

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ

PROJE BAŞLIĞI
OVEREKTOMİNİN DİŞİ SIÇAN MİDESİNDE GHRELİN EKPREZYONU
ÜZERİNE ORTAYA ÇIKARDIĞI ETKİLERİN İNCELENMESİ

Proje No:
TA-07-29

Proje Türü
NORMAL ARAŞTIRMA PROJESİ

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü: BİRKAN YAKAN
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

Araştırmacının Adı Soyadı: ARZU HANIM YAY
ZÜLEYHA DOĞANYİĞİT
TUĞBA RIHTIM
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

OCAK 2011
KAYSERİ

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde emeği geçen Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi yönetici ve çalışanları ile Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Öğr. Gör. Dr Ferhan ELMALI'ya çok teşekkür ederiz.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET

ABSTRACT

1. GİRİŞ

2.AMAÇ VE KAPSAM

3.GENEL BİLGİLER

4.GEREÇ VE YÖNTEM

5.BULGULAR

6.TARTIŞMA VE SONUÇ

7.KAYNAKLAR

ÖZET

Ghrelin büyüme hormonu salgılanması, iştah, gıda alımı, karbonhidrat metabolizması, gastrointestinal sistem, kardiyovasküler sistem, hücre proliferasyonu ve reproduktif sistem üzerine etkileri olan bir hormondur. Bu çalışmada, bilateral overektominin mide dokusunda meydana getireceği yapısal değişiklikleri ve bu değişiklikler sonucunda mide mukozasındaki ghrelin immun reaktifliğinin nasıl etkileneceğinin belirlenmesi amaçlandı.

Çalışmada 28 adet erişkin Wistar-albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar yedi gruba ayrıldı. Daha sonra deney grupları estradiol verilen (B) ve verilmeyen (A) olmak üzere ikiye ayrıldı. Deney sonunda sıçanlar ketamin anestezi altında dekapite edildi ve mide dokuları çıkarıldı. Dokular parafin bloklara gömüldü. Her gruptan alınan 5'er µm kalınlığındaki kesitlere rutin Hematotoksilen–Eosin (HE) ve avidin-biotin-peroksidaz yöntemi ile ghrelin immunohistokimyasal boyaması yapıldı.

Bilateral overektomi sonrası östrojen verilmeyen gruplarda belirgin bir morfolojik değişiklik gözlenmedi. Overektomiden sonraki 3. ve 5. günde oksintik mukozadaki ghrelin pozitif boyanan hücrelerin sayısı belirgin bir artış gösterdi. Overektomiden 7 gün sonra ghrelin pozitif boyanma gösteren hücre sayısı azaldı. Sonuç olarak bilateral overektomi mide dokusunda histolojik değişikliklere yol açmazken, overektominin mide ghrelin immunreaktivitesi üzerine etkili olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mide, Ghrelin, İmmunohistokimya, overektomi

ABSTRACT

Ghrelin is a hormone which be its effects on growth hormone secretion, appetite, food intake, carbohydrate metabolism, gastrointestinal system, cardiovascular system, cell proliferation and reproductive system. In this study, in the gastric tissue will bring structural changes from bilateral ovariectomized and as a result of these changes, affect how ghrelin immun reactivity in the gastric mucosa was intended.

In study, 28 adult female Wistar-albino rats were used. The rats were divided into seven groups. Later after, experiment groups where to divited given estrogen and not given estrogen. At the end of the experiment, the rats were decapitated under ketamine anesthesia and its gastric tissue was removed. Tissues were embedded in paraffin and staining ghrelin immunohistochemical with avidin-biotin-peroxidase method was performed.

In the ovariectomized rats, in the groups that not given estrogen were not seen morphological differences. Three and five days after ovariectomy, the number of ghrelin positive cells in the gastric oxintic mucosa significantly increased. Seven days after ovariectomy, the number of ghrelin positive cells in the gastric mucosa was decreased. These results suggested that estrogen is involved in the regulation of ghrelin expression in gastric mucosa.

Key Words: Stomach, Ghrelin, immunohistochemistry, ovariectomy

1.GİRİŞ

Ghrelin, gastrointestinal sistem tarafından üretilen, santral etkiyle yeme davranışı ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde görev alan bir peptit hormondur. Ghrelin ilk kez 1999 yılında Kojima ve ark. tarafından farelerin midesinde tanımlanmıştır (1). Ghrelin temel olarak mide fundusunda endokrin fonksiyona sahip X(A) hücreleri tarafından üretilen 28 aminoasitlik lipopeptid yapıda bir hormon olup growth hormon salgılatıcı reseptör (GHS-R)'ün endojen ligandıdır (1,2). Büyüme hormonunun salınımı, enerji dengesi, yiyecek alımı ve vücut ağırlığının ayarlanmasında görev alan ghrelin, etkisini büyüme hormonu salgılatıcı reseptör (GHS-R) tip1a'ya bağlanarak gösterir (1). İnsan ve sıçanlarda gen ekspresyonu ile yapılan

incelemelerde, ghrelinin ve reseptörünün bağırsak, kalp, böbrek, karaciğer, akciğer, pankreas, plasenta, hipofiz bezi, gonadlar ve beyin gibi geniş bir organ yelpazesinde mevcut olduğu gösterilmiştir (3-5). Üreme sistemi üzerine olan ekstragonadal etkilerinin olduğu da bildirilmiştir. İn vitro olarak lüteinizan hormon (LH) sekresyonunu suprese ettiği ve gonadotropin releasing hormon (GnRH)'a LH yanıtını azalttığı gösterilmiştir (6).

Ghrelin ve GHS-R üreme organlarında ve plasentada da tespit edilmiştir (7,8). Ancak ghrelinin reproduktif sistemde direkt etkisinin ne olduğu konusunda yanıtsız pek çok soru vardır. Yanıtsız sorulara ışık tutması amacıyla bu çalışmada overektomi yapılarak östrojen eksikliği oluşturulan dişi sıçanların mide mukozasında ghrelin ekspresyonunun nasıl etkileneceğinin immunohistokimyasal yöntemle belirlenmesi amaçlandı.

2.AMAÇ VE KAPSAM

Yanıtsız sorulara ışık tutması amacıyla bu çalışmada overektomi yapılarak östrojen eksikliği oluşturulan dişi sıçanların mide mukozasında ghrelin ekspresyonunun nasıl etkileneceğinin immunohistokimyasal yöntemle belirlenmesi amaçlandı.

3.GENEL BİLGİLER

Mide sindirim kanalının diyafram altındaki genişlemiş bölümüdür. Özefagus aracılığıyla gelen, mekanik olarak bir ölçüde parçalanmış besinler burada çeşitli enzimlerin katkısı ile gerçek anlamda parçalanarak kimus olarak adlandırılan bulamaç şeklinde bir maddeye dönüştürülür. Kimus daha sonra duodenuma gönderilir. Mide anatomik olarak **kardiya, fundus, korpus** ve **pilor** bölümlerinden oluşur. Kardiya, özefagusun giriş bölgesi ve yakın çevresini içeren sınırlı bir alandır. Kardiyadan kubbe şeklinde yukarı doğru kabaran bölüm fundus bölümüdür. Korpus midenin gövdesidir. Bazı kaynaklarda gövdenin incelerek uzanan alt bölümü **antrum** olarak isimlendirilmektedir. Duodenuma komşu daralmış son bölüm ise pilor bölümüdür. Mide duvarı genel histolojik tabakalar olan tunika mukoza, submukoza, muskularis ve serozadan oluşmaktadır. Çıplak gözle bakıldığında mide iç yüzünün girintili çıkıntılı olduğu görülür. Bu görünümün sebebi mukoza ve submukozanın lümene doğru yaptığı, **rugae** adı verilen katlantılardır. Rugae'lar mide duvarının hacim değişikliklerine

uyum göstermesini sağlar. Tunika mukozanın ilk katı olan epitel, foveola veya gastrik çukurcuk adı verilen girintileri döşer. Foveolalar dahil bütün mide yüzeyini döşeyen mide epiteli tek katlı basit prizmatik epitelidir .

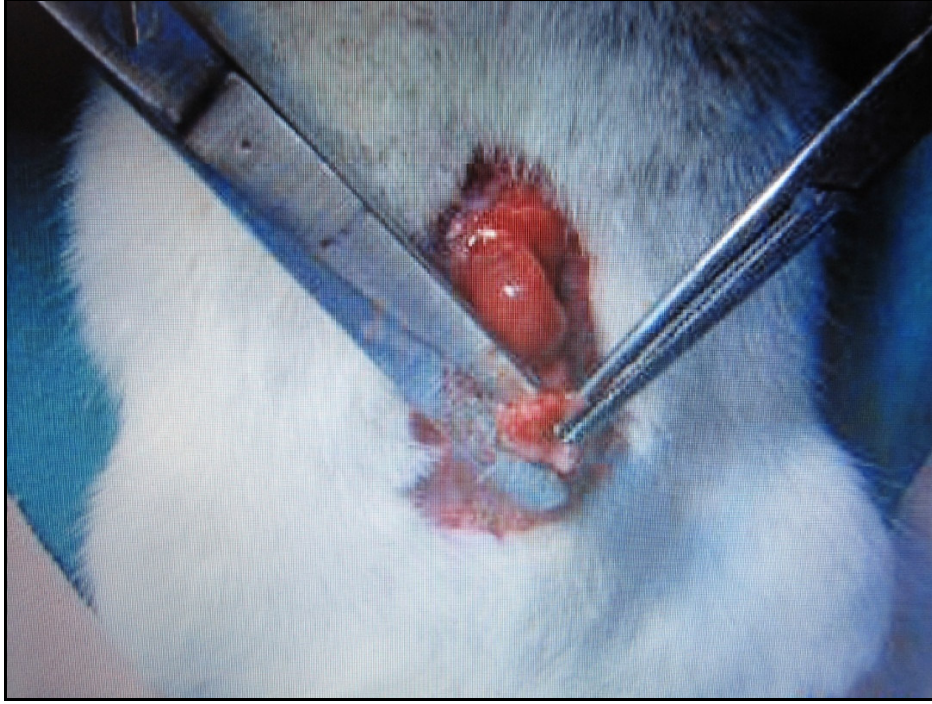
4.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda, Erciyes Üniversitesi Hakan Çetinsaya Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde üretilmiş olan yaklaşık 12 haftalık, ortalama 250 gr ağırlığında, gebe olmayan 36 adet genç-erişkin, Wistar-albino cinsi dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar için önerilen uygun çevresel koşullar aynı merkez tarafından sağlandı ve sıçanlar ışıklandırması 12 saat aydınlık-12 saat karanlık (19:00-07:00 saatleri arası karanlık), havalandırması (%60-70 nem) ve oda ısısı (20-24 °C) kontrol edilen bir odaya yerleştirildi. Sıçanlar rastgele olarak yedi gruba bölündü. Grup ve deneklerin dağılımı Tablo I'de gösterilmektedir. Kontrol grubu hayvanlara hiçbir cerrahi işlem uygulanmadı. Deney grubundaki sıçanlar intraperitoneal olarak verilen ketamin (25mg/kg) + xylazin (5mg/kg) anestezisi altında cerrahi işleme tabi tutuldu. Anestezi sonrası deneklerin ventral karın duvarları traş edildi. Daha sonra orta hat insizyonu yapılarak alt abdominal kavite eksplorasyonu sağlandı ve her iki over total olarak çıkarıldı (Şekil 1, 2).

Sham operasyonda ise yine orta hat insizyonu yapılarak batına girildi ve herhangi bir işlem yapılmadan tekrar kapatıldı.

Tablo I. Çalışmada kullanılan sıçanların gruplara göre dağılımı.

Grup	N	Yapılan İşlem
GrupI	3	Kontrol grubu, hiçbir işlem uygulanmadı
GrupII	3	Sham grubu, eksizyon yapıp sütür atıldı ve plasebo verildi.
GrupIIIA	3	Ooferektomiden sonra 1.gün uterus dokusu alınan grup
GrupIIIB3	3	Ooferektomi + E2 verilen ve 1. Gün diseke edilen grup
GrupIVA	3	Ooferektomiden sonra 3.gün uterus dokusu alınan grup
GrupIVB	3	Ooferektomi + E2 verilen ve 3. Gün diseke edilen grup
GrupVA	3	Ooferektomiden sonra 5.gün uterus dokusu alınan grup
GrupVB	3	Ooferektomi + E2 verilen ve 5. Gün diseke edilen grup
GrupVIA	3	Ooferektomiden sonra 7.gün uterus dokusu alınan grup
GrupVIB	3	Ooferektomi + E2 verilen ve 7. Gün diseke edilen grup
GrupVIIA	3	Ooferektomiden sonra 15.gün uterus dokusu alınan grup
GrupVIIB	3	Ooferektomi + E2 verilen ve 15. Gün diseke edilen grup



Şekil 1. Orta hat insizyonu yapılmış ve overektomi yapılmak üzere olan sıçanlar.



Şekil 2. Bilateral overektomi uygulanan sıçanın batin kapatılmadan önceki görünümü.

Overektomi yapılan hayvanlar rastgele A ve B olmak üzere iki gruba ayrıldı ve ayrı ayrı kafeslerde, hipotermiyi önlemek amacıyla ısıtılmış odaya konuldu. Postoperatif analjezi sağlamak için 25-75mg/kg olacak şekilde içme sularına 2mg/ml parasetamol eklendi. Operasyon günü 0. Gün kabul edilerek B grubundaki hayvanlara 1/3 oranında karıştırılmış (etil alkol+susam yağı) çözelti içinde 2mg/kg (16) olacak şekilde her gün 17 β -estradiol (E2) subkutan olarak verildi. Sham grubundakilere ise plasebo amaçlı olarak subkutan, etilalkol+susam yağı çözeltisinden verildi.

Deney sonunda sıçanlar ketamin + xylazin uygulanarak sakrifiye edildi. Kontrol ve sham grubundaki hayvanlar estrous siklusunun diestrous fazı tespit edilerek sakrifiye edildi. Daha sonra mide dokuları hızlıca çıkarılarak %10'luk nötral formalin solüsyonunda fikse edilip alışlagelmiş ışık mikroskopi takip yöntemi uygulandıktan sonra parafin bloklara gömüldü. Elde edilen parafin bloklarından 5 μ m kalınlığında kesitler alındı ve Hematoksilen-Eozin ve ghrelinin ekspresyonu için immunohistokimyasal metod kullanılarak elde edilen preparatlar incelendi.

İmmunohistokimya

Mide dokusunda ghrelin immun reaktivitesinin belirlenmesi için Avidin-Biotin-Peroksidaz yöntemi uygulandı. Bunun için parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildikten sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için H₂O₂ ile muamele edildi. Zemin boyasını engellemek için %1,5'lik normal tavşan serumuyla muameleden sonra primer antikor (*Ghrelin goat poliklonal IgG, Santa Cruz Biotechnology, California, U.S.A*) ile +4 °C' de nemli ortamda bir gece inkübe edildi. Ertesi gün sekonder antikor (*goat-rabbit IgG, Santa Cruz Biotechnology, California, U.S.A*), streptavidin HRP(Horse Radish Peroksidaz) ve DAB(Diaminobenzidine) kromojeni uygulandıktan sonra Gill hematoksilenle zıt boyama yapıldı. Negatif kontrol için hazırlanan dokularda primer antikor yerine PBS (phosphate buffer saline) kullanıldı, diğer basamaklar aynı şekilde uygulandı. Artan alkol ve ksilen aşamalarından geçirilen dokular entellan ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus BX51) incelenerek fotoğraflandı.

İstatistiksel Analiz

Yapılan çalışmada verilerin normal dağılımına Shapiro-Wilk testi ile bakıldı. Normal dağılanlara tek yönlü varyans analizi, normal dağılmayanlara ise Kruskal-Wallis analizi yapıldı. Çoklu karşılaştırmalarda parametrik ve nonparametrik değerler için Student-Newman-Keuls yönteminden yararlanıldı. İstatistiksel önemlilik derecesi $p < 0.05$ değerleri seçilerek yapıldı.

Morfometrik Analiz

Morfometrik analiz için sıçan mide mukozasındaki ghrelin pozitif hücre yoğunluğunu ölçmek amacıyla ışık mikroskopunda dijital fotoğraflar çekildikten sonra (Olympus BX51) dijital bir kamera yardımıyla her bir kesitteki ghrelin pozitif hücre sayısı hesaplandı. Bu iş için bilgisayar destekli görüntü analiz programı kullanıldı. Bu analiz programı Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalından sağlandı. Görüntü analiz programı sayesinde her bir kesit alanındaki mukozal ghrelin pozitif hücre sayısı hesaplandı.

5.BULGULAR

5.1.Işık mikroskopu ile yapılan değerlendirmede, kontrol grubuna ait diestrous fazında ve deney hayvanlarının genellikle kardiya ve fundus bölgelerinden alınan mide doku kesitlerinde mide tabakaları normal olarak gözlendi (Şekil 3). Epitel tek katlı basit prizmatik, lamina propriya ise gevşek bağ dokusu yapısındaydı. Sham grubundan alınan mide doku örnekleri de kontrol grubuna benzer şekilde boyandı.

Bilateral overektomiden sonraki 1. günde estradiol verilmeyen ve verilen gruplarda mide tabakalarında histolojik bir değişiklik gözlenmedi. Mide epiteli tek katlı basit prizmatik olarak izlenirken, lamina propriya, submukoza ve kas tabakaları normal olarak tespit edildi (Şekil 4).

Bilateral overektomiden sonraki 3. günde estradiol verilmeyen ve verilen gruplarda mide doku kesitlerinde histolojik bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 5).

Bilateral overektomiden sonraki 5. günde estradiol verilmeyen ve verilen gruplarda mide tabakalarında histolojik bir değişiklik görülmedi (Şekil 6).

Bilateral overektomiden sonraki 7. günde estradiol verilmeyen ve verilen gruplarda mide doku kesitlerinde histolojik herhangi bir değişiklik izlenmedi (Şekil 7).

Bilateral overektomiden sonraki 15. günde estradiol verilmeyen ve verilen gruplarda mide doku kesitlerinde mukoza tabakasının biraz kalınlaştığı ve damarlanmanın arttığı gözlendi (Şekil 8).

5.2.İmmunohistokimyasal boyamada diğer gruplardan farklı olarak overektomiden sonraki 3. günde ve 5. günde ghrelin (+) hücre sayısı belirgin bir artış gösterdi (Şekil 9). Overektomiden sonraki 7. günde ve 15. günde ghrelin (+) boyanan hücre sayısı azalma gösterdi (Şekil 10).

Şekil 3. Grup I mide dokusu epitel (E), lamina propriya (LP) ve submukoza (SM) tabakaları normal yapıda. H&E X20.

Şekil 4. Grup III A ve B’de mide tabakalarında (E, LP, SM) bir değişiklik izlenmedi. H&E X20.

Şekil 5. Grup IV A ve B’de mide normal yapıda. H&E X20.

Şekil 6. Grup V A ve B’de mide tabakaları normal yapıda izleniyor. H&E X20.

Şekil 7. Grup VI A ve B’de mide tabakalarında bir değişiklik izlenmedi. H&E X20.

Şekil 8. Grup VII A ve B’de mukoza (M) tabakasında kalınlaşma (parantez) ve damarlanma artışı. H&E X20.

Şekil 9. Grup IV ve V’de ghrelin (+) boyanan hücreler. İmmunperoksidaz X20.

Şekil 10. Grup VI ve VII’de ghrelin (+) boyanan hücreler. İmmunperoksidaz X20.

NOT: Sisteme giriş yapmakta problem çıkardığı için bazı şekil içerikleri metinden çıkarılmıştır. Saygılarımla... Birkan YAKAN

5.3. Morfometrik analizde ghrelin pozitif hücre yoğunluğu saptandı. Gruplara göre sırasıyla (G1’den G7B’ye kadar) ortalama hücre sayıları şöyledi; 78, 75, 98, 82, 116, 105, 125, 118, 96, 92, 84 ve 81. Bu sayısal değerler mm²’deki ortalama hücre sayılarını yansıtmaktadır.

5.4. İstatistiksel analize göre Overektomiden sonraki 7.gün (G6A) ve 15.günlerde (G7A) gruplar arasındaki ortalama hücre sayıları (sırasıyla 96 ve 84) en yüksek farkı oluşturuyordu (p<0,05). Ayrıca östrojen verilmeyen gruplarla Sham grubu (G2) arasında ortalama ghrelin

pozitif boyanan hücre sayıları bakımından en anlamlı fark oluşuyordu ($p<0,05$). Overektomi yapılan deneklerde 5.gün (G5A ve 5B) ile 15.günler (G7A ve 7B) arasında ortalama ghrelin pozitif hücre sayıları bakımından en büyük fark oluşuyordu ($p<0,05$).

6.TARTIŞMA VE SONUÇ

Doğal menopoza yaşından önce yapılan overektomi hormonal dinamikleri dramatik olarak etkilemektedir. Doğal menopozda overler sağlam kalır ve androjenleri salgılamayı sürdürürler. Testosteron ve androstenedionu içeren bu androjenler zayıf bir östrojen olan östrona dönüşebilirler. Cerrahi menopoza ise overlerden androjen, östrojen ve progesteron salgılanmasının tamamen sona ermesine yol açar.

GHS-R ve ilişkin ligandı olan ghrelin, GH aksının en yeni üyelerindendir. Ghrelin ve GHS-R'nin hipotalamus ve hipofiz dışında beyin, plasenta, böbrek, testis, ince bağırsak ve uterus gibi birçok dokuda eksprese edilmesi; ghrelinin GHS-R üzerine etki ederek bu organ ve dokulardaki farklı görevleri düzenlediğini akla getirmektedir. Normal dokulardaki diğer etkileri ise, laktotropin ve kortikotropinin stimülasyonu, enerji harcanmasının kontrolü, mide motilitesinin ve asit salgılanmasının kontrolüdür (10).

Obesite ve obesite prevalansı ve bunun komplikasyonları araştırıldıkça yeni mediyatörler tanımlanmaktadır. Ghrelin de bunlardan birisi olarak yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Bütün bu çalışmalar yağ depolanması ve enerji dengesini santral ve periferel hormonlarla dengelemeye çalışan vücudu anlamaya yönelik olarak yapılmaktadır. Artan vücut ağırlığı ve yağ dokusu, menstruasyon paternini bozarak fertilitate potansiyelini olumsuz yönde etkilemektedir. Obez kadınlar sadece kilo vererek insülin rezistansını kırmakta ve bu durum fertilitateyi kolaylaştırmaktadır (11).

Ghrelinin iştah üzerine olan etkisi farklı şekillerde gösterilmiştir (1). Midede sentezlenerek kan dolaşımı ile hipotalamik arkuat nükleus'a ve beynin diğer bölümlerine kan-beyin bariyerini aktif transport ile geçerek ulaşarak iştahı etkilemektedir (12). Açlık, ghrelin seviyesini artırmaktadır; gıda alımını takiben 60-120 dk. içinde ise ghrelin seviyesi düşmektedir. Ekzojen olarak verilen ghrelin farelerde besin alımını artırmakta, yağ kullanımını azaltmakta ve sonuçta yağ dokusu artışına neden olmaktadır (13).

Midedeki X/A hücreleri Davis (14) tarafından 1954 yılında keşfedilmiştir . Bu hücrelerin içindeki granüller ise ghrelin'in keşfine kadar gizemini korumuştur. Kojima ve arkadaşları

tarafından sıçanların midesinden büyüme hormonu salgılatıcı özelliğe sahip ghrelin keşfedildikten sonra, X/A hücrelerinin içlerindeki granüller, moleküler teknikler kullanılarak açıklanmış ve bu hücrelerin ghrelinin sentezinden sorumlu olduğu görülmüştür. Gastrointestinal sistem (GIS)'de hem ghrelin hem de ghrelin mRNA ekspresyonu, insan ve sıçanlarda asit üreten oksintik bezlerin içinde X/A hücrelerinde lokalizedir. Oksintik mukozanın diğer endokrin hücreleri olan somatostatin salgılayan D hücreleri ve histaminden zengin enterokromaffin benzeri hücreler ghrelin pozitif değildir (15,16). Ayrıca, ghrelinin insan ve sıçanların bağırsak endokrin hücrelerinde de bulunduğu tespit edilmiştir (14). Ghrelin sindirim sistemi boyunca duodenum, ileum, çekum ve kolonda da sentezlenir. Ghrelin pozitif bu hücreler arasında immunreaktivite açısından herhangi bir fark gözlenmemiş, ancak kolona doğru gittikçe ghrelin immunreaktif hücre sayısının azaldığı tespit edilmiştir.

Ghrelinin keşfinin ardından yapılan çalışmalar, bu molekülün organizmada bir çok sistem üzerine etkili olduğunu göstermiştir. Ghrelinin sıçanlarda intravenöz uygulanması bazal gastrik asit sekresyonunu ve gastrik motiliteyi doza bağımlı olarak artırırken, subkutan uygulanmasının bazal gastrik asit sekresyonuna etkisi görülmemiştir (17,18). İntravenöz (i.v) uygulanan ghreline maksimum yanıtın özellikle gastrik asit salgılanması yönünde subkutan histamin (3mg/kg) enjeksiyonu sonucu olan artış kadar olduğu gösterilmiştir. Bu etkiler hem bilateral servikal vagatomi ile hem de atropin uygulanmasıyla engellenebilmektedir. Buna karşın histamin H2-reseptör antagonisti bu yanıtı engellemez. Buna dayanarak, ghrelinin gastrik fonksiyonları, nervus vagus aracılığı ile etkilediği düşünülmektedir (19,20).

Sakata ve ark (21) sıçanlarda yapmış oldukları bir çalışmada ghrelin üreten hücrelerin daha çok üst GİS organlarında ve midede ve daha çok da açık tip ghrelin immunpozitif hücreler şeklinde bulunduğunu bildirmişlerdir. Son yıllarda ghrelinin hematolojik parametreler üzerinde de etkili olabileceği tespit edilmiştir. Narin ve ark. (22) yapmış olduğu bir çalışmada sıçanlara dışardan 5 gün süreyle 10 nmol/kg dozunda verilen ghrelinin muhtemelen lenfopoezi uyarak lenfosit sayısını artırabileceği iddia edilmektedir .

Yanıtsız sorulara ışık tutması amacıyla planlanarak gerçekleştirilen bu çalışmada overektomi yapılarak östrojen eksikliği oluşturulan dişi sıçanların mide mukozasında ghrelin ekspresyonunun nasıl etkileneceğinin immunohistokimyasal yöntemle belirlenmesi amaçlandı. Bunların yanı sıra H.E. boyama yöntemi, morfometrik analiz ve kapsamlı bir istatistiksel analiz de gerçekleştirildi. H.E. boyama yöntemiyle diğer gruplardan farklı olarak

bilateral overektomiden sonraki 15. günde mide doku kesitlerinde mukoza tabakasının biraz kalınlaştığı ve damarlanmanın arttığı izlendi.

İmmunohistokimyasal boyama ve morfometrik analiz ile ghrelin pozitif boyanan hücre sayısının en fazla olduğu grup; overektomiden sonraki 5.günde östrojen verilmeyen (G5A) gruptu. Bu bulgu Matsubara ve ark (23) yapmış olduğu çalışma ile uyumludur . Bilateral overektomi sonrası östrojen verilmeyen gruplarda belirgin bir morfolojik değişiklik gözlenmedi. Overektomiden sonraki 3. ve 5. günde oksintik mukozadaki ghrelin pozitif boyanan hücrelerin sayısı belirgin bir artış gösterdi. Overektomiden 7 gün sonra ghrelin pozitif boyanma gösteren hücre sayısı azaldı. Overektomi ile birlikte gözlenen bu ghrelin hücre sayısındaki azalma, muhtemelen 17- β - östradiol uygulanmasından kaynaklanmaktadır.

Sonuç olarak bilateral overektomi mide dokusunda histolojik değişikliklere yol açmazken, overektominin mide ghrelin immunreaktivitesi üzerine etkili olduğu gözlenmiştir.

7.KAYNAKLAR

- 1- Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth hormone releasing acylated peptide from stomach. Nature 1999;402:656-660.
- 2-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 2001; 142: 3697-3700.
- 3-Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, Bhattacharya S, Carpenter R, Grossman AB, Korbonits M. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and types of its receptor GHS-R in humans. Clin. Endocrinol Metab. 2002; 87: 2988-2991.
- 4-Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin: discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. Trends. Endocrinol. Metab. 2001; 12: 118-122.
- 5-Papotti M, Ghe C, Cassoni P, et al. Growth hormone secretagogue binding sites in peripheral human tissues. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2000; 85: 3803-3807.

- 6-Tena-Sempere M & Huhtaniemi I. Gonadotropins and gonadotropin receptors, Reproductive Medicine, Molecular, Cellular and Genetic Fundamentals, New York 2003, pp. 225–244.
- 7-Gualillo O, Caminos J, Blanco M, et al. Ghrelin, a novel placental-derived hormone. Endocrinology 2001;142:788-794.
- 8-Gaytan F, Barreiro ML, Caminos JE, Chopin LK, et al. Expression of Ghrelin and Its Functional Receptor, the Type 1a Growth Hormone Secretagogue Receptor, in Normal Human Testis and Testicular Tumors. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2004; 89: 400–409.
- 8-Gualillo O, Caminos J, Kojima M, et al. Gen-der and gonadal influences on ghrelin mRNA levels in rat stomach. Eur J Endocrinol 2001; 144: 687–690.
- 9- Saruhan B, Nergiz Y. Overektomili sıçanlara östrojen ve antiöstrojen uygulamasının uterus epiteli üzerine etkisi. Dicle tıp derg. 2002; C: 1-2.
- 10- Tawadros N, Salamonsen L.A, Dimitriadis E, Chen C. Facilitation of decidualization by locally produced ghrelin in the human endometrium. Molecular Human Reproduction. 2007; 13: 483-489.
- 11-Budak E, Sanchez M, Bellver J, Simon C, et al. Interactions of the hormones leptin, ghrelin, adiponectin, resistin, and PYY3-36 with the reproductive system. Fertility and Sterility 2006; 85: 1563-81.
- 12- Dzaja A, Dalal Mac, Himmerich H, Uhr M, Pollmacher T, Schuld A. Sleep enhances nocturnal plasma ghrelin levels in healthy subjects. Am J Physiol Endocrinol Metab 2004; 286: 963-967
- 13- Nagaya N, Kangawa K. Ghrelin, a novel growth hormonereleasing peptide, in the treatment of chronic heart failure. Regul Pept. 2003; 114: 71-77.
- 14- Davis Jc. The relation between the pancreatic alpha cells and certain cells in the gastric mucosa. J Pathol Bacteriol. 1954 67 (1), 237- 240.

- 15- Lu D, Willard D, Patel IR. Aou protein is an antagonist of the melanocyte-stimulatinghormone receptor. *Nature*, 1994; 371: 799-802.
- 16-Dornonville de la Cour C, Bjorkqvist M, Sandvik AK, et al. A-like cells in the rat stomach contain ghrelin and do not operate under gastrin control. *Regul. Pept.* 2001; 99: 141–150.
- 17- Levin F, Edholm T, Ehrström M, et al. Effect of peripherally administered ghrelin on gastric emptying and acid secretion in the rat. *Regul Pept* 2005; 131: 59-65.
- 18-Edholm T, Levin F, Hellström PM, Schmidt PT. Ghrelin stimulates motility in the small intestine of rats through intrinsic cholinergic neurons. *Regul Pept* 2004; 121: 25–30.
- 19- Date Y, Kojima M, Hosoda H. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesised is synthesized in a distinct endocrine cell type in gastrointestinal tract of rats and humans. *Endocrinolgy* 2000; 141, 4255-4261.
- 20- Ueno H, Yamaguchi H, Kangawa K, Nakazato M. Ghrelin: a gastric peptide that regulates food intake and energy homeostasis. *Regul Pept* 2005; 126: 11–19.
- 21-Sakata I, Nakamura K, Mamazaki M, et al. Ghrelin-producing cell exist as two types of cells, closed-and opened type cells, in the rat gastrointestinal tract. *Peptides* 2002; 23: 531-536.
- 22-Narin N, Çetin E. Sıçanlarda ghrelin uygulamasının bazı hematolojik parametreler üzerine etkisi. *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)* 2010; 19(3) :202-208.
- 23-Matsubara M, Sakata I, Reiko W, Yamazaki M, Inoue K and Sakai T. Estrogen modulates ghrelin expression in the female rat stomach. *Peptides* 2004; 25:289-297.

PROJE SONUÇ RAPORU YAZIMINDA UYULMASI GEREKEN KURALLAR

Proje sonuç raporu yazımında A4 ebadında kağıt alanı kullanılmalı, sayfalardaki sağ, sol ve alt boşluk 2.5 cm, üst boşluk ise 3 cm olmalıdır.

Proje sonuç raporunun tam metni, **tek bir pdf dosyası** olarak elektronik ortamda ERÜ-PRODİS sistemi üzerinden birime sunulmalıdır. Dosya isimleri aşağıdaki formata uygun olmalı ve isim verilirken Türkçe karakter kullanılmamalıdır:

projeno.pdf (örnek: FBA_09_1236.pdf)

Proje sonuç raporu içeriği aşağıda belirlenen düzende olmalıdır:

KAPAK: Yukarıda verilen formata uygun olarak hazırlanmalıdır.

BOŞ SAYFA: Kapaktan sonra boş bir sayfa bırakılmalıdır.

TEŞEKKÜR: Bu kısım isteğe bağlı olarak eklenebilir.

İÇİNDEKİLER: Rapor içindeki başlıkları, alt başlıkları ve bunların sayfa numaralarını verecek şekilde hazırlanmalıdır.

ÖZET: Proje başlığı ile birlikte en az 100, en çok 250 sözcükten oluşan Türkçe özet verilmelidir. Zorunlu hallerde özet 400 sözcüğe kadar çıkabilir. Özet'in bitiminde "Anahtar Kelimeler" yer almalıdır.

ABSTRACT: Proje başlığı ile birlikte en az 100, en çok 250 sözcükten oluşan İngilizce özet verilmelidir. Zorunlu hallerde özet 400 sözcüğe kadar çıkabilir. Özet'in bitiminde "Keywords" yer almalıdır.

Önerilen Proje Metni Ana Bölümleri,

**GİRİŞ / AMAÇ VE KAPSAM
GENEL BİLGİLER
GEREÇ VE YÖNTEM
BULGULAR
TARTIŞMA VE SONUÇ
KAYNAKLAR**

EKLER

Tartışma ve Sonuç bölümünde, projenin öneri aşamasında ortaya konulan hedeflere ne ölçüde ulaşıldığı açıkça ortaya konulmalı, ulaşılamayan hedefler var ise bunların gerekçeleri de tartışılmalıdır.

Araştırmacıların sonuç raporu yazımında ilgili enstitü veya uzmanlık eğitiminin yapıldığı fakültenin belirlediği tez yazım formatını kullanmaları önerilir.

Proje çalışmasından elde edilen veriler veya sonuçlar kullanılarak üretilmiş yayınlar var ise, rapor sonunda listelenmeli ve yayının bir örneği rapora eklenmelidir.

Hatırlatma

(Uygulama Yönergesinin Sonuç Raporu İle İlgili Maddesi)

Madde 15. Proje yürütücüsü, protokolde belirtilen bitiş tarihini izleyen 1 ay içerisinde, araştırma sonuçlarını içeren ve BAP Komisyonu tarafından belirlenen formata uygun olarak hazırlanmış Proje Sonuç Raporunu, tez projesi yürütücüsü ise tezin elektronik ortamdaki nüshasını proje değerlendirme ve izleme sistemi aracılığı ile BAP Koordinasyon Birimine sunar. Ayrıca, var ise proje kapsamında gerçekleştirilmiş yayınlar da rapora eklenir. Tez projeleri için, proje yürütücüleri tezin başarılı bulunarak tamamlandığına dair ilgili enstitüden alınmış bir belgeyi de birime teslim etmek zorundadır. Güdümlü projeler ve sempozyum düzenleme projeleri için, sonuç rapor formatına bağlı kalınmaksızın bu desteğin nasıl kullanıldığını açıklayan bir rapor hazırlanır ve BAP Birimi'ne sunulur. Araştırma projelerine ait sonuç raporları, hakem değerlendirmesi ışığında değerlendirilerek projenin başarılı sayılıp sayılmayacağına Komisyon tarafından karar verilir. Diğer projelerin sonuç raporları ise doğrudan Komisyon tarafından değerlendirilerek karara bağlanır. Araştırma projeleri kapsamında gerçekleştirilen çalışmalar ve elde edilen sonuçlar, yüksek lisans, doktora veya tıpta uzmanlık tezlerinde kullanılamaz. Bu kapsamdaki sonuçlar, ancak literatürdeki diğer kaynakların kullanıldığı oranda ve kaynak gösterilerek kullanılabilir.