok) (Bar: 50 μ m).



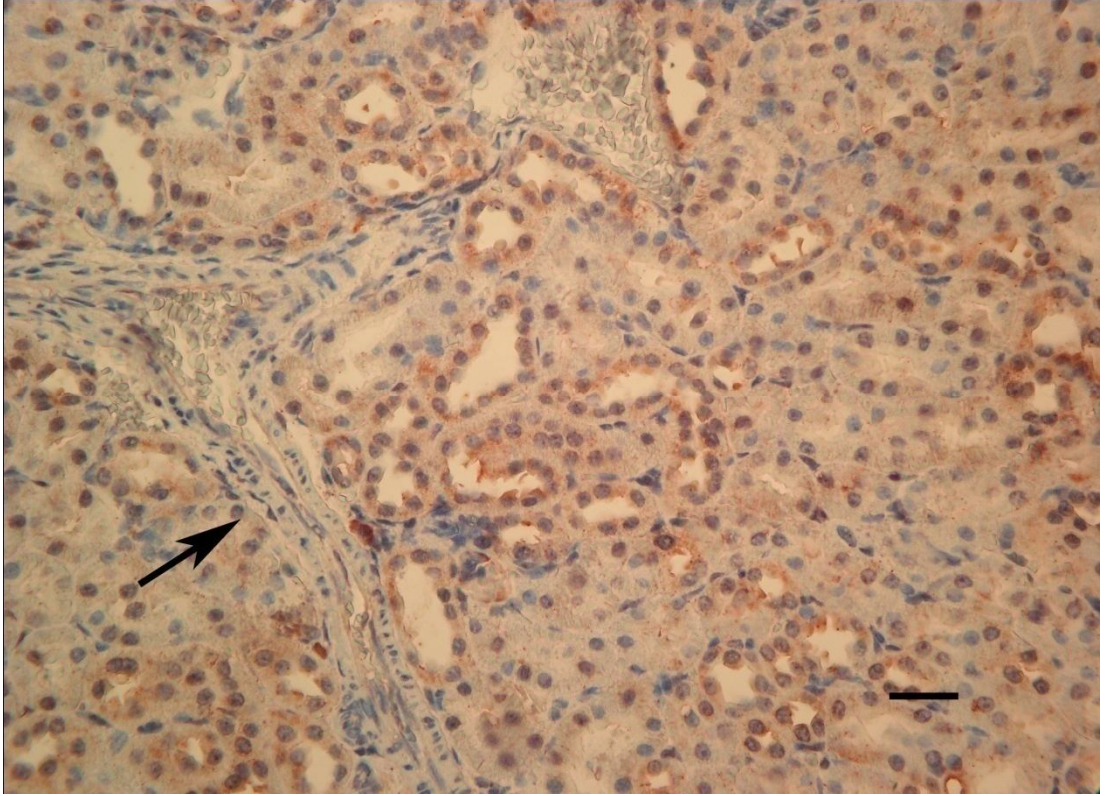
Şekil 7: Kontrol grubuna ait sıçanların böbrek korteksinde VEGF immünoreaktivitesi. Tubulus distalis (ok başı), tubulus proksimalis (ince ok), korpuskulum renis (kalın ok) (Bar: 50 μ m).



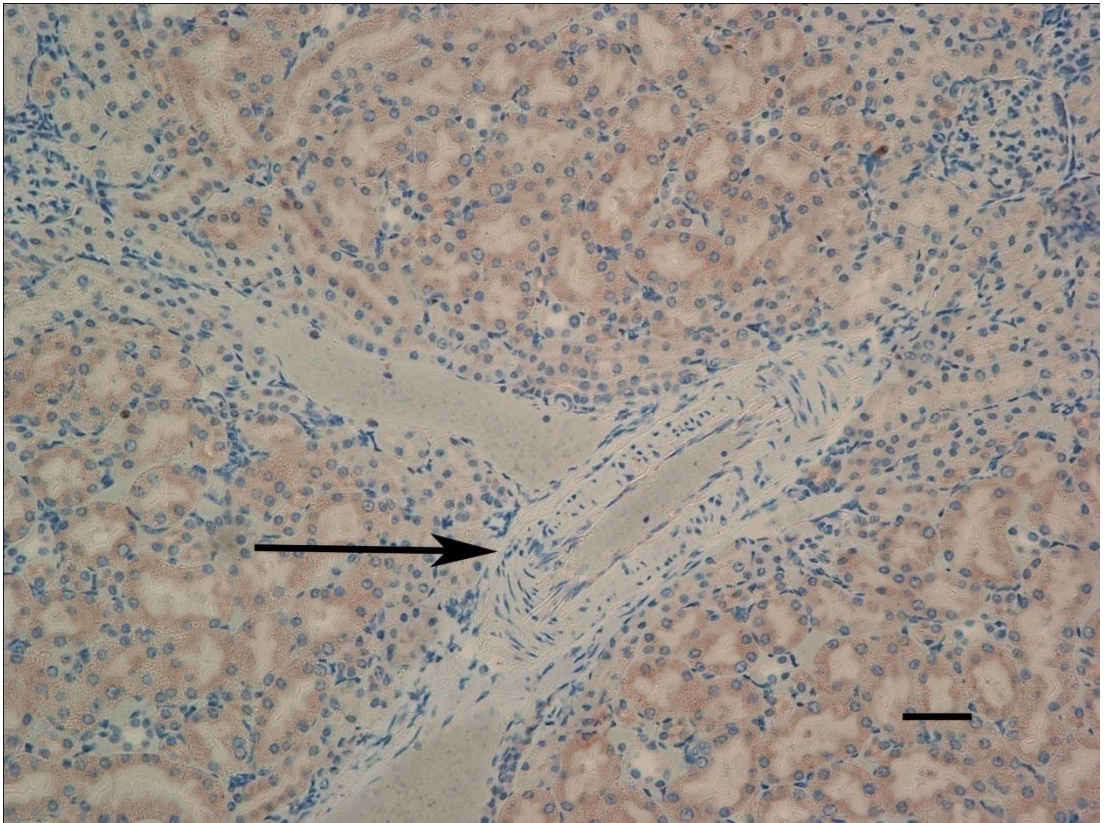
Şekil 8: Deneme grubuna ait tubulus konnektivus (kalın ok) ve çıkan henlede (ok başı) VEGF' nin immünohistokimyasal lokalizasyonu (Bar: 50µm)



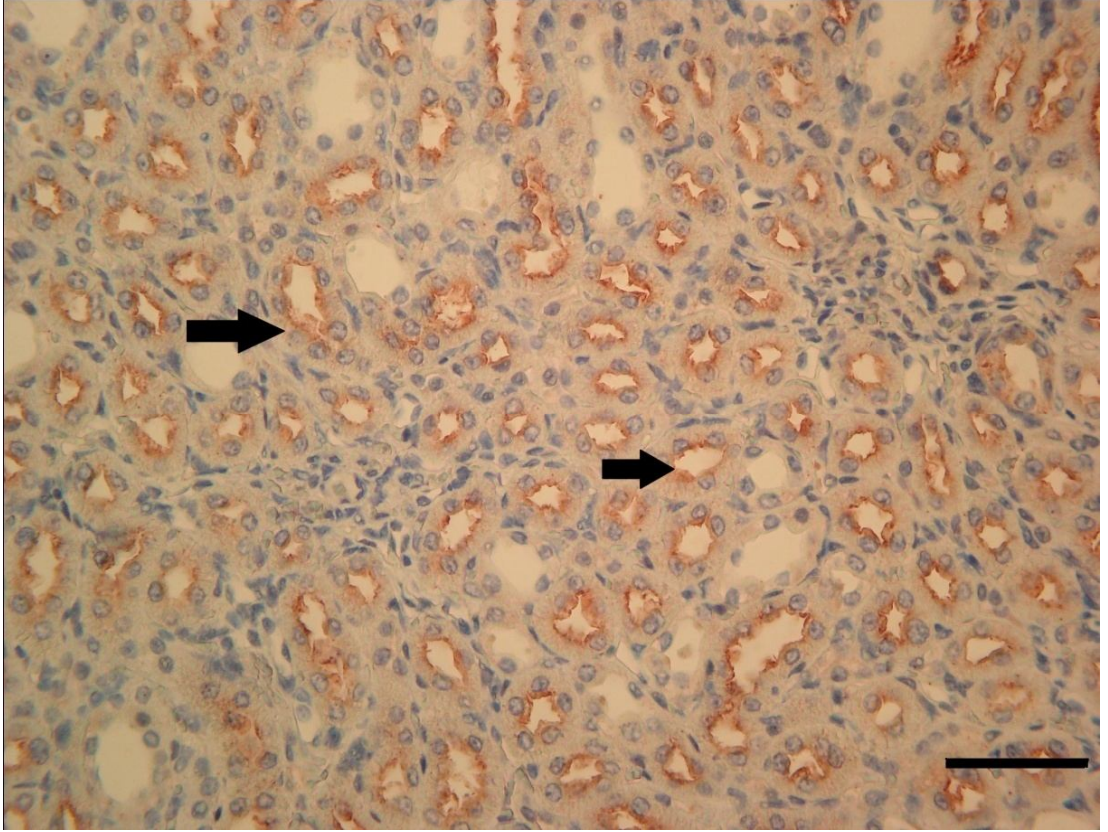
Şekil 9: Kontrol grubuna ait tubulus konnektivus (kalın ok) ve çıkan henlede (ok başı) VEGF' nin immünohistokimyasal lokalizasyonu (Bar:50 µm).



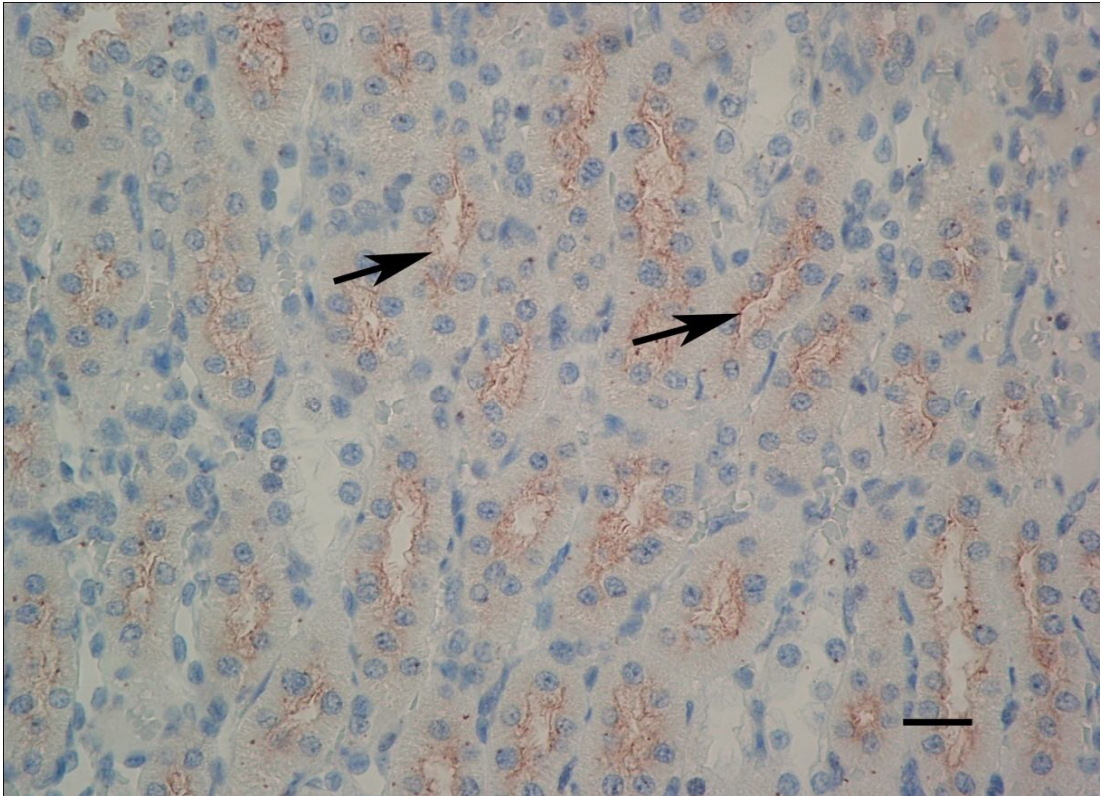
Şekil 10: Puberte döneminde capsaicin uygulanan deneme grubundaki sıçanların böbrek dokusundaki damar endoteline ait (ok) VEGF'nin immünohistokimyasal lokalizasyonu (Bar:100 µm)



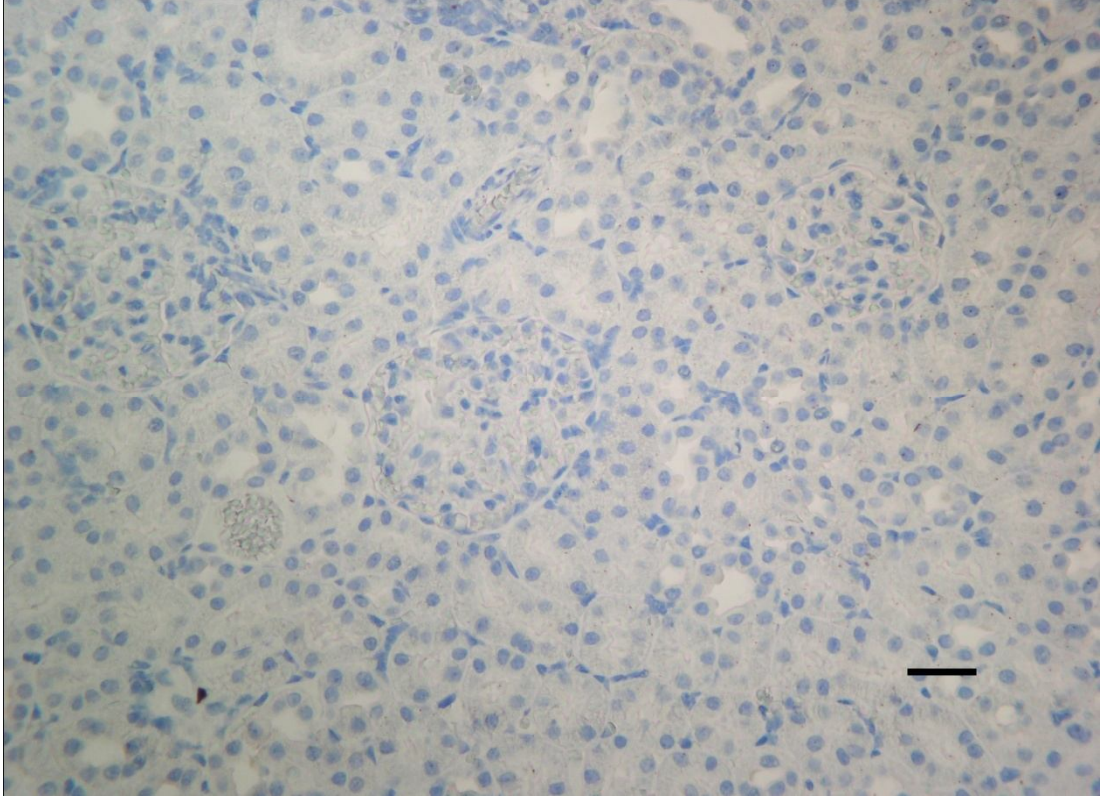
Şekil 11: Puberte döneminde capsaicin uygulanan kontrol grubundaki sıçanların böbrek dokusundaki damar endoteline ait (ok) VEGF'nin immünohistokimyasal lokalizasyonu (Bar:100 µm).



Şekil 12: Deneme grubuna ait tubulus kolektifuslarda VEGF' nin immünohistokimyasal lokalizasyonu (Bar:100µm).



Şekil 13: Kontrol grubuna ait tubulus kolektifuslarda VEGF' nin immünohistokimyasal lokalizasyonu (Bar:100µm).



Şekil 14: Negatif kontrol (Bar: 50 μm).

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada puberte döneminde capsaicin uygulanan sıçanların böbrek dokusunun histolojik ve immünohistokimyasal olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Burt ve ark. (9) ratlarda yaptıkları çalışmada VEGF'nin öncelikle tubul epitelinde ve özellikle tubulus distalis ile tubulus proksimalislerde reaksiyon verdiğini bildirmiştir. Bu çalışmada yapılan immunohistokimyasal boyamada, deneme ve kontrol gruplarının her ikisinde de VEGF'nin medullada belirgin, korteksde ise daha hafif reaksiyon verdiği tespit edildi. Gruplar arası karşılaştırmada kontrol grubu böbrek dokusunda, deneme grubuna göre VEGF immunreaktivitesinin daha güçlü olduğu görüldü. Genel olarak da sitoplazmik boyamanın olduğu görüldü. Bu çalışmadan elde edilen bulgular çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Vannay ve ark. (67) ratlarda yaptıkları çalışmada, erkek ratlara normal sıçan yemi vermişlerdir. Bu çalışmada hemotoksilen eozin ile yapılan boyamada tubul epitelinde nekrozis, glomeruluslarda normal histolojik bulgular tespit edilmiş. Yapılan immünohistokimyasal çalışmada ise kontrol grubunda deneme grubuna göre daha yoğun bir boyanma tespit edilmiş. Kontrol grubunda medulla bölgesinde korteksten daha yoğun boyanma, tubul epitelinde immünoreaktivite pozitif ve korpuskulum reniste negatiftir. Ayrıca bu çalışmada deneme ve kontrol grubunda sitoplazmik boyanma tespit edilmiştir. Çalışmamızda da Vannay ve ark. elde ettikleri bulgulara paralel bulgular elde edilmiştir.

Kanellis ve ark. (32) ratlarda yaptıkları çalışmada, deneme ve kontrol gruplarında tubulus proksimalis ve distalislerde daha yoğun bir boyanmanın olduğu, korpuskulum reniste boyanmanın olmadığı, medullada bulunan yapılarda ise boyanmanın daha zayıf olduğu görüldü. Bizim çalışmamızda ise bu çalışmadan farklı olarak medulla kısmında daha yoğun bir boyanma olduğu tespit edildi.

Li ve ark. (38) ratlarda yaptıkları çalışmada, ratlara haftada 1 kez toplam 3 hafta olmak üzere streptozotocin enjekte edilmiş ve VEGF uygulanan bu ratların korpuskulum renis bölgesinde immünoreaktivite gözlenmiş. Bu çalışma VEGF' nin diyabetik nefropatide iyileştirici etkisinin olduğunu düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda korpuskulum reniste immünoreaktivite görülmemiştir.

Zhou ve ark.(78) ratlarda yapmış oldukları çalışmada, tubulointestinal fibroziste VEGF' nin varlığında bir hafta arayla uygulandığında diğer haftaya göre tubulointestinal fibroziste azalma olduğu görüldü, bu da VEGF' nin tubulointestinal fibroziste iyileştirici etkisinin olduğunu düşündürmektedir.

Basile ve ark. (4) ratlarda yapmış oldukları çalışmada, böbrek iskemisinde kortektste tubulus proksimalislerde boyanmanın olmadığı, fakat VEGF varlığında 1,3 ve 7. günlerde tubulus proksimalislerde boyanmanın olduğu görüldü. Bu çalışmada VEGF' nin renal iskemide iyileştirici etkisinin olduğu düşünülmektedir.

Diekmann ve ark. (14) ratlarda yapmış oldukları çalışmada, rapamycin uygulanan ratlara VEGF verildiğinde glomerulluslarda immünoreaktivite görüldü. Daha sonra ise VEGFR1 ve VEGFR2 verildiğinde glomeruluslara ek olarak tubular yapılarda da immünoreaktivite gözlemlendi. Bu çalışma VEGF' nin böbrek hasarında etkili olduğunu düşündürmektedir.

Soysal' ın (58) sıçanlarda yapmış olduğu çalışmada, sıçanlara insan VEGF monoklonal antikoru olan bevasizumab' ın 3 gün verildiği hemotoksilen eozinin patolojik değerlendirmesinde interstisyel inflamasyon, damar duvarında kalınlaşma, bowman kapsül aralığında genişleme, tübül epitelinde dejenerasyon ve nekroz bulgularına rastlandı. Bu çalışmada insan VEGF monoklonal antikoru olan bevasizumab' ın böbrek dokusu üzerinde koruyucu bir ajan olduğunu düşündürmektedir.

Yazıcı ve Özen' in (74) böbrek tümörlerinde hedefe yönelik insanlarda yapmış oldukları çalışmada renal hücreli karsinomda VEGF yolunun aktivasyonu tümör anjiyogenezi, proliferasyonu ve metastazı ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

Schrijvers ve ark. (55) böbrek patolojisinde VEGF' nin bazı rollerini açıklamıştır. Bunlar VEGF' nin aşırı oluşumunda proteinüriden ziyade glomerul yollarında tıkanmaya sebep olduğunu bildirmektedir. Ayrıca VEGF geninin böbrek hastalıklarının teşhisinde öneminin kabul edilmesine rağmen, bazı VEGF polimorfizmlerinde böbrek hastalıklarının ilerlemesine ve hastalıkta yararlı etkilerinin olabileceğini bildirmişlerdir. Bu da VEGF' nin bazı böbrek hastalıklarının ilerlemesini durdurucu etkilerinin olduğunu düşündürmektedir.

Capsaicin ve VEGF' nin çalışıldığı sınırlı sayıda literatür bulunmaktadır. Bu yüzden diğer türlerde ve farklı deney düzenekleriyle karşılaştırma gereği duyulmuştur.

Min ve ark. (42) human umbilikal ven endotel hücrelerde yapmış oldukları çalışmada capsaicin uygulanan farelerde VEGF' nin indüklendiği durumlarda human endotel hücrelerin tüp oluşumunda ve göçünde, DNA sentezinde, kemotaktik motilitesinde etkili olduğu görüldü. Bu da capsaicin anjiyogenezin yeni bir üyesi olduğunu, ayrıca tümör hastalıklarının tedavisinde etkili bir ilaç olabileceğini düşündürmektedir.

Pyun ve ark. (48) human umbilikal ven endothelial hücrelerde yapmış oldukları çalışmada capsaicin VEGF tarafından sebep olan vasküler permeabilite ve patolojik anjiyogenezis engellemesinde faydalı olabileceğini bildirmiştir.

Bhutani ve ark. (5) yapmış oldukları çalışmada capsaicin STAT3 aktivasyon aktivasyon yolunu engelleyici, multiple miyeloma ve diğer kanserlerin tedavisinde önleyici olabileceğini bildirmiştir.

İşlek' in (47) capsaicin üretimi üzerine tutuklama işleminin ve farklı konsantrasyonlarda çeşitli uyarıcıların farklı zamanlardaki etkileri incelenerek tutuklama işleminin capsaicinin üzerinde arttırıcı etki yaptığı belirlenmiştir.

Şener' in (62) barsaklardan ilaç absorpsiyonu üzerine capsaicinin etkisini araştırarak elde ettiği sonuçlarda capsaicinin ilaç etkileşiminde yüksek dozlarda ve kronik kullanımda önemli olabileceğini göstermiştir.

Çalışmamızda capsaicin uygulanan sıçanların böbrek dokusunun histolojik incelemesinde deneme ve kontrol gruplarına ait böbrek dokusunun korteks ve medullasında başta tubul epiteli, korpuskulum renis olmak üzere diğer yapıların genel görünümünde bir değişiklik gözlenmedi. Bu sonuçlar, uygulanan dozda capsaicinin'in böbrek dokusunda histolojik olarak değişiklik yapacak düzeyde etkili olmadığını göstermektedir.

Sonuç olarak; bu çalışmada puberte döneminde capsaicin uygulanan ratların böbrek dokusunda VEGF' nin immünohistokimyasal lokalizasyonu incelendi. Yapılan çalışmalar sonucunda deneme grubundaki immünohistokimyasal lokalizasyonun kontrol grubuna göre daha az olduğu tespit edildi. Bu durum capsaicinin VEGF immünoreaktivitesinde etkili olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla bu çalışmanın ileride capsaicin ve VEGF ile ilgili yapılacak diğer çalışmalara temel teşkil edip katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

5. ÖZET

Capsaicin farmakolojik ve fizyolojik etkilerinden dolayı son yıllarda Tıp ve ilaç sanayinde kullanılmaktadır. Bu çalışmada; puberte döneminde capsaicin uygulanan sıçanların böbreklerinde, VEGF' nin immünohistokimyasal lokalizasyonunu tespit etmek ve dokuda meydana gelen yapısal değişiklikleri histolojik olarak incelemek amaçlandı.

Çalışmada kullanılan 20 adet sıçan deneme (n=10), kontrol (n=10) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Deneme grubundaki sıçanlara 1 mg/kg dozdaki capsaicin %10 ethanol içinde çözdürüldükten sonra % 1 Tween 20 ve %80 distile su ilave edildi. Günlük olarak hazırlanan capsaicin daha sonra subkutan olarak insülin enjektörü ile 1 hafta süre ile her gün aynı saatte enjekte edildi. Kontrol grubu için ise capsaicin ilave edilmeden hazırlanan çözelti aynı dozda 1 hafta süreyle her gün subkutan yolla uygulandı. VEGF' nin immunohistokimyasal lokalizasyonunu incelemek amacıyla indirekt immunohistokimyasal teknik streptavidin-biotin-peroksidaz yöntemi kullanıldı. Ayrıca, gruplar boyanma derecesi yönünden karşılaştırıldı. Daha sonra VEGF' nin immünohistokimyasal lokalizasyonu incelendi. Histolojik incelemeler için tripple boyama yöntemi kullanıldı.

Capsaicin uygulanan deneme ve kontrol gruplarında VEGF' nin immunohistokimyasal lokalizasyonunda medulla bölgesinde daha yoğun bir boyanmanın, kontrol grubunda ise hem korteks hem medullada daha yoğun boyanmanın olduğu görüldü. Ayrıca boyanmanın sitoplazmik olduğu görüldü.

Capsaicinin böbrek dokusu ve VEGF immünoreaktivitesinde etkili olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmanın, capsaicin uygulanan hayvanların VEGF düzeyleri arasındaki ilişkinin anlaşılması için yapılacak olan çalışmalara katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

Anahtar sözcükler: Capsaicin, VEGF, İmmünohistokimya, Böbrek.

6. SUMMARY

Capsaicin is used in medical pharmaceutical industry due to its pharmacological and physiological effects. In this study, determining the immunohistochemical localization of VEGF and the structural changes occurring in the tissue histologically were aimed to examine in the kidneys of rats treated during puberty period.

Twenty rats, which used in the study, were divided into two groups as experimental (n=10) and control (n=10). After being dissolved with %10 ethanol, %1 Tween 20 and %80 distilled water 1 mg/kg capsaicin was implemented to experimental animals. Capsaicin, which has been prepared daily, was injected with insulin injector as subcutaneous for one week at the same hour. The solution, which has been prepared without adding capsaicin, was implemented in same dose for one week everyday through subcutaneous. Indirect immunohistochemical technic streptavidin biotin complex method was used to analyse the localization of immunohistochemical VEGF. In addition, the groups were compared from the point of the degree of staining. Later on, VEGF' s immunohistochemical localization was studied. Trippl staining method was used for histological examination.

In the experimental and control groups, capsaicin applied, more intense staining in medulla part during the VEGF' s immunohistochemical localization and in control group more intense staining both in cortex and medulla were observed. In addition, it was observed that the staining was cytoplasmical.

It is thought that capsaicin is effective on kidney tissue and VEGF's immunoreactivity. We are in the opinion of contributing to the studies to understand the relationship between VEGF levels of applied capsaicin animals.

Key words: Capsaicin, VEGF, Immunohistochemistry, Kidney.

7. KAYNAKLAR

1. **Achen, M.G., Stacker, St.:** The Vascular Endothelial Growth Family; Proteins Which Guide The Development of Vasculature. *Int. J. Exp. Pathol.*, 79: 255-65, 1998.
2. **Asahara, T., Chen, D., Tsurumi, Y., Keaney, M., Rossow, S., Passeri, J.:** Accelerated Resitution of Endothelial-Dependent Function After Phveg Gene Transfer. *Circulation*. 94: 3291-302, 1996.
3. **Bahri, E.:** *Biyokimya Tusem Kitabı*. Ankara. 2008.
4. **Basile, D.P., Fredrich, K., Chelledurar, B., Leonard, E.C., Parrish, A.R.:** Renal İschemia Reperfusion İnhibits VEGF Expression and İnduces ADAMTS-1, a Novel VEGF İnhibitor. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, 294: 929- 936, 2008.
5. **Bhutani, M., Pathak, A.K., Nair, A.S., Kunumakkara, A.B., Guha, S., Sethi, G., Aggormal, B.B.:** Capsaicin is a Novel Blocker of Constituve and İnterleukin-6-İnducible STAT3 Activation. *Clin. Cancer Res.*, 13: 3024-3032, 2007.
6. **Biggs, D.F., Ladenius, R.C.:** Capsaicin Selectively Reduced Airway Responses to Histamine, Substance P, and Vagal Stimulation. *European J. Pharmacol.*, 175: 29-33, 1990.
7. **Bikfalvi, A.:** Recent Developments in The İnhibition of Angiogenesis: Examples From Studies on Platelet Factor-4 And The Vegf/Vegfr System. *Biochem. Pharmacology.*, 68: 1017-21, 2004.
8. **Brown, G.L., Curtsinger, L., Jurkrewics, M.J.:** Sitimulation of Healing of Choronic Wounds by Epidermal Growth Factor. *Plast. Reconst Surg.*, 88: 189-196, 1991.
9. **Burt, L.E., Forbes, M.S., Thornhill, B.A., Kiley, S.C., Chevalier, R.L.:** Renal Vascular Endothelial Growth Factor in Neonatal Obstructive Nephropathy. I. Endogenous VEGF. *Am. J. Physicol. Renal. Physiol.*, 292: F158-F167, 2007.
10. **Carpenter, S.E., Lynn, B.:** Vascular and Sensory Responses of Human Skinto Mild Injury After Topical Treatment with Capsaicin. *Br. J. Pharmacol.*, 73: 755-758, 1981.

11. **Clauss, M.:** Molecular Biology of The Vegf and The Vegf Receptor Family. *Semin. Thromb. Hemost.*, 26: 561-9, 2000.
12. **Crossman, G.A.:** A Modification of Mallay' s Connective Tissue Stain with a Discussion of The Principles Involved. *Anat. Rec.*, 69: 33-8, 1937.
13. **Demir, R. :** Di Fiore Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkiler. Palme yayınları, Ankara. 251-259, 2001.
14. **Diekmann, F., Roviraj, J., Carreras, J., Arellano, E.M., Banon, M.E., Ramirez-Bajo, M.J., Gutierrez-Dalmav, A., Bruret, M., Campistol, J.M.:** Mammalian Target of Rapamycin İnhibition Halts the Progression of Proteinuria in a Rat Model of Reduced Renal Mass. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 18: 2653-2660, 2007.
15. **Doğan, A.L., Güç, D.:** Sinyal İletimi Mekanizmaları ve Kanser. *Haccettepe Tıp Derg.*, 35: 34-42, 2004.
16. **Duorak, H.F., Brown, L.F., Detman, M., Duorak, A.M.:** Vascular Permeability Factor Vascular Endothelial Growth Factor, Microvascular Hyperpermeability and Angiogenesis. *Am. J. Pathol.*, 146: 1029-1039, 1995.
17. **Ferrara, N., Gerber, H.P., Le Couter, J.:** The Biology of Vegf and Its Receptor. *Nat. Med.*, 9: 669-76, 2003.
18. **Ferrara, N.:** Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Regulation of Angiogenesis. *Kidney international*, 56: 794-814, 1999.
19. **Ferrara, N.:** Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Regulation of Physiological Angiogenesis. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 280: 1358-1366, 2001.
20. **Ferrara, N.:** Vascular Endothelial Growth Factor, Basic Science and Clinical Progress. *Endocrine Reviews*, 25(4): 581-611, 2004.
21. **Ferrara, N., Davis-Smyth, T.:** The Biology of VEGF. *Endocr. Rev.*, 18: 4-25, 1997.
22. **Fisher, D.A., Lakshman, J.:** Metabolism and Effects of Epidermal Growth Factor and Related Growth Factors in Mammals. *Endoc. Rev.*, 11(3): 418-422, 1990.

23. **Gallin, J., Snyderman, R. (eds):** Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates. Lippincott William and Wilkins. 3rd edition. Philadelphia, 1999.
24. **Geppetti, P., Trevisoni, M.:** Activation and Sensitisation of The Vanilloid Receptor: Role in Gastrointestinal İnflamation and Function. Br. J. Pharmacol., 141: 1313-20, 2004.
25. **Gerwins, P., Sköldenberg, E., Claesson-Welsh, L.:** Function of Fibroblast Factors and Vascular Endothelial Growth Factors and Their Receptors in Angiogenesis. Critical Reviews in Oncology Hematology, 34: 185-194, 2000.
26. **Gope R.:** The Effect of Epidermal Growth Factor & Plateled Derived Growth Factors on Wound Healing Process. Indian J. Med. Res., 116: 201-206, 2002.
27. **Hassa, O., Aşti, R.N.:** Embriyoloji. 1. Baskı, Ankara. 2003.
28. **Hudson, L.J., Bevan, S., Wotherspoon, G., Gentry, C., Fox, A., Winter, J.:** VR1 Protein Expression Increases in Undamaged DRG Neurons After Partial Nerve Injury. European Journal of Neuroscience, 13: 2105-2114, 2001.
29. **İşlek, C.:** Serbest ve Tutuklanmış Capsacum Annum L. Hücre Süspansiyon Kültürlerinde Capsaicin Üretimi Üzerine Bazı Uyarıcıların Etkisi. Ankara Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 2009.
30. **Janeway, CA., Travers, P., Walport, M., Capra, Jd.:** Immunobiology. The İmmune System in Health and Disease. 4th edition, New York, Garland. 1999.
31. **Janso, G., Such, G.:** Effects of Capsaicin Applied Perineurally to The Vagus Nerve on Cardiovascular and Respiratory Functions in the Cat. The J. Physiol., 341: 359-370, 1983.
32. **Kanellis, J., Fraser, S., Katerelos, M., Power, D.A.:** Vascular Endothelial Growth Factor is a Survival Factor for Renal Tubular Epithelial Cells. Am. J. Physiol., 278: 905-915, 2000.

33. **Kleespies, A., Guba, M., Jauch, K.W., Bruns, C.J.:** Vascular Endothelial Growth Factor in Esophageal Cancer. *J. Surg. Oncol.*, 87: 95-104, 2004.
34. **Kress, M., Gutimann, C., Averbek, B., Reeh, P.W.:** Calcitonin Gene Related Peptid and Prostaglandin E2 But Not Substance P Release Induced by Antidromic Nerve Stimulation From Rat Skin In Vitro. *Neuroscience*, 89: 303-10, 1999.
35. **Lawrence, W. T., Diegelmann, R.F.:** Growth Factor on Wound Healing. *Clin. Dermatol.*, 12: 157-169, 1994.
36. **Lecouter, J., Lin, R., Ferrara, N.:** EG-VEGF: A Novel Mediator OF Endocrine-Specific Angiogenesis, Endothelial Phenotype, and Function. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1014: 50-7, 2004.
37. **Li, Q., Dang, X., Gu, W., Qiu, X., Wand, E.:** Clinical Significance of Co-Expression Of Vegf-C and Vegfr-3 In Nonsmall Cell Lung Cancer. *Chin. Med. J.*, 116: 727-730, 2003.
38. **Li, X., Hu, J., Zhang, Q., Sun, X., Li, S.:** Urocortin 1 Improves Renal Function in Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes by Inhibiting Overproduction of TGF- β 1 and VEGF. *Br. J. Pharmacol.*, 157: 994-1005, 2009.
39. **Lim, K.:** Dietary Red Pepper Ingestion Increases Carbohydrate Oxidation at Rest and During Exercise in Runners. *Medical Science in Sports Exercise.*, 29: 355-61, 1997.
40. **McMahon, S.B., Lewing, G., Bloom, S.R.:** The Consequences of Longterm Topical Capsaicin Application in the Rat. *Pain.*, 44: 301-310, 1991.
41. **Millaver, B., Shawver, L.K., Plate, K.H., Risav, W., Ulrich, A.:** Glioblastoma Growth Inhibited in Vivo by A Dominant-Negative Flk-1. Mutant. *Nature.*, 367: 576-9, 1994.
42. **Min, J.K., Han, K.Y., Kim, E.C., Kim, Y.M., Lee, S.W., Kim, O.H., Kim, K.W., Gho, Y.S., Kwon, Y.G.:** Capsaicin Inhibits in Vitro and in Vivo Angiogenesis. *Cancer Res.*, 64: 644-651, 2004.
43. **Monserenusoin, Y.:** Subchronic Toxicity Studies of Capsaicin and Capsicum in Rats. *Res. Commun. Chem. Path.*, 41: 95-110, 1983.

44. **Ortega, N., L'Fagihi, FE., Plovot, J.:** Control of Vegf Angiogenic Activity by Extracellular Matrix. *Biology of the Cell*, 90: 381-390, 1998.
45. **Peter, J.D., Seamus, J.M., Dennis, R.B., Ivan, M.R.:** Temel İmmünoloji. 11. Baskı, İstanbul, 2008.
46. **Pospisilova, E., Palecek, J.:** Post-Operative Pain Behaviour in Rats is Reduced After Single High-Concentration Capsaicin Application. *Pain*, 125: 233-243, 2006.
47. **Prlic, M., Bevan, J.M.:** Immunology. *Science*, 311 (5769): 1875-1876, 2006.
48. **Pyun, B.J., Choi, S., Lee, Y., Kim, T.N., Min, J.K., Kim, Y., Kim, B.D., Kim, J.H., Kim, T.Y., Kim, Y.M., Kwon, Y.G.:** Capsiate a Nonpungent Capsaicin-Like Compound, Inhibits Angiogenesis and Vascular Permeability Via a Direct İnhibition of Src Kinase Activity. *Cancer Res.*, 68: 227-235, 2008.
49. **Rice, A. Chard, T.:** Cytokines in Implantation Cytokine & Growth Factor. *Rev.*, 9(3): 287-296, 1998.
50. **Risav, W.:** Mechanisms of Angiogenesis. *Nature*, 386: 671-4, 1997.
51. **Roitt, I.:** Immunology. 5 th edition (eds), London, Mosby, 2002.
52. **Rosenstein, J.M., Krum, J.M.:** New Roles for Vegf in Nervous-Beyond Blood Vessels. *Exp. Nevrol.*, 187: 246-53, 2004.
53. **Sağlam, M., Aşti, R.N., Özer, A.:** Genel Histoloji. 6. Baskı, Ankara, 2001.
54. **Sarıtaş, B.:** Primer Hipertansiyonu olan Hastalarda Endotel Disfonksiyonu ve Serum Vasküler Endotelial Growth Faktör Düzeyleri. Çukurova Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık tezi, Adana, 2007.
55. **Schrijvers, B.F., Flyubjerg, A., Vriese, S.D.:** The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Renal Pathophysiology. *Kidney International*, 65: 2003-2017, 2004.
56. **Senger, D.R., Galli, S.J., Dvorak, A.M., Perruzzi, CA., Harvey, VS., Dvorak, HF:** Tumor Cells Secrete A Vascular Permeability Factor That Promotes accumulation of Ascites Fluid. *Science*, 219: 983-985, 1983.

- 57. Sheweiki, D., Hin, A., Saffer, D., Keshet, E.:** Vascular Endothelial Growth Factor Induced by Hypoxia May Mediate Hypoxia-Initiated Angiogenesis. *Nature*, 359: 843-5, 1992.
- 58. Soysal, N.:** Anti Vasküler Endotelial Büyüme Faktör Monoklonal Antikoru Bevasizumab'ın Böbrek Fonksiyonları ve Morfolojisi Üzerine Olan Etkileri. Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi, Aydın, 2008.
- 59. Steenfos, H.H.:** Growth Factors and Wound Healing. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand Surg.*, 28: 95-105, 1994.
- 60. Surh, Y.J., Lee, E., Lee, J.M.:** Chemopreventive Properties of Some Pungent Ingredients Presents in Red Pepper and Ginger. *Mutat. Res.*, 402: 259-67, 1998.
- 61. Szolcsa'nyi, J., Mozsik, G.:** Effects of Capsaicin on the Development of Gastric Mucosal Damage by Different Necrotizing Agents and of Gastric Cytoprotection by PGI₂ Atropine and Cimetidine on Rats. *Acta. Physiol. Hung.*, 64: 287-291, 1984.
- 62. Şener, E.:** Barsaklardan İlaç Absorpsiyonu Üzerine Capsaicinin Etkisinin Araştırılması. Hacettepe Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2010.
- 63. Takahashi H., Hattori S., Wamatsu A.:** A Novel Snake Venom Vascular Endothelial Growth Factor (Vegf) Predominantly Induces Vascular Permeability Through Preferential Signaling Via Vegf Receptor-1. *J. Biol. Chem.*, 279(44): 46304-14, 2004.
- 64. Tanyolaç, A.:** Özel Histoloji. Ankara, 1999.
- 65. Teng, C.H., Kang, J.Y., Wee, A., Lee, K.O.:** Protective Action of Capsaicin and Chili on Haemorrhagic Shock-Induced Gastric Mucosal Injury in The Rat. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 13: 1007-1014, 1998.
- 66. Thomas, K.A.:** Vascular Endothelial Growth Factor, A Potent and Selective Angiogenic Agent. *J. Biol. Chem.*, 271: 603-606, 1996.

- 67. Vannay, A., Fekete, A., Adori, C., Toth, T., Losonczy, G., Laszlo, L., Vasorhelyi, B., Tulassay, T., Szabo, A.:** Divergence of Renal Vascular Endothelial Growth Factor mRNA Expression and Protein Level in Post-Ischemic Rat Kidneys. *Exp. Physiol.*, 89: 435-44, 2004.
- 68. Vries, C. D.E., Escobedo, JA., Uneo, H.:** The Fms-Like tyrosine Kinase, A Receptor for Vascular Endothelial Growth Factor. *Science*, 255: 989-91, 1992.
- 69. Waltenberger, J., Claesson- Welsh, L., Siegbahn, A., Shibuya, M., Heldin, C.H.:** Different Signal Transduction Properties of Kdr And Flt-1, Two Receptors for Vascular Endothelial Growth Factor. *J. Biol. Chem.*, 269: 26988-95, 1994.
- 70. Watanabe, Y., Lee, S.W., Detmar, M., Ajoka, I., Duorak, H.F.:** Vascular Permeability Factor/ Vascular Endothelial Growth Factor (Vp/VEGF) Delays and Induces Escape From Senescence in Human Dermal Microvascular Endothelial Cells. *Oncogene*, 14: 2025-32, 1997.
- 71. Wheeler-Jones, C., AbuGhazoleh, R., Cospedal, R., Houlston, R.A., Martin, J., Zachary, I.:** Vascular Endothelial Growth Factor Stimulates Prostacyclin Production and Activation of Cytosolic Phospholipase A2 in Endothelial Cells Via P42/ P44 Mitogen-Activated Protein Kinase. *FEBS Lett.*, 420: 28-32, 1997.
- 72. Williams, J.D., Hargis, B.M.:** Effect of Prolonged Administration of Dietary Capsaicin on Salmonella Enteritidis Infection in Leghorn Chicks. *Avian Diseases*, 37: 143-148, 1993.
- 73. Xie, K., Wei, D., Shi, Q., Huang, S.:** Constitutive and Inducible Expression and Regulation Of Growth Factor. *Cytokine Growth Factor Reviews*, 15: 297-324, 2004.

- 74. Yazıcı, S., Özen, H.:** Böbrek Tümörlerinde Hedefe Yönelik Tedavi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Üroonkoloji Bülteni, 3: 3-10, 2007.
- 75. Yazır, Y., Gonca, S., Filiz, S., Dalçık, H.:** Endotel Hücreleri için Önemli Bir Protein Ailesi; Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (Vegf), Ailenin Üyeleri, Yapısı ve Sentezi. Cumhuriyet Üniv. Tıp Fak. Derg., 26: 181-184, 2004.
- 76. Young-Soon, S.:** More Than Spice: Capsaicin in Hot Chilli Peppers Makes Tumor Cells Commit Suicide. J. Natl. Cancer Inst., 94: 1263-1265, 2002.
- 77. Zachary, I.:** Molecules in Focus VEGF. J. Biochem. Cell Biol., 30: 1169-74, 1998.
- 78. Zhou, Q., Zheng, F., Hou, F.:** İnhibition of Tubulointerstitial Fibrosis by Pentaxifyline is Associated with Improvement of Vascular Endothelial Growth Factor Expression. Acta. Pharmacol. Sin., 30 (1): 98-1006, 2009.

8. ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Kars'ta doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Kars Atatürk İlköğretim Okulu'nda tamamladım. Lise öğrenimimi 2004 yılında Kars Fen Lisesi' nde tamamladım. 2005 yılında kazandığım Kafkas Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu' nun Hemşirelik Bölümü' nden 2009 yılında mezun oldum. 2009 yılında Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü' nün açmış olduğu yüksek lisans sınavını kazanarak Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladım.

31 Aralık 2009' de Sağlık Bakanlığı' nın yapmış olduğu atamalarda Kars Merkez 3 Nolu Sağlık Ocağı' nda göreve başladım. 8 Ağustos 2010' da aile hekimliğine geçiş nedeniyle Başbakanlık Toki Aile Sağlığı Merkezi' nde aile sağlığı elamanı olarak göreve başladım. 9 Ağustos 2011'de aile hekimliğinden istifa ederek Kars Toplum Sağlığı Merkezi' nde Bilgi İşlem İstatistik Şubesi' nde çalışmaya devam ediyorum.