



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNER HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ RAT BÖBREĞİNDE
TARÇIN EKSTRATININ TOLL-LİKE RESEPTÖR 4 (TLR4)
EKSPRESYONUNA VE MAST HÜCRELERİNİN SAYISAL
DAĞILIMINA ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Hülya ŞEN

Danışman
Doç. Dr. Tuğrul ERTUĞRUL

SAMSUN
2022

**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNER HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**



**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ RAT BÖBREĞİNDE
TARÇIN EKSTRATININ TOLL-LİKE RESEPTÖR 4 (TLR4)
EKSPRESYONUNA VE MAST HÜCRELERİNİN SAYISAL
DAĞILIMINA ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Hülya ŞEN

Danışman
Doç. Dr. Tuğrul Ertuğrul

SAMSUN
2022

TEZ KABUL VE ONAYI

Hülya Şen tarafından, Doç. Dr. Tuğrul ERTUĞRUL danışmanlığında hazırlanan “Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Rat Böbreğinde Tarçın Ekstratının Toll-Like Reseptör 4 (Tlr4) Ekspresyonuna Ve Mast Hücrelerinin Sayısal Dağılımına Etkisinin İncelenmesi” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 21.3.2022 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	İmza	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Şerife Tütüncü		☒ Kabul
	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı		☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Tuğrul Ertuğrul		☒ Kabul
	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı		☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Ahmet Ceylan		☒ Kabul
	Ankara Üniversitesi Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı		☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

ONAY

... / ... / ...

Prof. Dr. Ali BOLAT
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Yüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi?

Evet ☒

Hayır ☐

İmza
... / ... / 2022
Hülya Şen

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı: Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Rat Böbreğinde Tarçın Ekstratının Toll-Like Reseptör 4 (Tlr4) Ekspresyonuna Ve Mast Hücrelerinin Sayısal Dağılımına Etkisinin İncelenmesi.

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 13.01.2022 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 19

Tek kaynak oranı : % 4 çıkmıştır.

İmza
... / ... / 2022
Doç. Dr. Tuğrul Ertuğrul

ÖZET

DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ RAT BÖBREĞİNDE TARÇIN EKSTRATININ TOLL-LİKE RESEPTÖR 4 (TLR4) EKSPRESYONUNA VE MAST HÜCRELERİNİN SAYISAL DAĞILIMINA ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Hülya ŞEN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı

Yüksek lisans, Ocak/2022

Danışman:Doç. Dr. Tuğrul Ertuğrul

Tarihi 4000 yıl öncesine dayanan tarçın geleneksel olarak kullanılan bitkisel ilaçlardan biridir. İçeriğinde bulunan fenolik bileşiklerinden dolayı tarçın doğal bir antioksidan kapasiteye sahiptir. Tarçının yapısında bulunan etken maddelerin insülin benzeri etki gösterebildiği ve insülin reseptörlerinin uyarılmalarını arttırarak insülin direncini azalttığı bilinmektedir. Diabetes mellitus (DM), vücudun insülin üretememesi, insülinin etkisine direnç göstermesi veya her ikisinin birden neden olduğu yüksek kan şekeri seviyeleri ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır. Kemik iliğinden köken alan mast hücreleri (MH) sindirim, deri ve solunum sistemi gibi vücudun dış ortamla ilişkide bulunduğu yabancı maddelerin vücuda girebileceği yerlerde daha fazla bulunurlar. MH ler fiziksel faktörler, immünolojik faktörler ve nörojenik faktörler tarafından uyarıldıklarında granül içeriklerini boşaltarak aktive olabilirler. Bu çalışmanın amacı tarçının diyabetli rat böbreğinde MH sayısı ve TLR4 ekspresyonuna etkisini araştırmaktır. Çalışmada 32 adet Albino-Wistar ırkı erkek ratlar 4 gruba ayrıldı: kontrol, diyabet, tarçın ve diyabet + tarçın (n=8). Diyabet ve diyabet + tarçın grubunda yer alan ratlarda streptozotosin ile diyabet modeli oluşturuldu, tarçın (0.5 mg/kg) ve diyabet + tarçın grubundaki ratlara ise 14 gün boyunca tarçın ekstratı verildi. Kontrol grubundaki ratlara herhangi bir uygulama yapılmamıştır. MH sayısında en yüksek artış diyabet grubunda bulundu. Tarçının böbrek dokusunda MH sayısında artışa neden olduğu gözlenirken, diyabet + tarçın uygulanmış grupta MH sayısında anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi. Kontrol grubu ile deney grupları arasında TLR4 immünreaktivitesinin lokalizasyonunda bir farklılık yoktu. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında en yüksek TLR4 immünreaktivitesi diyabet grubunda gözlemlendi. Çalışmamızda dikkat çeken bir diğer bulgu ise tarçının böbrek dokusunda TLR4 ekspresyonunu arttırdığı ve diyabet grubunda artmış TLR4 immünreaktivitesini azalttığıdır. Diyabet oluşturulmuş ve tarçın verilmiş gruplarda MH sayısında ve TLR4 ekspresyonunda artış görülmüştür. Bu sinerjik artış tarçının çeşitli hastalıkların olası doku hasarlarını önlemek ve ayrıca immün sistemi desteklemek için kullanılabileceğini varsaymamıza neden olmuştur. Sonuç olarak tarçının diyabette dolaylı olarak iyileştirici etkilerinin yanında hücre ve sitokinleri düzenleyebileceği saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: Diyabet, Tarçın, Böbrek, Mast Hücre, TLR4

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF CINNAMON EXTRACT ON TOLL-LIKE RECEPTOR 4 (TLR4) EXPRESSION AND NUMERICAL DISTRIBUTION OF MAST CELLS IN THE EXPERIMENTAL DIABETIC RAT KIDNEY

Hülya ŞEN

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Veterinary Histology and Embriology

Master, January/2022

Supervisor: Doç. Dr. Tuğrul Ertuğrul

Cinnamon is a traditional herbal remedy with a history dating back 4000 years. Because of its phenolic components, cinnamon has a natural antioxidant capability. It is known that the active ingredients in cinnamon can have an insulin-like effect and reduce insulin resistance by increasing the stimulation of insulin receptors. Diabetes mellitus (DM) is a chronic metabolic disease characterized by high blood sugar levels caused by the body's inability to produce insulin, resistance to the action of insulin, or both. Mast cells (MC) originating from the bone marrow are more common in the digestive, skin, and respiratory systems, where foreign substances that the body is in contact with can enter the body. MCs can be activated by emptying their granule contents when stimulated by physical, immunological, or neurogenic stimuli. The aim of this study was to investigate the effect of cinnamon on MH count and TLR4 expression in the kidney of rats with diabetes. In the study, 32 male Albino-Wistar rats were divided into four groups: control, diabetic, cinnamon, and diabetic + cinnamon (n=8). The diabetic model was induced by streptozotocin in all rats in the diabetic and diabetic + cinnamon groups, while cinnamon extract (0.5 mg/kg) was given to all rats in the cinnamon and diabetic + cinnamon groups for 14 days. The rats in the control group were given no treatment. The highest increase in the number of MH was found in the diabetic group. While it was observed that cinnamon caused an increase in the number of MH in the kidney tissue, there was a significant decrease in the number of MH in the diabetic + cinnamon group. There was no difference in the localization of TLR4 immunoreactivity between control and experimental groups. When compared to the control group, the highest TLR4 immunoreactivity was observed in the diabetic group. Another remarkable finding in our study is that cinnamon increased TLR4 expression in the kidney tissue and decreased the elevated TLR4 immunoreactivity in the diabetic group. There was an increase in the number of MH and TLR4 expression in the diabetic and cinnamon groups. This synergetic increase has led us to assume that cinnamon can be used to prevent possible tissue damage in various diseases and also to support the immune system. As a result, it has been determined that cinnamon can regulate cells and cytokines in addition to its indirect healing effects in diabetes.

Keywords: Diabetes, Cinnamon, Kidney, Mast Cell, TLR4

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan değerli danışman hocam sayın Doç. Dr. Tuğrul ERTUĞRUL'a, ilgisini ve önerilerini göstermekten kaçınmayan Prof. Dr. Şerife TÛTÛNCÛ'ye sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Bu süreçte benden desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli eşim Ömer Faruk ŞEN'e yüksek lisans öğrenimi boyunca birlikte yol aldığımız kıymetli arkadaşlarım Elif Tuğba ERGEL ve Kübra TAŞKAN'a tez yazma süresi boyunca kurumda, çalışma zamanlarımı bu hususu dikkate alarak hazırlayan, yardımlarını esirgemeyen yoğun bakım sorumlu yardımcısı değerli Seher KARAGÖL YILDIZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Hülya ŞEN

SİMGELER VE KISALTMALAR

AB	: Alcian blue
CTMC	: Bağdoku mast hücresi
DAMP	: Hasarla ilişkili moleküler yapılar
DM	: Diabetes mellitus
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
GLUT4	: Glukoz taşıyıcı Tip 4
HbA1c	: Glikoze hemoglobin
IL	: İnterlökin
IL-3	: İnterlökin 3
IL-4	: İnterlökin 4
IR	: İnsülin reseptörü
IRS1	: İnsülin reseptör subrat-1
IgE	: Immünglobulin E
LPS	: Lipopolisakkarit
MAPK	: Mitojenle aktive olan protein kinaz
MCT	: Triptaz içeren mast hücreleri
MCTC	: Triptaz ve Kimaz içeren mast hücreleri
MH	: Mast hücresi
MHKP	: Metil hidroksi kalkon polimeri
MMC	: Mukozal mast hücresi
MyD88	: Mycloid farklılaşma faktörü 88
PAMP	: Hastalık etkenlerine eşlik eden moleküler yapılar
PBS	: Phosphate Buffered Saline
pH	: Asidite
PPARS	: Peroksizom aktive-proliferatör reseptörleri
PRR	: Patern tanıyan reseptör
RAGE	: Gelişmiş glikosilasyon son ürünleri
RNA	: Ribonükleik asid

SCF	: Kök hücre faktörü
SO	: Safranin O
SRS-A	:Substans
STZ	: Streptozosin
TICAM-1	: Tır alanı içeren adaptör molekülü-1
TIR	: Toll/ İnterlökin-1 reseptör benzeri
TLR	: Toll benzeri reseptör
TLR-4	: Toll benzeri reseptör 4
TRAM	: TRIF ile ilgili adaptör molekülü
β Hücreleri	: Beta hücreleri
HMGB1	: Yüksek mobilite grup kutusu 1

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. <i>Cinnamomi Cassia</i> (Çin Tarçını).....	2
2.2. <i>Cinnamomi Zeylanicum</i> (Seylan Tarçını).....	2
2.3. Tıp Tarihinde <i>Cinnamomi</i> Kullanımı	2
2.4. <i>Cinnamomi Cortex Oleum</i> 'un (Tarçın Kabuğu Yağı) Bileşeni	3
2.5. <i>Cinnamomi</i> 'nin Moleküler Etki Mekanizması.....	3
2.6. Diabetes Mellitusun Tanımı ve Tarihçesi	4
2.7. Klinik Sınıflandırma	5
2.7.1. Tip 1 Diyabet	5
2.7.2. Tip 2 Diyabet	5
2.7.3. Tip 2 DM ve <i>Cinnamomi</i>	5
2.8. İnsülin	6
2.8.1. İnsülin Reseptörü	6
2.8.2. İnsülin Direnci	7
2.8.3. İnsülin Direnci ve Tip 2 Diyabet.....	8
2.9. Tarçının Kan Şekeri Üzerine Etkisi	8
2.10. Böbrek Histolojisi	10
2.11. Mast Hücresi	12
2.11.1. Mast Hücresi ile İlgili Genel Bilgiler.....	12
2.11.2. Mast Hücrelerinin Gelişimi.....	14
2.11.3. Mast Hücre Sınıflandırılması	15
2.11.4. Mast Hücre Mediatörleri.....	15
2.11.4.1. Primer Mediatörler.....	16
2.11.4.1.1. Heparin.....	16
2.11.4.1.2. Histamin.....	17
2.11.4.1.3. Aril Sülfataz.....	17
2.11.4.1.4. Nöral Proteazlar	17
2.11.4.1.5 Eozinofil Kemaotaktik Faktör.....	17
2.11.4.1.6 Nötrofil Kemotaktik Faktör	18
2.11.4.1.7. Serotonin.....	18
2.11.4.1.8. Renin.....	18
2.11.4.2. Sekonder Mediatörler.....	18
2.11.4.2.1. Lökotrienler (C4, D4 ve E4)	18
2.11.4.2.2. Prostaglandin (PGD2).....	19
2.11.4.2.3. Tromboksanlar (A2 ve B2)	19
2.11.4.2.4. Bradikinin	19
2.11.4.2.5. Platelet Edici Faktör.....	19
2.11.4.2.6. Tümör Nekrozis Faktör α	19
2.11.4.2.7. Interkolinler (IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-8).....	19
2.12. Toll-Like Reseptör	20
2.12.1. PAMP'ların Tlr ile Tanınması	20
2.12.2. TLR'lerin Sentez mekanizması ve Hücre Döngüsü.....	21
2.12.3. TLR4.....	21

2.12.4. Tlr4 Sinyalizasyonu Yolakları	22
3. MATERYAL VE METOT	24
3.1. Deney Hayvanları	24
3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	24
3.3. Diyabetin Oluşturulması	24
3.4. Tarçın Uygulaması	25
3.5. Deneyin Sonlandırılması	25
3.6. Mast Hücre Histokimyası	25
3.7. İmmünohistokimyasal Boyama	26
3.8. İmmünohistokimyasal Değerlendirme	27
3.9. İstatistiksel Analiz	27
4. BULGULAR	28
4.1. Histokimyasal bulgular	28
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	32
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇ	42
KAYNAKÇA	42
ETİK KURUL KARARI	54
ÖZ GEÇMİŞ	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. <i>Cinnamomi Zeylanicum</i> çiçeği	1
Şekil 2.1. <i>Cinnamomi Cassia</i> ve <i>Cinnamomi Zeylanicum</i>	2
Şekil 2.2. <i>Cinnamomi Kortex</i>	3
Şekil 2.3. <i>Cinnamomi</i> 'nin kimyasal Bileşenleri	4
Şekil 2.4. İnsülin reseptörü	6
Şekil 2.5. İnsülin direnci	8
Şekil 2.6. Tip 2 DM ve İnsülin direnci	8
Şekil 2.7. Mast hücre medyatörleri ve biyolojik etkileri	16
Şekil 4.1. Kontrol grubu böbrek korteksi, Toluidin Blue x 40'lık objektif	29
Şekil 4.2. Kontrol grubu böbrek medullası, toluidin blue x 20'lik objektif.....	30
Şekil 4.3. Diyabet grubu böbrek medullası, toluidin blue x 20'lik objektif	30
Şekil 4.4. Diyabet grubu böbrek korteksi, toluidin blue x 40'lık objektif	31
Şekil 4.5. Tarçın grubu böbrek medullası, toluidin blue x 20'lik objektif	31
Şekil 4.6. Tarçın grubu böbrek korteksi, toluidin blue x 40'lık objektif.....	32
Şekil 4.7. Diyabet+tarçın grubu böbrek medullası, toluidin blue x 20'lik objektif	32
Şekil 4.8. Diyabet+tarçın grubu böbrek korteksi, toluidin blue x 40'lık objektif.....	33
Şekil 4.9. Negatif kontrol x 40'lık objektif	34
Şekil 4.10. Kontrol grubu böbrek medullası, TLR4 ekspresyonu x 20'lik objektif	34
Şekil 4.11. Kontrol grubu böbrek korteksi, TLR4 ekspresyonu x 40'lık objektif	35
Şekil 4.12. Diyabet grubu böbrek korteksi, TLR4 ekspresyonu x 20'lik objektif	35
Şekil 4.13. Diyabet grubu böbrek medullası, TLR4 ekspresyonu x 40'lık objektif	36
Şekil 4.14. Tarçın grubu böbrek medullası, TLR4 ekspresyonu x 20'lik objektif.....	37
Şekil 4.15. Tarçın grubu böbrek korteksi, TLR4 ekspresyonu x 40'lık objektif	38
Şekil 4.16. Diyabet+tarçın grubu böbrek medullası, TLR4 ekspresyonu x 20'lik objektif ..	38
Şekil 4.17. Diyabet+tarçın grubu böbrek korteksi, TLR4 ekspresyonu x 40'lık objektif.....	39

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4.1. Böbrek dokusunda toluidin mavisi ile boyama sonrası mast hücre sayıları	36
Tablo 4.2. Farklı grupların böbrek dokusunda TLR4'ün ortalama immunohistokimyasal reaksiyon şiddetleri	37



1. GİRİŞ

Tarihi 4000 yıl öncesine dayanan tarçın geleneksel olarak kullanılan bitkisel ilaçlardan biridir (Leung ve Foster, 1996). Tarçının esasını oluşturan ağaç, defnegiller (Lauraceae) familyasına ait olup Çin, Vietnam ve Hindistan gibi ülkelerde yetişmektedir (Aslan ve Orhan, 2010). Cinnamonun familyasına ait ağaçların kabuk kısmından üretilen tarçının birçok çeşidi bulunmaktadır (Rafei ve Ververi, 2012). Çin tarçını (*Cortex Cinnamomicassie*) olduğu tahmin edilen tarçın kabuğu ile ilgili bilgilere Mezopotamya, Çin ve Latin kaynaklarında rastlanmaktadır. Hollandalıların Seylan'ı işgali ile burada tarçının yetiştirilmeye başlanıldığı da bilinmektedir (G.E. Trease, 1983). Tarçın aromatik ve koruyucu özellikleri nedeniyle eskiden beri kullanılan bir maddedir. Örneğin, eski mısırdaki tarçında mumyalama yağı ve kutsal bir adak olarak kullanılmıştır (Swerdlow, 2007). Ülkemizin iklim koşulları ise tarçının yetişmesine uygun değildir (Anabritanicca, 1990). Avrupa Bilimsel Fitoterapi Birliği, tarçının; *Cinnamomum Zeylanicum* (seylan tarçını) ve *Cinnamomum Cassie* (Çin tarçını) olmak üzere onaylanmış iki türünün olduğunu bildirmektedir (European Scientific, 2003). Türkiyede kullanılan formu ise *Cinnamomum Zeylanicum* bitkisinin gövdesinin kurutulmuş kabuklarıdır. Uçucu bir yağ olan sinnamik aldehit ise her iki tarçın türünün de başlıca bileşenidir. Tarçının bilimsel adı olan cinnamon Malezya yerel dilinde tatlı odun anlamına gelen 'koyu manis' sözcüğünden gelmektedir. Çin odunu anlamına gelen 'dal chini' kavramı Hindistanda yaygın olarak kullanılmakta olup dilimize de buradan geçmiştir ve günlük kullanımda 'dal chini' tarçın adını almıştır (Anabritanicca, 1990; Atlas, 2009). Tarçın ağacının gövdesi ezilip deniz suyunda ıslatılıp damıtılmasından sonra %4 oranında yağ içeren tarçın elde edilmiş olur (Atlas, 2009).



Şekil 1.1. *Cinnamomi Zeylanicum* çiçeği (Koehler's MedicinalPlants, 1887)

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Cinnamomi Cassia* (Çin Tarçını)

Çin tarçını, cassia ağacının genç sürgünlerinin kabuklarından kurutularak elde edilir. Bu kabuklardan su buharı distilasyonu ile uçucu yağlar oluşturulur ve bu yağa Oleum Cinnamomi cassiae adı verilir. Kendine özgü tarçın kokusu olan uçucu yağ hava ile temas halinde koyulaşır ve rengi kırmızımsı bir hal alır (Tanker ve Tanker, 1990). Uçucu yağın ana bileşeni olan sinamaldehitin; antibakteriyel özellikte olduğu ve deneysel çalışmalarda tip I ve tip II alerjik reaksiyonları önleyebileceği saptanmıştır. Ayrıca, mide-bağırsak hareketlerini hızlandırdığı ve yapısındaki tanen bileşeninin ülseri engelleyebildiği gözlenmiştir (PDR For Herbal Medicines, 2000).

2.2. *Cinnamomi Zeylanicum* (Seylan Tarçını)

Seylan tarçını, zeylanicum genç ağaç dallarının soyulmuş kabuklarıdır. Bu kabuklar bir iki günlük fermantasyon sonunda 24 saat hafif ısıda kurutulur. Seylan tarçının, tarçın lezzetinde ve kokusunda önce şekerli sonra yakıcı bir tadı vardır (Tanker ve Tanker, 1990).



Şekil 2.1. *Cinnamomi Cassia* (Çin tarçını) ve *Cinnamomi zeylanicum* (Seylan tarçını)
(seylantarcini.com)

2.3. Tıp Tarihinde *Cinnamomi* Kullanımı

Bütün tarçın türlerinin ısıtıcı ve teskin edici etkisi olduğunu söyleyen Dioscorides, tarçın yağının güneş yanığına karşı etkili olduğunu belirtmiştir. Ayrıca, tarçının hayvan zehirlenmelerine karşı etkili olduğu ve diüretik özelliğinin bulunduğu bahsetmiş, öksürüğün tedavisi için de tarçını kullanmıştır (Gunther, 1959).

Ibn-i Sina, tarçını el-Kanun fi'tıbb adlı kitabında bütün hastalıklara olumlu etki yapan ilaçlar arasında göstermiştir. Bu eserinde tarçının ısıtıcı ve düzenleyici olduğunu

ve bütün kötü etkileri çekip iyileştirdiği ifade edilmektedir. Ayrıca, tarçının abortus etkisi vardır ve titreme nöbeti tedavisinde tarçının yağı kullanılır (Kâhya, 1995). Şerafeddin Sabuncuoğlu'nun Mürreb-name adlı eserinde ise tarçının; zihin açıcı olarak ve nezleye, öksürüğe ve ishal için tedavi amaçlı kullanıldığı açıklanmıştır (Özkök, 1992).

2.4. Cinnamomi Cortex Oleum'un (Tarçın Kabuğu Yağı) Bileşeni

İçerisinde bulunan fenolik bileşiklerinden dolayı tarçın doğal bir antioksidan kapasiteye sahiptir. Polifenoller vücuttaki oksidasyon sürecini inhibe etme ve çeşitli nedenlerle oluşmuş serbest radikalleri yok etme açısından önemlidir (Desai KGH ve Park HJ, 2005; Jafari SM, vd., 2008). Tarçının suda çözünen bileşenlerinden olan prosiyadin tip A polimerlerinin diyabet ve glikoz intoleransının kontrolünde faydalı olabileceği düşünülmektedir (Andorson, vd., 2004). Tarçın bitkisinin etken maddeleri; sinnamaldehit, metilamilketon, nonilaldehit, benzaldehit, hidrosinamaldehit, küminaldehit, öjenol, karyofilen, feladren, p-simen ve pinendir. (Keskin, 1982; Aggarwal, vd., 2002).



Şekil 2.2. Cinnamomi Kortex (br.toluna.com)

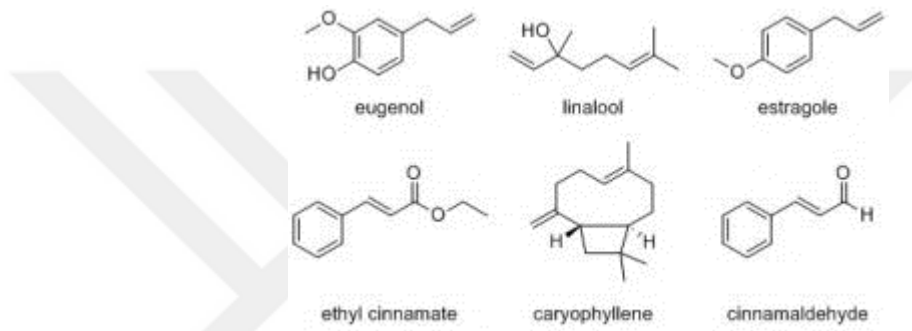
2.5. Cinnamomi'nin Moleküler Etki Mekanizması

Tarçının suda çözünen bileşenlerinin (prosiyadin tip A polimerleri) insülin sinyal yolunun etkinliğini geliştirmesi en önemli etki mekanizmasıdır.

Birinci etki mekanizması; suda çözünen tarçın polifenolleri otofosforilasyonu artırır ve tirozin fosfataz aktivitesini azaltır. Bu etki sonucunda insülin duyarlılığı artar (Imparl-Radosevich, 1998). Aynı zamanda insülin reseptör (IR)- β , IR subrat-1 (IRS1)

ve GLUT4 sayısı artarak hücre içine glukoz alımı artmış olur (Polansky, 2007; Qin, 2003). Tarçın polifenollerini glikojen sentez aktivitesini etkileyerek glikojen depolanmasını artırır (Broadhurst, vd., 2000).

İkinci etki mekanizması; tarçının transkripsiyon faktörleri ve insülin direncini düzenleyen peroksizom aktive-proliferatör reseptörlerini (PPARs) indüklemesi ile olur. Tarçın, tip 2 diyabetes mellitus (DM) ve insülin direnci tedavisinde kullanılan thiazolinedinlerle benzer etki gösterir (Mayerson, 2002; Miyazaki, 2001). Bu mekanizmalar sayesinde, glukoz transportu ve kullanımı daha etkili bir şekilde gerçekleşir (Hlebowicz, vd., 2007).



Şekil 2.3. Cinnamomi'nin (Tarçın) Kimyasal Bileşenleri (supplementansiklopedisi.com)

2.6. Diabetes Mellitusun Tanımı ve Tarihçesi

Milattan 150 yıl önce 'diabetes' adını ilk defa kullanan Areteustur (Yılmaz, 1997; Hatemi, 1996). Diabetes Eski Yunanca'da 'sifon' anlamına gelir ve aşırı idrar yapımını anlatır. Mellitus ise Yunanca'da 'mel' kelimesinden türetilmiştir (Sodeman, 1992). Pankreastaki adacık hücrelerini ilk olarak Paul Langerhans tanımlamıştır. Oskar Minkowski yaptığı deneyler ile Diabetes Mellitus'da ilgili dokunun pankreas olduğunu belirtmiştir (Watkins, vd., 1996; Tanyeri, 1996).

Diyabet; insülin hormonunun yetersizliği veya insülin etkisine dokularda direnç olması sonucu kandaki şeker miktarının yükselmesi ile ortaya çıkan bir hastalıktır. Sağlıklı bireylerde pankreastan salgılanan insülin hormonu besinlerin parçalanması ile elde edilen glukoza kana taşır. Diyabette insülinin etkisiz veya eksik olması sonucu glukoz hücre içine giremez ve kandaki glukoz miktarı yükselir. Kan şekeri belirli bir düzeyi geçince idrarla şeker atılmaya başlar böylece sık idrara çıkma, aşırı susama ve çok su içme görülür. Hücreler insülin eksikliği veya yetersizliğine bağlı olarak glukoza kullanamaz gerekli olan enerji yağlar ve proteinlerden sağlanır ve sonuç olarak idrarda keton oluşur.

Diyabette en büyük sorun kan şeker seviyesinin 5-10 kat artmasıdır. İnsülinin eksikliğinde trigliseritler yağ asitlerine yıkılırlar. Yüksek oranda enerji içeren yağ asitleri büyük miktarlarda bulunduklarında karaciğerde beta-keto asitleri oluştururlar ve kanın asitliği artar ve birey komaya girebilir. Ayrıca doku proteinlerinin yıkılması da şekillenebilir. İnsülin enjekte edilmesi ile glukoz dokular tarafından kandan alınır ve yağ yıkımı azalır ve buna ek olarak protein sentezi gerçekleşir. Düzenli insülin tedavisi; göz ve böbrek problemleri, sinirlerin hasarı ve damarlarla ilgili problemler gibi uzun süreli sağlık sorunlarının oluşmasını da engeller (White, 2008).

2.7. Klinik Sınıflandırma

2.7.1. Tip 1 Diyabet

Endojen insülin salgılama kapasitesinin büyük bir kısmının veya tamamının ortadan kalkması sonucu ortaya çıkan Tip 1 diyabet metabolizma hastalığıdır. Hücrelerde otoimmün yıkım sonucu pankreatik β hücrelerinin hasarına bağlı olarak, kan glukoz konsantrasyonunun artması ile karakterizedir (Bothwell ve Charlton, 1982). Tip 1 diyabetin en önemli nedeni pankreas beta hücrelerinin tahrip olması ve insülin eksikliğidir. Hayat boyu eksojen insülin tedavisine gerek duyulur. Tüm diyabetik hastaların yaklaşık %10-15'i Tip 1 diyabetiktir (Tanyeri, 1996).

2.7.2. Tip 2 Diyabet

Tip 2 diyabette, beta hücre fonksiyon bozukluğu ve hepatik glikoz üretimi artışı gibi metabolik bozukluklar patogeneizde etkilidir. Primer defekt olarak insülin direnci veya insülin eksikliği ön plandadır (Yenigün, 2001; Foster, 1998). Ayrıca yaş, etnik farklılıklar, obezite ve diyabetin heterojenitesinin kısmen de olsa belirleyici olduğu ileri sürülmektedir (Groop, 1993). Hem insülin direnci hem de bozulmuş insülin sekresyonu Tip 2 diyabetin patogenezinde genetik olarak kontrol edilebilen faktörlerdir (De Fronzo, et al., 1997).

2.7.3. Tip 2 DM ve Cinnamomi

Kompleks metabolik bir hastalık olan Tip 2 DM'nin insülin sinyal yolundaki hasardan kaynaklandığı bilinmektedir (ChoiK ve Kim, 2010). İnsülin direnci oluşan bu hasar sonucu dokular tarafından glukoz kullanılamamakta ve kandaki glukoz seviyesi yükselmektedir (Lois ve Kumar, 2009). Tarçının antidiyabetik etkisi 20 yılı aşkın süredir incelenmektedir. Yapılan son çalışmalarda, DM'de tarçının etkisini suda çözünen prosiyadin tip A polimerleri sağlamaktadır (Anderson, vd., 2004). Diyabetik

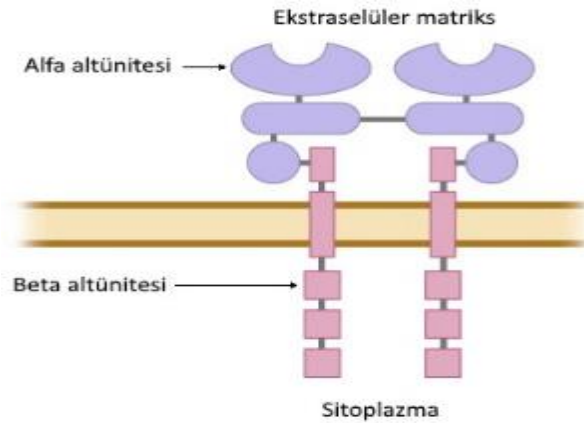
farelerde yapılan bir çalışmada, tarçının HDL kolesterol seviyelerini yükselttiği ve kan glikozunu, toplam kolesterolü ve trigliserit seviyelerini ise düşürdüğü gösterilmiştir (Kim, vd., 2000).

2.8. İnsülin

Pankreasta beta hücrelerinde sentezlenen insülin salınmadan önce hücre granüllerinde depolanır. Kan glikoz düzeyindeki artış ile insülin salınımı başlar. Aktif insülin sentezinin başlaması sekretuar uyarının devam etmesi ile gerçekleşir. İnsülinin başlıca görevleri arasında glikoz ve aminoasitlerin transmembran taşınımı, karaciğer ve iskelet kaslarında glikojen oluşumu, glikozun trigliseritlere dönüşümü, nükleik asit sentezi ve protein sentezi vardır. Ayrıca kalp kası, fibroblast, yağ hücreleri ve çizgili kas hücreleri içerisine GLUT4 üzerinden glikoz transportunu sağlamak ve transport hızını arttırdığı bilinmektedir (Kumar, vd., 2003; David ve Shoback, 2009).

2.8.1. İnsülin Reseptörü

İnsülinin etkisi hedef hücre membranının yüzeyindeki reseptöre bağlanması ile başlar ve biyolojik bir yanıt oluşur. İnsülin reseptörü iki protein alt ünite içeren membran glikoproteinidir ve tek bir gen tarafından kodlanan “Büyüme Faktörü Reseptör Ailesi” üyesidir. İçerdiği bu alt ünite alfa ve beta adındadır. İnsülin molekülünü bağlayan alfa alt ünitesi 135000 kda büyüklüğünde olup beta alt ünitesine (95000 kda) göre büyüktür ve tamamıyla hücre dışı yerleşimlidir. Alfa ve beta alt üniteleri ise disülfit bağı ile bağlıdırlar. Beta alt ünite hücre membranını boydan boy geçerek sitolazmaya kadar ulaşır ve özelleşmiş sinyal yollarını başlatan tirozin kinaz aktivitesine sahiptir (David ve Shoback, 2009).

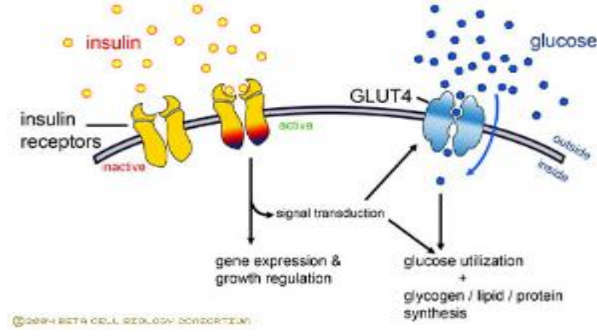


Şekil 2.4. İnsülin Reseptörü (The Genetic Landscape of Diabetes)

2.8.2. İnsülin Direnci

Tip 2 diyabetik bireylerde görülen insülin direnci; dolaşımda normal yoğunluktaki insüline karşı azalmış cevap olarak tanımlanır (Flier, 1992). Patofizyolojik olarak tam aydınlatılamamış olan insülin direncinin sebebinin genellikle insülinin aktivite kusuru olduğu düşünülmektedir (American, 1998). İnsülin reseptörü ile ilişkili genlerin çeşitli mutasyonları tanımlanmıştır. Glikojen sentaz ve Glut 4 gibi genlerde meydana gelen mutasyonlar da insülin direnci ve tip 2 diyabet ile ilgili bulunmuştur (Almind, vd., 2001). İnsülin direnci gebelik ve puberte gibi süreçlerde adaptasyon ve homeostazisi sürdürmek amacıyla fizyolojik olarak şekillenebilir (Gürlek, 2001). Ayrıca, insülin direncinin obez olmayan ve glikoz toleransı normal olan bireylerde de görülebileceği bildirilmiştir (Hollenbeck ve Reaven, 1987).

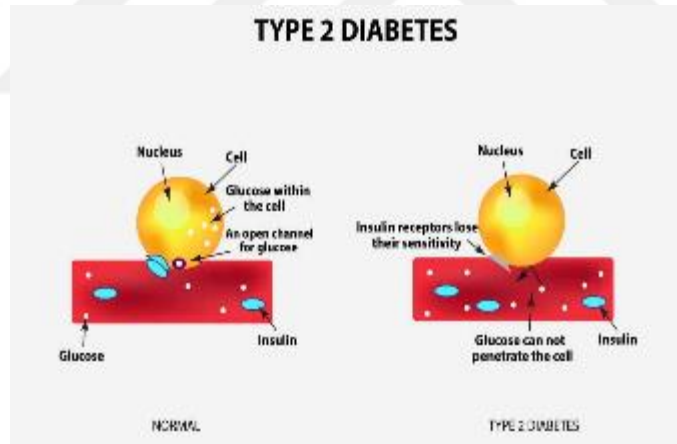
İnsülin direncinin çoğunlukla hücre içi post reseptör sinyal yollarının aktivasyonundan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu şekilde gelişen insülin direnci, sinyal aktarım bozuklukları ve GLUT 4 mutasyonları gibi nedenlerle oluşmaktadır. Sonuç olarak insülin hormonu reseptöre bağlanmasına rağmen etkili olamamaktadır. Kilo alımı insülin direncini artırırken kilo verilmesi bu direnci azaltır. Obezitede görülen serbest yağ asitlerinin artışının, insülin direnci gelişiminde etkisi olduğu bilinmektedir (Solymoss, vd., 2003). Transgenik sıçan modelleri ile insülin direnci ve diyabet patofizyolojisinde hücrel sinyal proteinlerin rolünü araştırılmıştır (Mauvaris-Jarvis, vd., 2002). Heterozigot hayvanların çoğu ise klinik olarak normal bulunmasına rağmen transgenik insülin üretimi sorunlu olan fareler doğumdan çok kısa bir süre sonra ketosidoza girerek ölmüşlerdir. Şiddetli insülin direnci ile seyreden genetik sendromlu hastalarda gözlemlerde belirtilen sonuçların, hayvan deneyleri ile paralellik gösterdiği görülmüştür (Accili, vd., 1996; Joshi, vd., 1996). Heterozigot olarak insülin reseptör geni kusuru bulunanlar, klinik olarak semptom göstermezler veya sadece hafif bir glikoz intoleransı gösterirler (Brüning, vd., 1997).



Şekil 2.5. İnsülin Direnci (WordPress.com)

2.8.3. İnsülin Direnci ve Tip 2 Diyabet

Glikoz tarafından uyarılan pankreas beta-hücrelerinin insülin sekresyonu sürecinde biri hızlı, diğeri yavaş ve sürekli insülin salgısı fazı vardır. İnsülin sekresyonunda birinci fazın yokluğu Tip 2 diyabetin gelişmesinde beta hücre fonksiyon bozukluğunun ilk belirtileridir ve genellikle klinik belirtiler ortaya çıkmadan tespit edilebilir (Martin, vd., 1992).



Şekil 2.6. Tip 2 DM ve insülin direnci (intolife.in)

2.9. Tarçının Kan Şekeri Üzerine Etkisi

Tarçının yapısında bulunan metil hidroksi kalkon polimeri (MHKP) ile bağlantılı olarak kan glikoz düzeyini azalttığı saptanmıştır. Bu maddenin insüline benzeyen etkiler gösterdiği bilinmektedir. Ayrıca, MHKP'nin anti-bakteriyel, anti-fungal ve kolesterol miktarını düşürücü etkileri bulunmaktadır (Khan, vd., 2003; Lopez, vd., 2005).

Tarçın polifenollerinin insülin benzeri etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Imparl-Radosevich, vd., 1998; Sangal, 2011). Tarçının insülinin etkisini güçlendirmeye sebep olduğu ve insülin direncini azalttığı ifade edilmektedir (Khan vd., 1990). Tarçının yapısında bulunan etken maddelerin insülin reseptörlerinin uyarılmalarını arttırarak etki gösterdiği düşünülmektedir (Anderson, vd., 2004; Imparl-Radosevich, vd., 1998; Jarvill-Taylor, vd., 2001; Onderoğlu vd., 1999). Yapılan çalışmalarda, tarçının insülin direncini ayarladığı ve tirozin fosforilasyonunu arttırıp fosfataza bağlı insülin reseptör inaktivasyonunu azaltarak insülin sinyalizasyonunu düzelttiği saptanmıştır (Yeşilada, 2012).

Yapılan çalışmalarda, tarçının açlık kan şekerini %18-30 oranlarında düşürebileceğinin görülmesiyle kullanımına olan ilgi artmıştır. Tip 2 diyabetli hastalar ile yapılmış plasebo kontrollü bir çalışmada, diyabetli bireylere 40 gün boyunca 1, 3 veya 6 gr tarçın tozu verilmiş, daha sonra 20 gün boyunca bireyler arınma dönemine alınmıştır. Analizler sonucunda 1, 3 veya 6 gr tarçın ile tedavi edilen diyabetik bireylerin ortalama açlık serum glikoz düzeylerinin %18-29 oranında düştüğü fakat plasebo grubunda bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir (Khan, vd., 2003).

Tarçının anti-diyabetik etkisi araştırıldığı çalışmada tarçın ekstraktları farklı dozlarda (50, 100, 150 ve 200 mg/kg) 6 hafta boyunca farelere ağızdan verilmiştir. Kan glikozunun 200 mg/kg tarçın alan grupta kontrol grubuna göre belirgin bir şekilde düştüğü görülmüştür (Kim, vd., 2005).

Tarçının glikolize hemoglobin (HbA1c) düzeylerini azalttığı belirten (Güleşçi, 2006) ve açlık kan glikoz seviyelerinde azalma sağladığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Mange, vd., 2006). Ayrıca yapılan diğer çalışmalarda günde 6 gr tarçın tüketilmesi ile tokluk kan glikozunun azaldığı saptanmış (Hlebowicz, vd., 2007) ve tarçının açlık kan şekeri ve glikolize hemoglobin (HbA1c) üzerine ve dolayısıyla tip 2 diyabette olumlu etkiler oluşturduğu gösterilmiştir (Khadem, vd., 2010). Kan şekerinin yanı sıra, tip II diyabetik hastaların günde 1, 3 veya 6 g tarçın ihtiva edecek şekilde beslenmelerinin trigliserit ile total kolesterolün düşmesini sağladığı da ifade edilmiştir (Khan, 2003).

Tarçın ile yapılan çok sayıda çalışmanın istatistiksel değerlendirilmesi yapıldığında elde edilen bulgular ışığında, kullanılacak tarçın tipinin belirlenmesi, kullanılan miktarı ve süresinin önemine vurgu yapılmıştır. Olumlu sonuç gözlenen

Çalışmaların tümü Çin tarçını ile ilgilidir. Kullanılan miktar ve sürenin önemli olduğu, asgari etki için günde en az 1-2 gram Çin tarçınının 1-2 ay kullanılması gerekliliği belirtilmektedir. Tarçının kan şekeri normal olan kişilerde kan şekeri üzerinde herhangi bir etkisinin görülmediği, sadece tip 2 diyabetikler ve prediyabetiklerde etkili olduğu saptanmıştır (Paul, vd., 2011).

Yüksek miktarlarda Çin tarçını kullanılması ile içinde bulunan kumarinlerin nasıl bir yan etki yaratabileceği konusunda endişeler bulunmaktadır (Yeşilada, 2012). Her bitkisel ilaçta olduğu gibi tarçının da uygun saklama koşullarında saklanması, kontamine olmamasına dikkat edilmelidir (Gürson ve Özçelikay, 2005).

Tarçın kumarin içermesinden dolayı antikoagölan ve antiplatelet ilaçlarla etkileşebilir (Aslan ve Orhan, 2010). Ayrıca gebelik, emzirme döneminde ve küçük çocuklarda kullanılmasına dikkat edilmelidir (Stuart, 2005; Skidmore Roth, 2003). Yapılan çalışmalarda tarçın kullanımının genel olarak hiçbir yan etkisi olmadığı ifade edilmektedir (Zahmatkesh, vd., 2010; Naas ve Moher, 2009; Campbell, vd., 2008; Dugoua, vd., 2007). Özellikle diyabet ilacı kullanan hastalarda tarçının dozu mutlaka doktorun tavsiyesiyle yapılmalıdır (Stuart, 2005).

2.10. Böbrek Histolojisi

Böbreklerin başlıca görevi idrar ile zararlı metabolizma ürünlerini kandan uzaklaştırmak, organizmanın su ve elektrolit metabolizmasını ve kanın pH dengesini ayarlamaktır (Erkoak, 1973). Ayrıca böbrekler kan basıncında etkisi olan renin ve eritrosit yapımını uyaran eritropoetin hormonlarını salgırlar. (Güven, 2002).

Böbrekler kollagen iplikler ve çok az düz kastan oluşan bağ dokudan bir kapsöl ile sarılırlar (Eurell ve Frappier, 2006). Kapsöl hilus denilen böbreğin içbükey kısmından organın içine giren kapsöl ve intersitisyumu oluşturur (Tanyolaç, 1999). Parenşim ünitelerinin böbrek dokusundaki yayılışı korteks ve medulla olmak üzere iki bölge ayırt edilmesini sağlar (Samuelson, 2007). Parenşimini oluşturan yapılar, idrarı şekillendiren en küçük yapılar olan nefron ve nefronlarda üretilen idrarı alarak, böbrek pelvisine götüren toplayıcı borucuklardır (Fawcett ve Jensh, 2002; Gartner ve Hiatt, 2007). Böbreklerin temel fonksiyonel ünitesi olan nefron yüzbinlerce mikroskopik filtre sistemlerinden oluşur (Colville ve Bassert, 2002). Nefron; korpuskulum renis, tubulus proksimalis, Henle kulpu, tubulus distalis ve tubulus konnektivustan, toplayıcı

borucuklar ise tubulus kollektivus ve duktus papillaristen oluşur (Young ve Heath, 2000; Ross ve Pawlina, 2006).

Kortekste yer alan korpuskulum renis, glomerulus ve Bowman kapsülünden ibarettir (Eurell ve Frappier, 2006). Aorta abdominalisden dallanan renal arter, küçük kılcal damarlara dönüşerek afferent arteriyollerini oluşturur. Bu kılcal damarlar yumak oluşturarak glomerulusu şekillendirir (Colville ve Bassert, 2002). Glomerulusu oluşturan aferent ve eferent arteriyollerin bulunduğu kısma damar kutbu, onun tam karşısında glomerular kapsülün tubulus proksimalise açılan kısmına ise idrar kutbu denir (Samuelson, 2007). Bowman kapsülü içinde viseral yaprak adı verilen katman glomerulusu oluşturan kılcal yumağa sıkıca yapışmıştır (Fawcett, 1994). Bowman kapsülünün dış yaprağı dış tarafta ince bazal bir lamina üzerine yeleşir. Kılcalların dış yüzünü kesintisiz saran Bowman kapsülünün iç (visseral) yaprağını oluşturan hücreler yassı ve ayakçıklıdır. (Güven, 2002). Viseral yaprak glomerular kapillardan plazmanın filtrasyonuna katılan ve podosit denilen epitelyal hücrelerden oluşur (Telser, vd., 2007). Pariyetal katman ise dışıdır. İki yaprak arasında süzülen sıvının bulunduğu kısma Bowman aralığı denir (Fawcett, 1994; Colville ve Bassert, 2002).

Nefronun en uzun parçası olan proksimal tubul glomerulusun idrar kutbundan başlar. İlk çıkan kısmı kıvrımlı olan bu yapı, kortikal labirinte doğru uzanır ve düz bir şekil aldığı medullar radyuslara girer (Eurell ve Frappier, 2006). Lümenini apikal yüzleri fırçamsı kenar görünümünde mikrovilluslara sahip olan epitel hücreleri döşer (Frandsen ve Spurgeon, 1992). Bowman aralığına geçen ultrafiltratın önemli miktarının geri emildiği bölümdür (Samuelson, 2007).

Tubulus proksimalisin devamı olarak başlayan Henle kulpu inen ve çıkan olarak iki kol halinde medullada bulunur. Primer idrarın sekonder idrara dönüşmesinde yoğunlaştırıcı bölüm olarak görev yapar (Tanyolaç, 1999). İnen Henlenin lümeninde yassı ve çekirdekleri lümeneye doğru şişkinlik yapan hücreler bulunur (Eurell ve Frappier, 2006). Çıkan Henle inen Henleden daha geniş çaplıdır ve lümenini döşeyen kübik epitel hücrelerinin sınırları belirgin değildir (Tanyolaç, 1999).

Kortekste bulunan tubulus distalisi oluşturan hücrelerin sitoplazmaları soluk boyanır ve sınırları belirgin değildir (Tanyolaç, 1999). Tubulus distalis, iyon değişiminin gerçekleştiği yerdir. Hidrojen ve amonyum iyonları tubullerdeki idrara salınarak asit-baz dengesi sağlanmış olur (Janqueira ve Carneiro, 2005). Geniş bir

lümene sahip olan tubulus distalisin aferent arteriyol ile temas ettiği bölüm makula densadır (Telser, vd., 2007). Damar kutbundan gelen arteriol ile ilişki kurar. Arteriol'e yakınlaşan bu kısım özelleşmiş bir grup hücre içerir (Güven, 2002). Bu bölge idrardaki sodyumklorür içeriğini ayarlamakla görevlidir. Makula densanın lümenini döşeyen hücrelerin boyları uzar ve sitoplazmaları daha yoğun boyanır (Telser, vd., 2007).

Korteks medulla sınırında bulunan tubulus konektivus lumenini sınırları belirgin soluk boyanan kübik hücreler döşer (Eurell ve Frappier, 2006). Tubulus kolektivuslar toplayıcı borucukların ilk bölümü olan medullar radyuslardan başlar. Duvarını başlangıç bölümünde basık pirizmatik epitel hücreler döşerken, pelvis renalise doğru epitel hücreleri yüksek pirizmatik şekile dönüşür. Tubulus kolektivusların birleşmesiyle oluşan duktus papillarisin duvarını tek katlı ve yüksek pirizmatik hücreler şekillendirir (Tanyolaç, 1999).

2.11. Mast Hücreleri

2.11.1. Mast Hücreleri ile İlgili Genel Bilgiler

1863 yılında Von Recklinghausen kurbağa mezenterinde damarlara yakın yerleşimli granüllü hücreler tanımlamıştır. Paul Ehrlich bu hücreleri mast hücreleri (MH) olarak adlandırmıştır (Bloom, 1984). Bağ dokusunun yağ hücrelerinden sonra en iri hücreleri olan MH ler yaklaşık olarak 20-30 µ çapında yuvarlak veya oval şekildedir. İntrasitoplazmik granüller tarafından desteklenen nükleusları merkezi konumdadır. Sitoplazmalarında 0.3-2.0 µ çapında çok sayıda salgı granülleri bulunur (Eurell ve Frappier 2006; Junquera ve Carneiro, 2003; Sağlam, vd., 2008). MH ler bağ dokusunda özellikle mukozal yüzeylerde kan ve lenf damarları ile periferik sinire yakın yerleşimli olarak yer alırlar (Norrby, 2002)

Kemik iliği öncü hücrelerinden köken alan mast hücreleri, granülsüz olarak kan dolaşımına ve oradan da bağ dokusuna geçip farklılaşarak karakteristik granüllü hücrelere dönüşürler (Wernersson ve Pejler, 2014). MH ler sindirim, deri ve solunum sistemi gibi vücudun dış ortamla ilişkide bulunduğu yabancı maddelerin vücuda girebileceği yerlerde daha fazla bulunurlar (Krystel-Whittemore, vd., 2016). Yabancı madde girişine karşı savunma mekanizmasında yer alan ilk hücre grupları arasında bulunurlar (Wernersson ve Pejler, 2014). Ayrıca MH lerin üriner ve genital sistemde kan damarlarının ve periferik sinirlerin çevrelerindeki bağdokusunda yerleştiği bilinmektedir (Galli, 1993).

MH granüllerinde başlıca etkin maddeler önceden sentezlenip depolanan (primer mediyatörler) ve uyarımdan sonra sentezlenen maddeler (sekonder mediyatörler) olmak üzere iki grupta yer alırlar (Arda, vd., 1998; Gartner ve Hiatt, 2007).

Mast hücreleri, güneş ışığı gibi fiziksel faktörler, sitokinler gibi immünolojik faktörler ve nöropeptitler gibi nörojenik faktörler tarafından uyarıldıklarında granül içeriklerini boşaltarak aktive edilebilirler (Eurell ve Frappier, 2006).

Mast hücrelerini alt gruba ayıran unsurlar ise; kökenleri, sahip oldukları morfoloji, histokimyasal farklılıkları, mediyatörleri, salgılatıcı ajanlara verdikleri yanıtlar, yapılarında bulunan proteoglikanların yapı ve içeriğidir (Lin ve Befus, 2002). Mast hücreleri bu özellikler sebebiyle mukozal mast hücreleri (MMC) ve bağdoku mast hücreleri(CTMC) olmak üzere iki alt gruba ayrılır (Lin ve Befus, 2002; Enerback, 1996).

Asit karaktere sahip granüllere sahip olan MH ler bazik boyalarla rahatlıkla boyanırlar (Sağlam, vd., 2008). MH ler toluidin blue ile kendi renkleri olan maviye değil de mor-kırmızı rengine boyarlar (Bancroft ve Gamble, 2002). Hücrelerin boyandıkları renginden farklı bir renkte görülmesine de metakromazi denir (Sağlam, 2008). Ayrıca MH lerdeki histokimyasal heterojenitenin farklı fiksatifler kullanılarak ve farklı boyama metodları uygulanarak belirlenebileceği bildirilmiştir (Chen, vd., 1990:425-435; Chen, vd., 1990:425-436; Enerback, 1996).

Metakromazi, katyonik boyaların sülfatlı glikozaminoglikan, nükleik asitler ve bazı yüksek moleküllü lipidler gibi polianyonik moleküllerle birleştiği zaman, boyanın absorpsiyon spektrumunda şekillenen değişim olarak tanımlanabilir. Bu boyaların en tipik özelliği, renk tonlarının solusyonda bulunan boya miktarı ile ilişkili olmasıdır. Seyreltik solüsyonlar mavi renk verir iken boyanın konsantrasyonu arttıkça renk mordan kırmızıya doğru değişir. Boyanın metakromatik biçimi, ortokromatik (monomer) formun, dimer veya polimer forma dönüşmesiyle ilişkilidir. Monomerik form mavi, dimerik form mordur. Polimerik form ise kırmızıdır ve ancak yüksek boya konsantrasyonlarında gözlenir. Bu gözlemlere dayanarak histokimyada metakromazinin iki türü tanımlanmıştır. Bunlardan birincisi gama (kırmızı) metakromazidir. Daha çok dokudaki sülfat esterlerinden kaynaklanır ve alkole dirençli bir metakromazidir. İkinci tip olan beta (mor) metakromazi alkole daha az dirençlidir.

Mast hücreleri içerdikleri asit nitelikli glikozaminoglikanlardan dolayı gama metakromazi gösterirler. Mast hücreleri metakromazi gösteren boyaların yanı sıra Alcian blue (AB) gibi granül spesifik boyalarla da boyanabilir. Alcian blue metodu, tek başına kullanılabildiği gibi Safranin O (SO) ile kombine olarak da kullanılır. Bu boyamada, proteoglikan çeşidi ve proteaz içeriğine göre CTMC granülleri kırmızı, MMC granülleri ise mavi olmak üzere farklı şekilde boyanırlar (Bancroft ve Cook, 1984).

Normal böbrek dokusunda da bulunduğu bilinen MH lerin sayısının bazı böbrek hastalıklarında arttığı bildirilmiştir (Madjene, vd., 2015; Holdsworth SR ve Summers, 2008). Diyabetli hastalarda, çeşitli glomerulopatilerde, tubointerstitiyel fibrozis, renovasküler iskemi, reflü nefropati ve glomerulonefritis gibi bazı böbrek hastalıklarında mast hücrelerinin degranulasyon ve sayısının arttığı gösterilmiştir (Madjene, vd., 2015; Holdsworth ve Summers 2008). Sağlıklı böbrek dokusuna kıyasla hastalıklı böbrek dokusunda yapılan çalışmalarda mast hücre sayısında artış bildirilmiştir (Holdsworth ve Summers, 2008).

2.11.2. Mast Hücrelerinin Gelişimi

MH ler kökenini kemik iliğindeki pluripotent hücrelerden alırlar. Yaşamsal faaliyetlerinin sürdürülebilmesi için de yine kök hücre faktörüne ihtiyaç duyarlar. Aktivasyona geçmeleri hem FCERI dolaylı hem de FCERI dolaylı olmayan bir seri olay ile oluşur. Aktivasyonu gerçekleştiren MH ler erken alerjik reaksiyona ve kronik inflamasyona neden olabilir. Alerjik reaksiyona aktivasyona geçtikten hemen sonra granüllerindeki bazı mediatörleri açığa çıkarırlar. Çevresinde oluşan değişimlere adapte olabilen heterojen bir yapıya sahip olan MH ler vasküler permeabilityi artırarak tehlike altındaki dokuya plazma eksudatının girişini artırır. Mast hücreleri tehlike anındaki bölgeye lökositlerin nötrofil ve eozonofillerin toplanmasını ve hücrelerin damar duvarından hareketinin kolaylaşmasını sağlar.

MH lerin aktivitesini sitokin ve nöropeptidler direkt gerçekleştirebileceği gibi bu olayı IgE yolu ile de yapabilirler. Plazma hücreleri belli antijenlere maruz kaldığı zaman IgE sentezi yapar, oluşan bu antikor mast hücrelerindeki Fc reseptörlerine bağlanır. Aynı antijenin o bölgede tekrar ortaya çıkma olasılığına karşı granüllerle paketlenmiş ve IgE ile sarılmış olan mast hücresi epitelin alt kısımlarına göç eder. IgE molekülü aynı antijene maruz kaldığında mast hücrelerini aktive eder. IL-3, IL4, SCF

(Kök Hücre Faktörü) mast hücrelerinin proliferasyonunu ve farklılaşmasını uyaran bazı büyüme faktörleridir. Sinir, kan ve lenfatik damarların etrafında yoğun halde bulunan mast hücrelerinin göçünde ve tutunmasında laminin molekülünün rolü vardır (Metkalf, vd., 1997; Cross ve Mercer, 1998; Şenyüz ve Demirezen 2000; Jastrow, 2005).

MH lerin aktivasyonun sadece Ig'lerin aracılığı ile olmadığı da anlaşılmıştır. Çeşitli bakteriyel, fungal ve viral molekülleri tanıyan insan ve fare mast hücrelerindeki Toll-like reseptörlerinin (TLR) sitokin yapımını ve yangısal cevabı uyardığı bildirilmiştir (McJurdy, vd., 2001).

2.11.3. Mast Hücre Sınıflandırılması

Tanımı ilk kez 1879 yılında Ehrlich tarafından yapılan mast hücreleri bir çok çalışmaya konu olmuştur. Kemirici mast hücreleri formol duyarlı ve formol dirençli olarak gruplara ayrılmıştır. Daha sonra duyarlı ve dirençli formol'un bulunduğu yere göre tekrar sınıflandırılmıştır. Formal duyarlı olanların genelde mukozada dirençli olanların ise bağ dokuda var olduğu tespit edilmiştir. Bu tespite göre de mast hücreleri atipik-mukozal (MMC) ve tipik bağ dokusu mast hücreleri (CTMC) olarak adlandırılmışlardır (Bienenstock, vd., 1985; Pearce, vd., 1985; Gurish ve Austen 2001; Erpek, 2004; Karaca ve Yörük, 2005).

Ratlarda MMC ve CTMC karşılaştırıldığında MMC fonksiyonel, ultrastrüktüel ve histokimyasal açıdan belirgin farklılık gösterir (Irani, vd., 1986; McNeil ve Gotis-Graham, 2000).

İnsanlarda mast hücre granüllerinde heterojenite söz konusudur. MMC ve CTMC fonksiyonel ve fenotipik açıdan ratlardaki gibi belirgin farklılık göstermiştir. Heterojenite proteazların kinaz veya triptaz olmasına göredir. Bundan dolayı mast hücreleri triptazdan zengin MCt (Mast Cell Triptaz) ile kimaz ve triptaz proteaz türlerini granüllerinde taşıyan MCtc (Mast Cell triptaz/kimaz) olmak üzere alt sınıflara ayrılır (Irani, vd., 1986; McNeil ve Gotis-Graham, 2000).

2.11.4. Mast Hücre Mediatörleri

Mast hücresi mediyatörleri önceden sentezlenip depo edilen (primer mediatörler) ve uyarımdan sonra sentezlenen (sekonder mediatörler) olmak üzere iki ana grup içerisinde incelenirler (Arda, vd., 1998; Ross and Pawlina, 2006; Gartner ve Hiatt, 2007). Bunlardan başlıcaları ; Heparin histamin kondroitin sülfat, aril sülfataz, nötral proteazlar (Gartner ve Hiatt, 2007) , eozinofil kemotaktik faktör, nötrofil kemotaktik faktör (Ross ve Pawlina, 2006) ile fare ve sıçan gibi kemiricilerde serotoninidir (Arda, vd., 1998; Sağlam, vd., 2008). Bunlara ek olarak kalpte bulunan mast hücreleri de renin salgılar (Silver, vd., 2004; Le ve Coffman, 2006).

Medyatör	Biyolojik Etki
Histamin	Vazodilatasyon
Heparin, Heparin sülfat	Anjiogenez, koagülasyon
Kondroitin sülfat	Dokunun yeniden şekillenmesi
Triptaz	İnflamasyon, ağrı, doku hasarı, PAR aktivasyonu
Kimaz	İnflamasyon, ağrı, doku hasarı
Karboksipeptidaz	Enzim parçalanması
Katepsinler	Patojenlerin öldürülmesi, dokunun yeniden şekillenmesi
B-glukorinidaz	Ekstraselüler matriksin yeniden şekillenmesi
NO sentaz	NO üretimi
Endotelin	Sepsis
Lökotrienler	İnflamasyon, lökosit göçü, endotel adhezyonu, düz kas kontraksiyonu, vasküler geçirgenlik
Sitokinler	İnflamasyon, lökosit çoğalması ve aktivasyonu, immunregülasyon
Büyüme faktörleri	Farklı Hc tipleri için büyüme faktörleri
Antimikrobiyal ürünler	Patojenlerin öldürülmesi

Şekil 2.7. Mast hücre mediyatörleri ve biyolojik etkileri (Gri, vd., 2012)

2.11.4.1. Primer Mediatörler

2.11.4.1.1. Heparin

Antikoagülan fonksiyona sahip heparan sülfatlı proteoglikan olan heparin, mast hücreleri ve bazofil granülositlerin granüllerinde bulunur (Eurell ve Frappier, 2006; Sağlam, vd., 2008). Fibroblast büyüme faktörü ile etkileşime geçebilen heparin fibroblastlardaki reseptörlerine bağlanarak sinyal iletimine neden olur. Bunun

gerçekleştirmesinde platelet faktör ve antitrombin III birlikteliği etmelidir (Eurell ve Frappier, 2006; Ergün, 2011).

Heparin, lenf damarları ve kılcal arter etrafında toplanan mast hücrelerinden dolaşıma geçerek kanın pıhtılaşmasını önler ve buradaki sirkülasyonu kolaylaştırır. Bağ dokusunda madde ve sıvı transportunun gerçekleşmesi, dokuda bulunan şekilsiz temel maddenin koyulaşmadan kalabilmesi ve bazı hücrelerin bu dokularda hareketinin kolaylaşması heparinin antikoagülan özelliğinden kaynaklanır. Eklem kapsüllerinde, kalp, göğüs, karın ve eklem boşluklarını çevreleyen seröz zarlarda bulunan mast hücrelerinden salınan heparin bu boşluklarda eriyik halde bulunan proteinlerin koagüle olmalarını engelleyerek boşlukların ıslak ve kaygan kalabilmelerine yardımcı olur (Sağlam, vd., 2008).

2.11.4.1.2. Histamin

Biyolojik yarı ömrü 4 gün dolaylarında olan histamin, mast hücrelerinde histidin dekarboksilazın aracılığıyla ile sentezlenir. Histadin dekarboksilazın etkinliği düşük ve mast hücrelerindeki histaminin salıverilme hızı yavaş olduğu için biyolojik ömürleri kısadır. Hücre içi kalsiyum düzeyinin artması ve metabolik birtakım olaylar histaminin salıverilmesi üzerine etkilidir (Pirinçi, 2007). Kan damarlarında vazodilatasyona neden olan histamin damar geçirgenliği artışını sağlar (Janqueria ve Carneiro, 2005).

Başta bronşiyollerde bulunan düz kaslar olmak üzere gastrointestinal sistem, uterus ve idrar kesesindeki düz kasların kasılmasını sağlayan histamin, bronşlarda mukus üretimini artırır (Diker, 1998). Tükürük, gözyaşı ve mide asit salgısının uyarılmasını sağlar (Tizard, 1984).

2.11.4.1.3. Aril Sülfataz

Lökotrien C4'ü inaktif hale getirir ve böylece yangısal cevabı sınırlandırır (Gartner ve Hiatt, 2007).

2.11.4.1.4. Nöral Proteazlar

Bunlar triptaz, kimaz ve karboksipeptidazdır (Gartner ve Hiatt, 2007). Triptaz, Histamin ile birlikte salgılanır ve mast hücre aktivasyonunun belirleyicisi olarak görev yapar (Ross ve Pawlina, 2006). Tam kanıtlanmış olmasa da mast hücrelerinden

salgılanan triptazın, anjiyotensin 1'in anjiyotensin 2'ye dönüştürülmesinde ve fibrinojenin fonksiyonunu sınırlandırdığı düşünülmektedir (Gurish ve Austen, 2001).

2.11.4.1.5 Eozinofil Kemaotaktik Faktör

Mast hücre zarları üzerinde IgE antikorları ve antijenlerin birleşmesi sonucunda salgılanır (Arda, vd.,1998). Eozinofil granülositleri yangı bölgesine çeker (Gartner ve Hiatt, 2007; Ross ve Pawlina, 2006). Eozinofil granülositlerin salgısı, histamin ve lökotrienlerin etkilerini ortadan kaldırır (Ross ve Pawlina, 2006).

2.11.4.1.6 Nötrofil Kemotaktik Faktör

Nötrofil granülositleri yangı bölgesine çeker (Ross ve Pawlina, 2006).

2.11.4.1.7. Serotonin

Fare ve sıçan gibi kemiricilerde mast hücre granülleri vazoaaktif amin olan serotonin taşır. Serotonin, kapillar geçirgenliğinde artma, düz kaslarda kasılma ve kapillar daralmasında rol oynar (Arda, vd., 1998; Sağlam, vd., 2008). Ayrıca, anafilaksi olaylarında rol oynar, kalbi uyararak vazokonstruksiyona ve kan basıncının artmasına neden olur (Arda, vd., 1998).

2.11.4.1.8. Renin

Degranülasyon olayı mast hücrelerinde gerçekleştiğinde hızlı ve etkin bir şekilde renin salınır. Renin böbreklerdeki mekanizmaya benzer şekilde anjiotensinojeni anjiotensin 1'e dönüştürür. Mast hücrelerinden salgılanan kimaz ile birlikte anjiotensin dönüştürücü enzim, anjiotensin 1'i anjiotensin 2' ye dönüştürür. Böylece sempatik sinir uçları etkilenir, norepinefrin salgılanır ve kardiyak aritmi şekillenir (Lee ve Coffman, 2006).

2.11.4.2. Sekonder Mediatörler

Bu maddeler hücrenin granüllerinde depolanmazlar, mast hücresi aktive olduktan sonra sentezlenirler ve hemen ekstraselüler matrikse verilirler. Bunlar lökotrienler (C4, D4 ve E4), prostoglandin (PGD2) ve tromboksanlar (TXA2, TXB2) ile granüllerde bulunan enzim aktivitesiyle şekillenen bradikinin ve fosfolipaz A2 aktivitesi ile şekillenen platelet aktive edici faktörlerdir. Bunlara ek olarak büyüme faktörleri (tümör nekrozis faktör α [TNF- α]) ve interlökinler (IL-4, IL-5, IL-6 ve IL8) sekonder mediyatörler arasındadır (Gartner ve Hiatt, 2007).

2.11.4.2.1. Lökotrienler (C4, D4 ve E4)

Lökotrienlere anafleksinin yavaş etkiyen substansları (SRS-A) denir. Alveollerde permeabilitenin artması ve düz kas kontraksiyonları şekillendirirler (Arda M, vd., 1998). İmmun cevabı ve anjiogenezisi ayarlarlar (Marshall, 2004). Histamine benzer şekilde akciğer hava yolundaki düz kasların kasılmasını tetikleyerek bronkospazma neden olurlar (Ross ve Pawlina, 2006; Gartner ve Hiatt, 2007). Bu kasılma antihistamin tedavisi ile de giderilemez (Arda M, vd., 1998; Ross ve Pawlina, 2006). Vasküler permeabiliteyi artırır, histaminden yüzlerce kat daha fazla vazoaaktif etkiye sahiptirler (Gartner ve Hiatt, 2007).

2.11.4.2.2. Prostaglandin (PGD2)

Düz kasların kontraksiyonu ve damar permeabilitesi üzerinde etkisi vardır (Arda, vd., 1998). Bronkospazma ve bronşiyal mukozadaki mukus sekresyonunun artmasına neden olur (Gartner ve Hiatt, 2007).

2.11.4.2.3. Tromboksanlar (A2 ve B2)

Tromboksan A2 kan pulcuklarının bir araya toplanmasını sağlayan aynı zamanda vazokontraksiyona da neden olan mediyatördür. Hızlı bir şekilde inaktif formu olan tromboksan B2'ye dönüşür (Gartner ve Hiatt, 2007).

2.11.4.2.4. Bradikinin

Peptid yapısında olup, histamin benzeri bir maddedir. Düz kaslarda yavaş fakat uzun süren kasılmalar meydana getirir. Kapillar geçirgenliği ve mukoza salgı bezlerinde salgılama aktivitesinin artışına neden olur (Arda, vd., 1998). Acı duyusundan sorumludur (Gartner ve Hiatt, 2007).

2.11.4.2.5. Platelet Edici Faktör

Nötrofil ve eozinofilleri çekici etki yapar, vasküler permeabilitede artışa ve bronşiyal düz kasların kasılmasına neden olur (Gartner ve Hiatt, 2007). Kan pulcuklarının bir araya gelmesini ve içeriklerinin salıverilmesini sağlar. Eozinofillerde bulunan enzim fosfolipaz D ile inaktif hale gelir (Tizard, 1984).

2.11.4.2.6. Tümör Nekrozis Faktör α

Diğer sitokin ve kemokinlerin geç faz mediyatörü olarak öncülük ettiği, nötrofilleri aktive edip diğer efektör hücreleri topladığı ve kemokin sentezini artıran öncül mediyatörler olarak salındığı bildirilmektedir (Metcalf, vd., 2009).

2.11.4.2.7. Interkolinler (IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-8)

Mast hücre proliferasyonu, IgE üretimi, mukus sekresyonu (Abbas, vd., 2007), lökosit üretimi, proliferasyonu, aktivasyonunda (Molderings, 2010) ve yardımcı T lenfosit 2'lerin farklılaşmasında görevlidir (Prussin ve Metcalfe, 2006).

2.12. Toll-Like Reseptör

Toll-like reseptör (TLR) organizmaya giren istilacı patojenler ve yabancı maddeleri tanımak için özelleşmiş yapılardır. Doğuştan gelen bağışıklık sisteminin temel sensörleri ve düzenleyicileri olarak bilinmektedirler (Kawai ve Akira, 2010). Doğal bağışıklık sistemi patojenlere karşı organizmanın ilk savunma hattını oluşturur. Bu yanıt kalıtsal olarak aktarılan, patern tanıyan reseptörlerin (PRR) uyarılması ile şekillenir. PRR'ler hem patojenle ilişkili moleküler kalıpları (PAMP) hem de stres, doku hasarı ve nekrotik hücre ölümü gibi durumlarda organizma tarafından salgılanan maddeleri tanır ve immun reaksiyon gösterirler (Broz P ve Monack DM, 2013). PRR'ler protein bölgelerinin homolojisine göre TLR'lerin içinde bulunduğu beş farklı reseptör ailesinden oluşur (Kumar, vd., 2011). TLR'ler antifungal tepkilerde önemli bir rol oynayan *Drosophila* Toll proteininin memeli homologlarıdır (Medzhitov, vd., 1997). Toll genine olan benzerliğinden dolayı Toll adı verilen reseptör, ilk olarak 1951 yılında *Drosophila melanogaster* adlı meyve sineğinde keşfedilmiştir ve immun sistem cevabında önemli bir fonksiyona sahiptir (Karaca, vd., 2013). TLR'ler PAMP ları tanır ve doğuştan gelen bağışıklık sistemini tetikler. Bu korunmuş moleküler modeller, bileşenleri lipoteikoik asit, lipopeptitler/lipoproteinler, peptidoglikan bileşenleri ve zimosan içeren hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilerle ilişkilidir (Cario, 2008). TLR ler yabancı mikroorganizmalara karşı konak savunma mekanizmalarında yer alan kalıp tanıma reseptörleri grubudur. Bu reseptörler patojenleri tespit ederek ve çeşitli doğal ve adaptif bağışıklık tepkileri düzenleyerek çeşitli gen mekanizmalarını aktive ederek immun yanıtında önemli rol oynarlar (Karaca, vd., 2013). TLR'lerin PAMP ve hasarla ilişkili moleküler yapıları (DAMP) tanıyan proteinlerdir. Sinyal iletiminde görevli bir transmembran kısma sahip TLR'lerin moleküler ağırlıkları 90

ila 115 kDa arasında değişir (Beutler, vd., 2006). TLR'lerin ilgili spesifik ligandları tarafından uyarılması, transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonuna ve pro-inflamatuar moleküllerin salgılanmasına aracılık eden sinyalleri başlatır (Kawai ve Akira, 2010).

2.12.1. PAMP'ların Tlr ile Tanınması

Hücre yüzeyine ve hücre içi kompartımanlara yerleşen TLR' ler farelerde 12 insanlarda ise 10 şekilde tanımlanmıştır. Hücre yüzeyine lokalize olanlar; TLR1, 2, 4, 5, 6 ve 10; hücre içinde endozomlarda bulunanlar ise TLR3, 7, 8, 9, 11, 12 ve 13 dır. TLR lerin immün sistemde görev yapan makofaj ve dentrik hücrelerin yanı sıra immün sistem dışında görev yapan hücreler olan fibroblast ve epitel hücrelerinde de ekspresese edildiği bilinmektedir (Celhar, vd., 2012).

TLR'ler hücre yüzeyine lokalize olarak lipid, lipoprotein, protein gibi mikrobiyal membran bileşenlerini tanırlar. Örneğin TLR4 bakteriyel liposakkaritleri, TLR1 ile heterodimer oluşturan TLR2 lipoprotein, peptidoglikan mannan, zimozan, lipoteikoik asit gibi PAMP'ları tanıma özelliğine sahiptirler (Kawai ve Akira, 2010). TLR2 listeria kökenli ligandları tanıırken farelerde de stop kodon eksikliği sonucu oluşan pseudo genleri tanıır. TLR10 influenza A enfeksiyonlara karşı hassastır (Lee, vd., 2014).

Hücre içinde bulunan TLR'ler orijinleri bakteri ve virüs olan nükleik asitleri algırlarlar (Blasius ve Beutler, 2010). TLR3 zarar görmüş hücrelerden ortaya çıkan RNA'yı tanıır Ayrıca dentritik hücrelerde de bulunup Streptococcus B'nin RNA'sını algırlar. TLR8, bakteriyel ve viral RNA'ya karşı immün yanıtı başlatmaktadır (Shi, vd., 2011).

2.12.2. TLR'lerin Sentez mekanizması ve Hücre Döngüsü

TLR'lerin tümünün sentezi endoplazmik retikulumda olgunlaşması ise Golgi kompleksinde gerçekleşir. Sentezlenip olgunlaştıktan sonra TLR'ler endozom veya hücre yüzeyi gibi intraselüler kompartımanlara taşınırlar. Ligandları tanıma açısından büyük öneme sahip olan intraselüler TLR'ler bazı patolojik durumlarda self nükleik asitleri tanıyıp otoimmün hastalıklara yol açabilirler (Sasai, vd., 2010). PRAT4A endoplazmik retikulumda yer alan TLR'lerin görev yerlerine akışını sağlayan bir diğer proteindir. Endoplazmik retikulumdan hücre yüzeyine ya da endozomlara TLR lerin taşınmasını kontrol eder (Takahashi, vd., 2007).

2.12.3. TLR4

İlk olarak 1990'larda insanlarda tanımlanan TLR'ler, tip-1 transmembran/ zariçi almaç ailesinin üyeleri ve omurgalılar ve omurgasızlar arasında evrimsel olarak korunmuş proteinlerdir (Werling ve Jungi, 2003). TLR'ler, ligand tanımada yer alan hücre dışı lösine zengin tekrar (LRR) alanı ve hücre içi Toll/ interlökin-1 reseptör benzeri (TIR) alanı ile karakterize edilir, ikincisi yüksek oranda korunmuş bir protein-protein etkileşimi motif modülü ise sinyal iletimi için çok önemlidir (Kanzler, vd., 2007).

Çalışmalarda en çok araştırılan ve fonksiyonu aydınlatılan TLR4, lipopolisakkaritlerin (LPS) tanınmasında önemli rol oynarlar. TLR4'ün LPS reseptörü araştırmalarda saptanmış ve bu reseptörün fonksiyonel olarak hücre yüzeyinde; CD14 ve MD-2 bağlayıcı proteini içeren bir molekül kompleksini şekillendirdiği gözlenmiştir (Agnese, vd., 2002). Ayrıca konağa ait olan ve olmayan birçok molekül TLR4 ün saptayabildiği ortaya çıkarılmıştır (Underhill ve Ozinsky, 2002). Örneğin hem endojen hem de ekzojen kaynaklı ısı şok protein 60 (HSP60) ın TLR4 tarafından algılanması sonucu inflamatuvar sinyal yolağının şekillendiği belirtilmiştir (Werling ve Jungi, 2003).

TLR4, ekzojen proteinleri gibi endojen molekülleri de bağlar (Vabulas RM, vd., 2001). Fibronektin tip III ekstra bölge A ve doymuş yağ asitleri, potansiyel olarak insan ve fare TLR4'ü ve fare hem (demirli porfin) TLR4'ü tarafından tanınır. Yapısal olarak TLR4, hücre yüzeyinde ligand birleşme için gerekli olan birçok diğer proteinle bir kompleks oluşturur (Janssens and Beyaert, 2003). TLR4 indüklediği mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) yolu ile zararlı uyarılara karşı savunma yaparak immün ve inflamatuvar yanıtları başlatabilir (Meng, vd., 2017).

2.12.4. Tlr4 Sinyalizasyonu Yolakları

TLR4 ler reseptörlerine ligand bağlanması üzerine, sinyal iletiminde görevli bir transmembran kısımları olan hücre içi TIR alanları arasındaki etkileşimler yoluyla homodimerleşir, bu da molekülde konformasyonel değişikliğe neden olur. Bunu takip eden sinyal süreci, TIR alanları arasındaki homofilik etkileşimler yoluyla TIR alanı içeren adaptör moleküllerinin TLR4 öbeğinin sitoplazmik yüzüne alınmasından oluşur. İki farklı yolağa ait dört TIR alanı içeren adaptör molekülünün TLR4 sinyallemesine aracılık ettiği bilinmektedir. Bunlar miyeloid farklılaşma faktörü 88

(MyD88); MyD88-adaptör benzeri (Mal) protein; TIR alanı içeren adaptör molekül-1 (TICAM-1) olarak da adlandırılan interferon-B'yi (TRIE) indükleyen adaptör ve TIR içeren adaptör molekül-2 (TICAM-2) olarak da adlandırılan TRIF ile ilgili adaptör molekülü (TRAM) dır. TLR4, bu bağdaştırıcıların dördünün de kapsamlı bir bağışıklık tepkisine aracılık etmesini gerek duyar (Akira ve Takeda, 2004; Kawai ve Akira, 2010).

TLR4, en az iki ana yolakla hücre içi sinyalleşmeyi başlatır: (i) erken NF-KB aktivasyonunu ve IL-12 gibi ilgili inflamatuvar sitokin üretimini düzenleyen TIRAP-MYD88 yolağı; ve (ii) interferon düzenleyici faktör-3 (IRF3) transkripsiyon faktörünü aktive eden ve tip I interferonları (IFNS) ve yardımcı uyarıcı molekülleri kodlayan genlerin müteakip yukarı regülasyonunu etkileyen TRIF TRAM yolağı. Bu TRIF-bağımlı yolak ayrıca TNF-a üretimini ve salgılanmasını da aktive eder. Salgılanan TNF-a'nın daha sonra alıcılarına bağlanması, NF-KB aktivasyonuna yol açar. Bu nedenle, TRIF-TRAM yolu, IRF3, MD-2, CD14, TLR4, TM yoluyla geç faz NF-KB aktivasyonundan ve TNF-a salgılanmasından da sorumludur. MyD88 bağımsız sinyalleşme, LPS tepkisinin çoğunluğunu oluşturur. MyD88 bağımsız yolak, (CD40, CD80 ve CD86 gibi ortak uyarıcı molekülleri kodlayan genlerin ekspresyonunun sonucu olarak) dendritik hücre olgunlaşmasının indüklenmesi ve tip-1 interferon genlerinin ve IFN tarafından düzenlenmiş genlerin yükseltilmiş ekspresyonunu ile sonuçlanır (Fitzgerald, vd., 2004; Jungi, vd., 2011).

TLR4, endotoksin olarak da bilinen prototipik proinflamatuvar bakteriyel duvar bileşiği lipopolisakkarit (LPS) tarafından uyarılır (Lu, 2008). TLR4 LPS'yi özellikle tanır ve aktivasyonu geniş ölçüde proinflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin sentezine yol açar (Kanzler, vd., 2007). Hyaluronik asit, nikel ve toplu olarak hasarla ilişkili moleküler modeller (DAMP'ler) olarak adlandırılan yaralı hücrelerden salınan çeşitli endojen moleküller dahil olmak üzere TLR4'ü etkileşime sokan ve uyaran başka bileşikler olarak tespit edilmiştir (Mancek-Keber ve Jerala, 2015). Özellikle, kırmızı kan hücresi kaynaklı ürün olan heme, TLR4 sinyalleşmesinde yer almıştır ve çeşitli patofizyolojik koşullarda inflamatuvar yanıtları etkileyen bir DAMP olduğu öne sürülmüştür (Humayun, vd., 2020).

HMGB1, DNA bağlayıcı bir proteindir ve hücre çekirdeğinde bol miktarda bulunur (Harris, vd., 2012). HMGB1, TLR4'ün endojen bir agonistidir. Aktivasyon veya hücre ölümü sırasında HMGB1, çekirdekte sitoplazmaya veya hücre dışı

boşluğa yer değiştirir (Andersson ve Tracey, 2011). Hücre dışı HMGB1, gelişmiş glikosilasyon son ürünleri (RAGE), TLR2, TLR4, TLR5, CD24 ve diğer reseptörler için reseptör dahil olmak üzere çeşitli reseptörlere bağlanır ve bunları uyarır (Yang, vd., 2010). Nöropatik ağrının yanı sıra, artan HMGB1 diyabetik ve artrit kaynaklı ağrı gibi diğer kronik ağrı türleri ile de bağlantılıdır. Diyabetik ağrı modelinde, HMGB1 önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Ren, vd., 2012). HMGB1, çeşitli reseptörlerle etkileşime giren çok işlevli bir proteindir ve TLR4 ve TLR5 sinyal yollarını aktive ettiği gösterilmiştir (Morioka, vd., 2019).



3. MATERİYAL VE METOT

Çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 05.03.2020 tarih ve 2020-16 Sayılı kararı ile etik yönden uygun bulunarak Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi ve Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yürütülmüştür.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada, deney hayvanı olarak toplam 32 adet ve 250-350 gram ağırlığında olan Albino-Wistar ırkı erkek ratlar kullanılmıştır. Ratlar Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezinde; sıcaklığı (21-23 °C) ve bağıl nemi sabit tutulan (%50-60), havalandırılan ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsü uygulanan deney hayvanı odalarında barındırılmışlardır. Deney süresince tüm ratlar standart rat kafeslerinde 4'erli gruplar halinde barındırılmış ve pelet halindeki özel sıçan yemi ve çeşme suyu ile ad libitum olarak beslenmişlerdir.

3.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Deneyisel çalışmada kullanılan ratlar rastgele ve sayıca eşit olacak şekilde 4 gruba ayrılmıştır. Deney grupları:

- 1) 1. Grup: Kontrol grubu (n=8),
- 2) 2. Grup: Diyabet grubu (n=8),
- 3) 3. Grup: Tarçın grubu (n=8) ve
- 4) 4. Grup: Diyabet + tarçın grubu (n=8) olarak belirlenmiştir.

3.3. Diyabetin Oluşturulması

Çalışmamızda, diyabet ve diyabet + tarçın grubunda yer alan hayvanlarda diyabet modeli oluşturmak üzere; hayvanlara tek doz intraperitoneal (i.p.) streptozotosin (STZ; 50 mg/kg) enjeksiyonu yapılmıştır. 450 mg STZ (S0130; Sigma-Aldrich, ABD) 10 mL distile su içerisinde çözündürülerek hazırlanmış (Çetin, vd., 2013) ve daha sonra diyabet ve diyabet + tarçın grubundaki tüm ratlara uygulanmıştır. STZ enjeksiyonundan 3 gün sonra tüm bu ratlarda açlık kan şekeri ölçümü yapılarak diyabetin oluştuğu teyit edilmiştir. Bunun için; açlık kan şekeri ölçümünden önce hayvanlar 8 saat boyunca aç bırakılmış ve 8 saatin sonunda kuyruktan alınan kan

örneğinden glukometre (PlusMED Accuro) kullanılarak kan şekeri değerleri ölçülmüştür. Böylece STZ enjekte edilmiş tüm hayvanların kan şekeri değerleri 300 mg/dL'nin üzerinde olduğu için her iki grupta da diyabet modeli geliştiği kabul edilmiştir.

3.4. Tarçın Uygulaması

Ratlarda diyabet oluşumu teyit edildikten sonra, tarçın ve diyabet + tarçın grubunda yer alan tüm hayvanlara oral gavaj ile 0,5 mg/kg dozunda tarçın (Hemayatkhah Jahromi V, 2017) 14 gün boyunca uygulanmıştır. Kontrol grubunda yer alan hayvanlara ise deney süresince herhangi bir uygulama yapılmamıştır.

3.5. Deneyin Sonlandırılması

14 günlük tarçın uygulaması tamamlandıktan sonraki gün, tüm gruplarda yer alan hayvanlara anestezi altında ötenazi işlemi uygulanmıştır. Anestezi sağlamak amacıyla 66 mg/kg intraperitoneal, 44 mg/kg intramüsküler ketamin hidroklorür uygulanmıştır. Dekapitasyon sonrası, tüm grupların böbrek dokuları %10'luk tamponlanmış nötral formaldehit solüsyonuna alınmıştır.

3.6. Mast Hücre Histokimyası

Böbrek dokuları, histolojik incelemeler için %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildikten sonra rutin doku takibi prosedürlerinden geçirilerek parafin bloklara gömülmüştür. Ardından parafin bloklardan 30 µm aralıklarla 5 µm kalınlığında 10 seri kesit alınmış ve toluidine blue (92-31-9; Sigma-Aldrich, ABD) (%0,5 ve pH=0.5) ile 10 dakika boyunca boyanmıştır. Boyanan kesitlerde, tüm preparatlardaki MH lerin sayısal yoğunluğunu belirlemek için 100 kare oküler mikrometre (eyepiece graticule) kullanılmıştır. 40'lık (x40) objektif büyütmesinde oküler mikrometrenin 100 kare birim alanındaki MH ler sayılmıştır. Tüm gruplardan alınan kesitlerin rastgele seçilen 10 farklı bölgesinde MH sayımı yapılmış ve sonuçların ortalaması alınmıştır. Daha sonra elde edilen tüm bu veriler, 1 mm²'lik birim alandaki MH sayısına dönüştürülmüştür.

MH lerin böbrek dokusundaki heterojenitesini belirlemek amacıyla hazırlanmış olan tüm deney gruplarına ait preparatlar, Nikon E-80İ araştırma mikroskobu altında ve Nikondigital-sight görüntüleme sistemi ile incelenip fotoğraflanmıştır.

3.7. İmmünohistokimyasal Boyama

Böbrek dokusundan alınan 5 µm kalınlığındaki doku kesitlerinde TLR4'ün varlığını belirlemek için, immünohistokimyasal yöntemlerden birisi olan “streptavidin-biotin-kompleks yöntemi” kullanılmıştır (True, 1990). İmmünohistokimyasal boyamalarda; mouse monoklonal TLR4 (1/800 dilüsyon, Santa Cruz Biotechnology, sc-293072) primer antikoru kullanıldı. Sulandırma (Zymed 00-3118) Antibody diluent reagent solusyonu kullanılarak yapıldı. Sekonder antikor olarak (Zymed kit: 85-6743) Histostain® Plus Rabbit Primary antikor kiti kullanılmıştır.

İmmünohistokimyasal boyama işlemlerinin aşamaları aşağıda basamaklar halinde verilmiştir.

- Dokulardaki antijeni açığa çıkarmak için deparafinizasyon işleminden sonra sitratbuffer (1000 ml distile su 2,1 g Sitrik asit (Merck, 1.00242.1000) (pH:6) çözeltisi içersine alınan kesitler mikrodalga fırında, 700 watt'lık ısıda ısıtılmıştır. Aynı işlem 5'er dakikalık olmak üzere 3 defa yapılmıştır. İşlem sonunda sitrat buffer solüsyonu içersindeki kesitler 20 dakika oda ısısında soğumaya bırakılmıştır.

- Phosphate Buffered Saline (PBS) (sodyum klorür (Merck,1.064.0100) 7,2 g, di-sodyum hidrojen fosfattan (Merck,1.06586.0500) 1,48 g, sodyum dihidrojen fosfat monohidrat (Merck, 1.06346.0100) 0,43 g) ile yıkanan kesitler endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek için dokular %3'lük hidrojen peroksit (6 ml hidrojen peroksit + 64 ml distile su) (Merck 1.08600.1000) solüsyonunda 10 dakika inkübe edilmiştir.

- PBS solüsyonundan çıkarılan dokuların etrafı iyice kurulandıktan sonra üzerlerine spesifik olmayan protein bağlanmasını önlemek için kit içindeki serum damlatılmıştır. Protein bloklama solüsyonu olarak (Zymed, 85-6743) Histostain® Plus Rabbit Primary Kit'inbloklama solüsyonu kullanıldı.

- Daha sonra kesitlerin üzerine primer antikor damlatılmış ve kesitler gece boyunca + 4 °C'de tutulmuştur. Negatif kontrol grubu dokularında ise sadece PBS solüsyonu kullanılmıştır.

- Yıkama işleminin ardından kesitlere biotinlenmiş sekonder antikor damlatılmış ve yıkama işleminden sonra streptavidin-horseradish peroksidaz kompleksinde inkübe edilmiştir. (StreptavidinPeroksidaz, Zymed, 85-6743 kod numaralı Histostain® Plus Rabbit Primary Kit'in HRP-Streptavidin biotin peroksidaz).

- Son aşamada ise, kromojen (Zymed, 31079800) olarak 3,3'-diaminobenzidin (DAB) kullanılmış olup preparatlar hematoksilen ile zıt boyanmış ve entellan ile kapatılmıştır.

3.8. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

İmmünohistokimyasal boyamadan sonra, tüm deney gruplarına ait böbrek dokularında TLR4'ün boyanma yoğunluğu semi-kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Hazırlanan preparatlar; Nikon E-80İ araştırma mikroskobu altında ve Nikon digital-sight görüntüleme sistemi ile incelenip fotoğraflanmıştır.

Pozitif boyama yoğunluğuna göre kantitatif değerlendirme yapıldı. İmmunhistokimyasal değerlendirme; böbrek tubulleri, glomeruluslar ve toplayıcı borucukları oluşturan hücrelerinin boyanma yoğunluğuna bakılarak yapıldı. TLR4 ekspresyonunun boyama yoğunluğu; -, boyanma tespit edilmedi; +, zayıf pozitif boyama mevcut; ++, orta derecede pozitif boyama mevcut; +++, güçlü pozitif boyama özelliklerine göre 0'dan 3'e kadar değerler verilerek yapıldı (Chattrjee, vd., 1996).

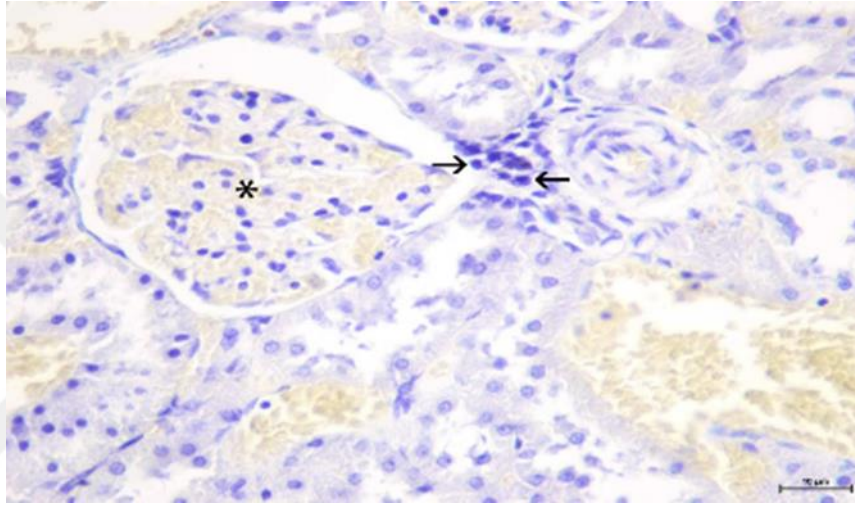
3.9. İstatistiksel Analiz

Tez çalışması kapsamında, gruplar arasındaki MH sayılarının karşılaştırılmasında SPSS paket programı kullanılmıştır. Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart hata (ort $\pm$ SH) olarak gösterilmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve grup içi farklılıkların belirlenmesinde ise Duncan testi kullanılmıştır. $p < 0,05$ değeri istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir (John PWM, 1971).

4. BULGULAR

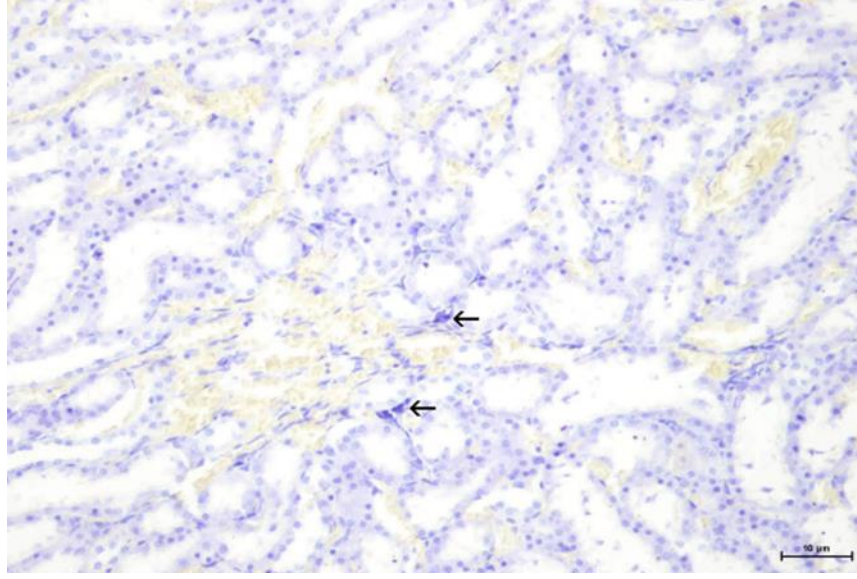
4.1. Histokimyasal bulgular

Kontrol grubu ve deney grupları rat böbreklerinde toluidin blue ile boyanan kesitler incelendiğinde, MH lerin belirgin şekilde metakromazi gösterdikleri belirlendi. Tüm gruptaki MH ler arasında herhangi bir morfolojik farklılık gözlenmezken hücreler farklı irilikte yuvarlak ya da oval şekillilik gösterdi. MH ler kortekste böbrek tubullerinin arasında, glomerulusların çevresinde ve kan damarlarının yakınında olmak üzere intersitisyumda gözlendi (Şekil 4.1).



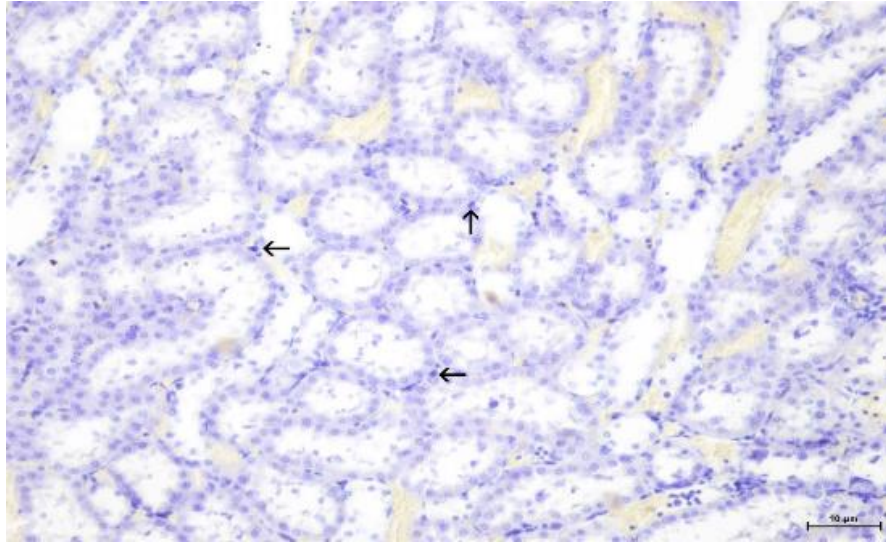
Şekil 4.1. Kontrol grubu böbrek korteksi, toluidin blue x 40'lik objektif,
Ok: mast hücresi, *: glomerulus

Medullada ise MH tubullerin ve toplayıcı borucuklar çevresindeki intresitisyumda ve kan damarlarının etrafındaki bağ dokuda yerleştiği belirlendi (Şekil 4.2).

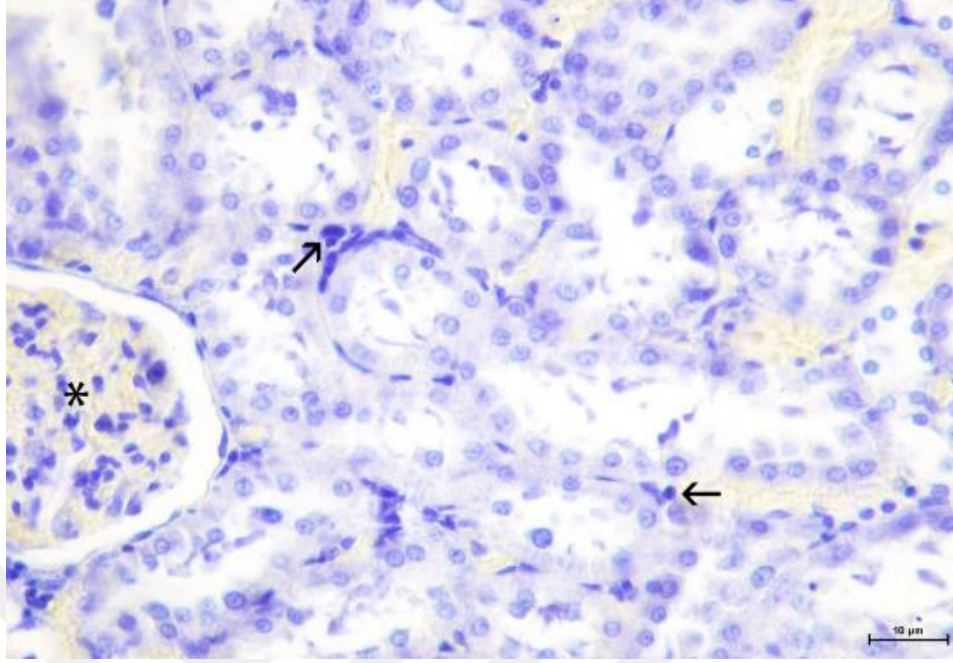


Şekil 4.2. Kontrol grubu böbrek medullası, toluidin blue x 40'lık objektif,
Ok: mast hücresi,

Kontrol ve deney grubunun rastgele seçilen her bir bölgesinden 100 kare birim alanda MH ler sayılıp 1 mm² 'lik birim alandaki hücre sayısına dönüştürüldü (Tablo 4.1). MH sayısının deney gruplarında kontrol grubuna oranla sayısal olarak arttığı gözlemlendi. MH sayıları karşılaştırıldığında, MH lerin mm² 'deki ortalama sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlendi (P<0,001). MH sayısında en yüksek artış diyabet grubunda saptandı (Şekil 4.3, 4.4).

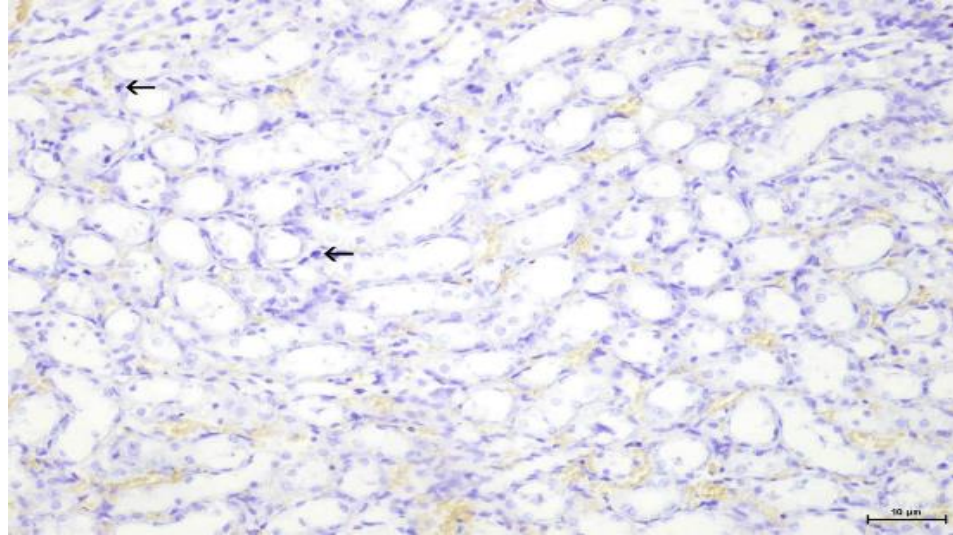


Şekil 4.3. Diyabet grubu böbrek medullası, toluidin blue x 20'lik objektif,
Ok: mast hücresi

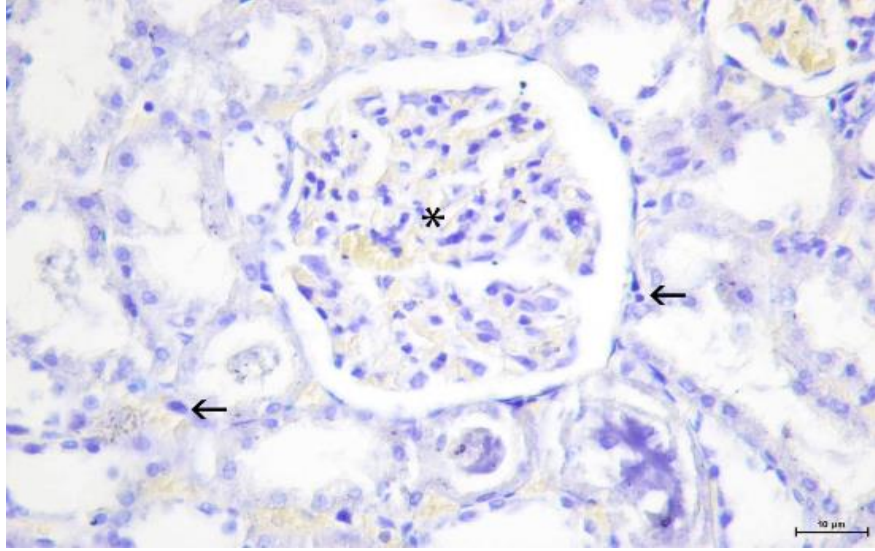


Şekil 4.4. Diyabet grubu böbrek korteksi, toluidin blue x 40'lık objektif,
Ok: mast hücresi, *: glomerulus

Tarçının böbrek dokusunda MH sayısında artışa neden olduğu gözlemlendi. (Şekil 4.5, 4.6)

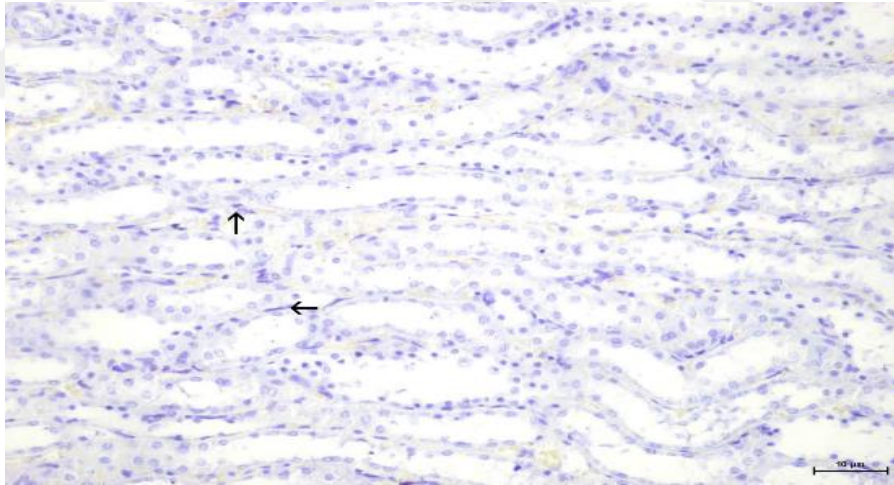


Şekil 4.5. Tarçın grubu böbrek medullası, toluidin blue x 20'lik objektif,
Ok: mast hücresi

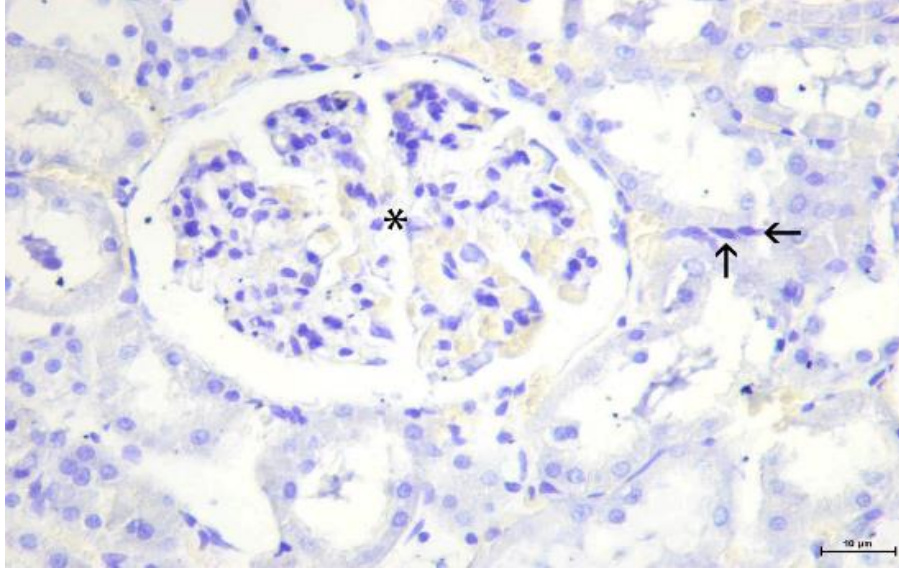


Şekil 4.6. Tarçın grubu böbrek korteksi, toluidin blue x 40'lık objektif
Ok: mast hücresi, *: glomerulus

Diyabet + tarçın uygulanmış grupta MH sayısında anlamlı bir azalmaya neden olduğu tespit edildi (Şekil 4.7, 4.8).



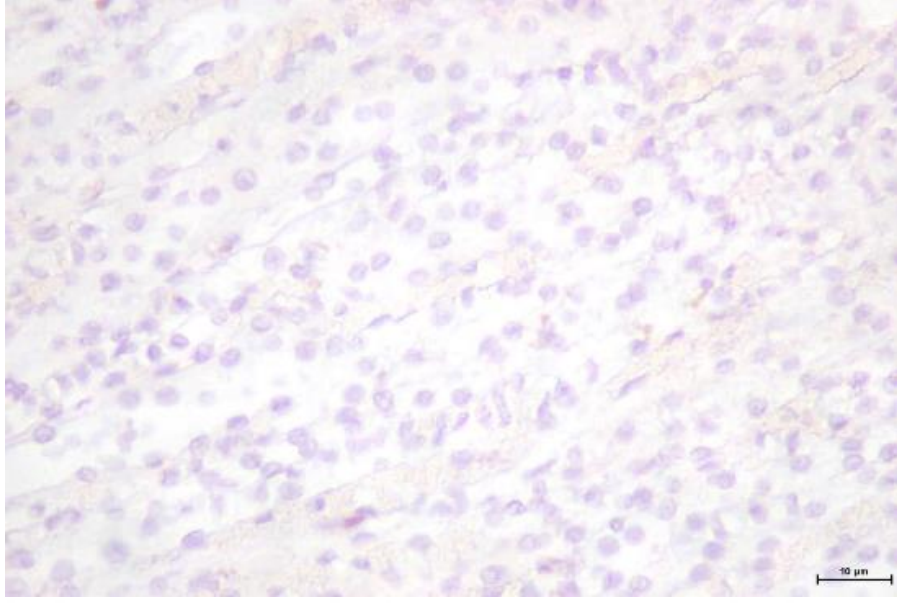
Şekil 4.7. Diyabet+tarçın grubu böbrek medullası, toluidin blue x 20'lik objektif
Ok: mast hücresi



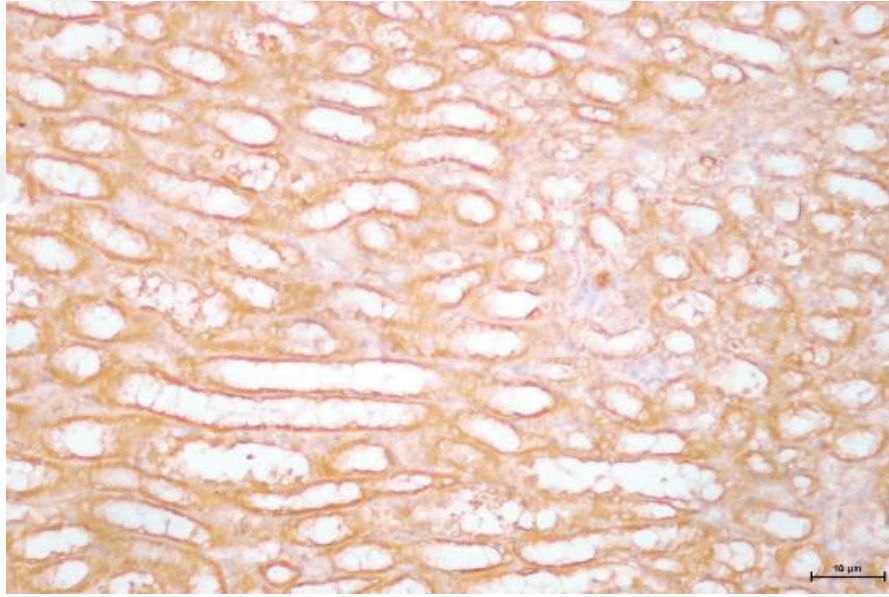
Şekil 4.8. Diyabet+tarçın grubu böbrek korteksi, toluidin blue x 40'lık objektif,
Ok: mast hücresi, *: glomerulus

4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

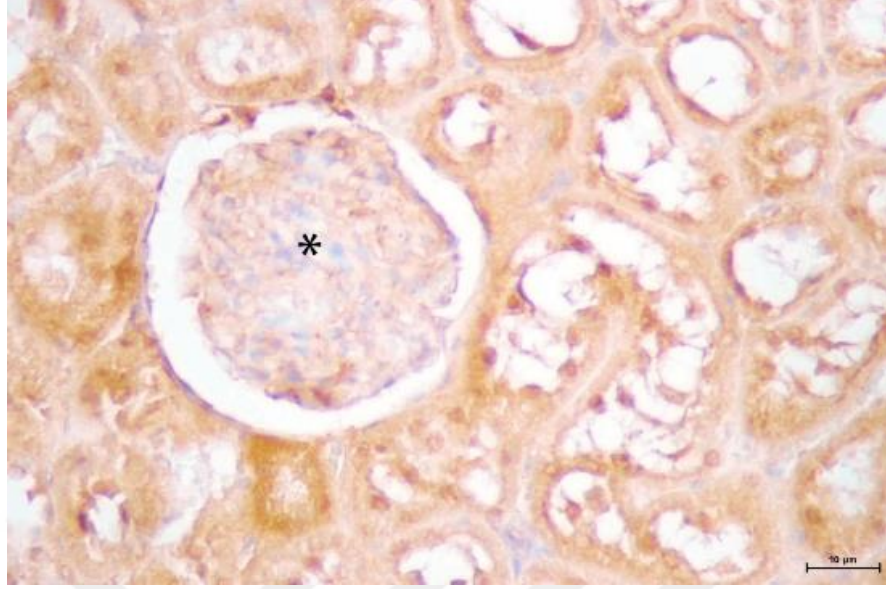
İmmunohistokimyasal olarak TLR4 ekspresyonunu belirlenen tüm gruplara ait böbrek preparatlarının değerlendirilmeleri, korteks ve medullada bulunan hücrelerin reaksiyon yoğunluğuna bakılarak yapıldı. Değerlendirme -, boyanma tespit edilmedi; +, zayıf pozitif boyama; ++, orta derecede pozitif boyama; +++, güçlü pozitif boyama şeklinde yapıldı (Tablo 4.2). Negatif kontrol preparatlarında herhangi bir boyanma gözlenmedi (Şekil 4.9). TLR4 ekspresyonunun saptanması için yapılan immünohistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; TLR4 immünreaktivitesi tüm grupların böbrek dokusunda glomerüllerde, proksimal, distal ve toplayıcı tübüllerde gözlemlendi. Böbrek dokusunda boyanmanın yaygınlığı değerlendirildiğinde hücrelerin sitoplazma ve çekirdeklerinde TLR4 ekspresyonu izlendi (Şekil 4.10, 4.11). Kontrol grubu ile deney grupları arasında TLR4 immünreaktivitesinin lokalizasyonunda bir farklılık yoktu. Ancak kontrol grubu ile deney grupları arasında TLR4 ekspresyonunun şiddetinde artış belirlendi.



Şekil 4.9. Negatif kontrol x 40'lık objektif

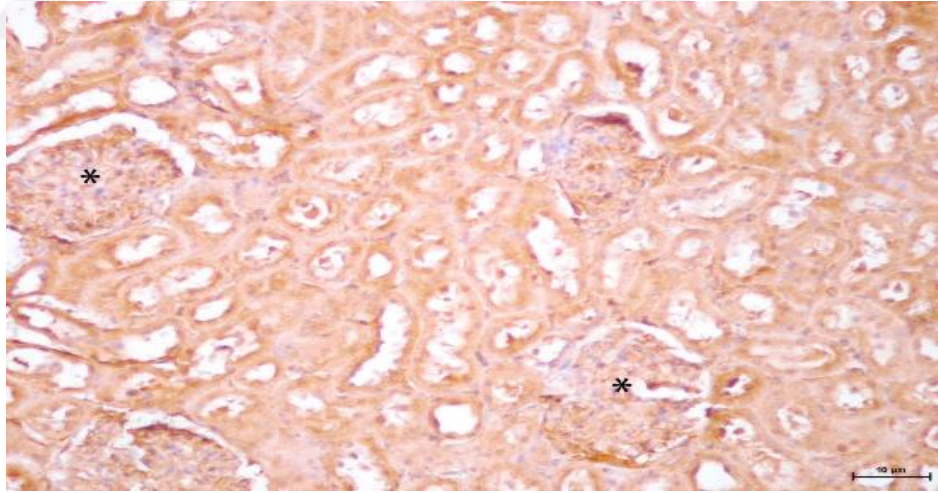


Şekil 4.10. Kontrol grubu böbrek medullası, TLR4 ekspresyonu x 20'lik objektif

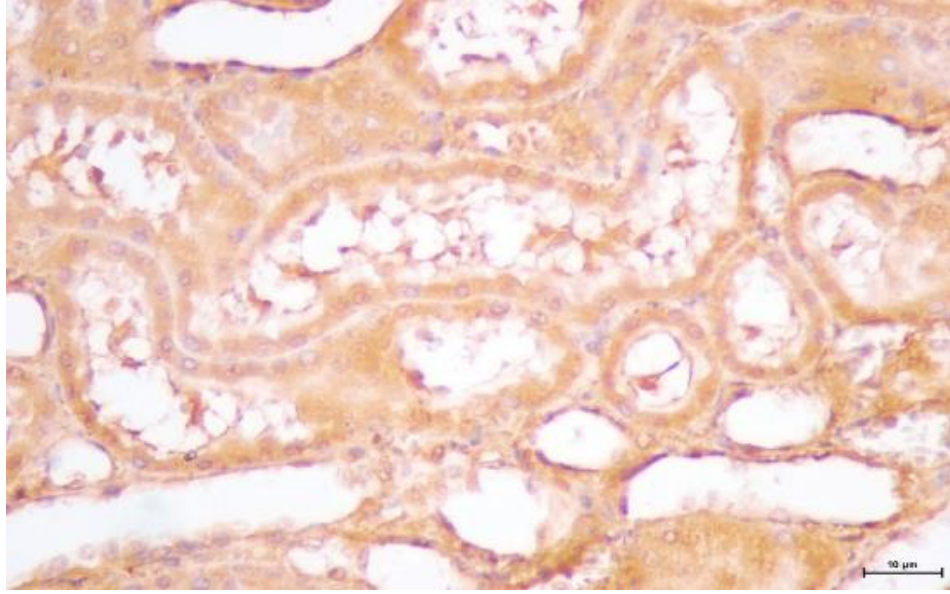


Şekil 4.11 Kontrol grubu böbrek korteksi, TLR4 ekspresyonu x 40'lık objektif
*: glomerulus

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında en yüksek TLR4 immünreaktivitesi diyabet grubunda gözlendi (Şekil 4.12, 4.13).



Şekil 4.12. Diyabet grubu böbrek korteksi, TLR4 ekspresyonu x 20'lik objektif
*: glomerulus



Şekil 4.13. Diyabet grubu böbrek medullası, TLR4 ekspresyonu x 40'lık objektif

Tablo 4.1. Böbrek dokusunda toluidin mavisi ile boyama sonrası mast hücre sayıları

Grup	Mast hücre sayısı ($\times \pm Sx / mm^2$)	Minimum	Maksimum
Kontrol Grubu	8.28 ± 0.97^a	5.40	10.20
Diyabet Grubu	16.53 ± 0.93^c	14.60	19.40
Tarçın Grubu	11.70 ± 0.44^b	10.20	13.20
Diyabet + tarçın Grubu	12.65 ± 1.17^b	9.20	15.60
P	***		

a, b, c: Sütundaki farklı harflere sahip ortalamalar önemli ölçüde farklılık gösterir.

($P < 0,5$)

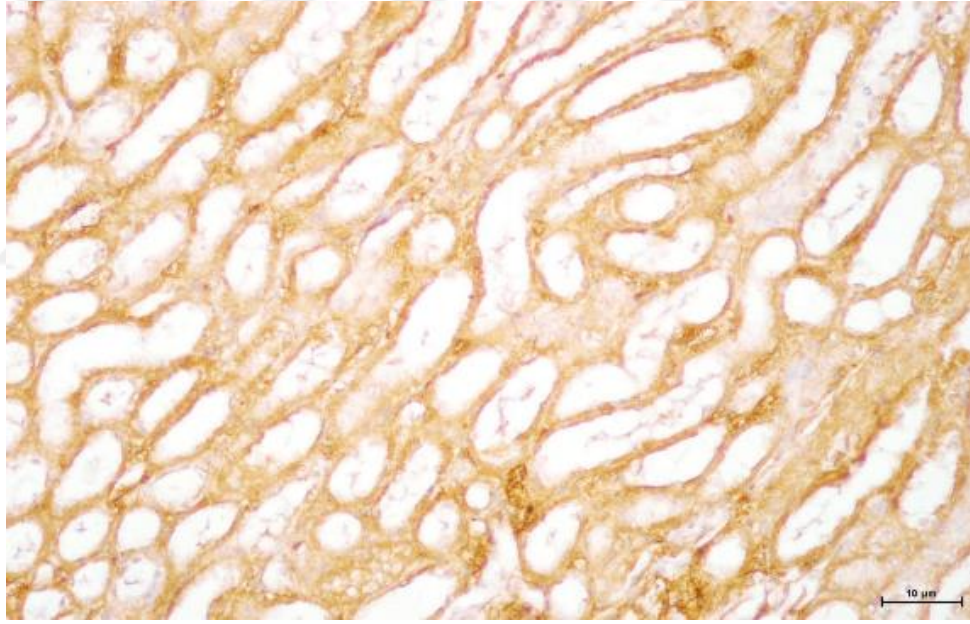
***: $P < 0,001$

Tablo 4.2. Farklı grupların böbrek dokusunda TLR4'ün ortalama immunohistokimyasal reaksiyon şiddetleri

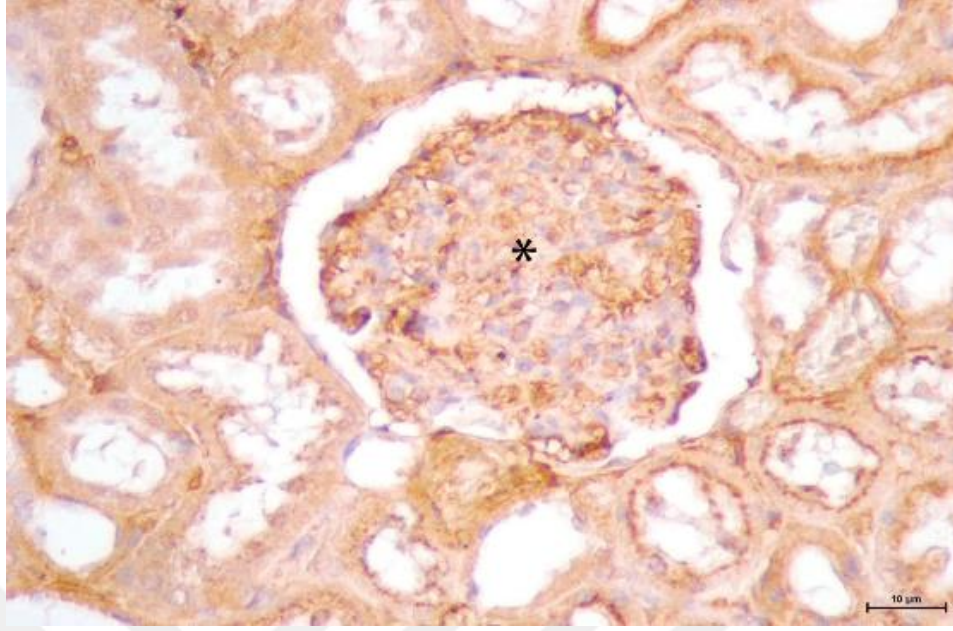
Grup	TLR4 ekspresyonu
Kontrol Grubu	+
Diyabet Grubu	+++
Tarçın Grubu	++
Diyabet + tarçın Grubu	++

Boyanmama (-), zayıf boyanma (+), orta şiddette boyanma (++) ve şiddetli boyanma (+++)

Çalışmamızda göze çarpan bir bulgu olarak tarçının böbrek dokusunda TLR4 ekspresyonunu arttırdığı gözlemlendi (Şekil 4.14, 4.15).

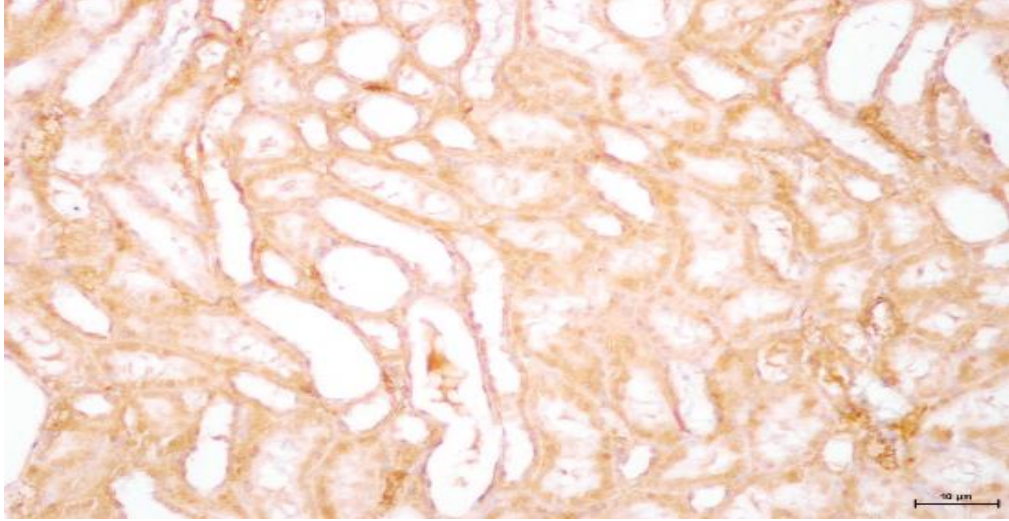


Şekil 4.14. Tarçın grubu böbrek medullası, TLR4 ekspresyonu x 20'lik objektif

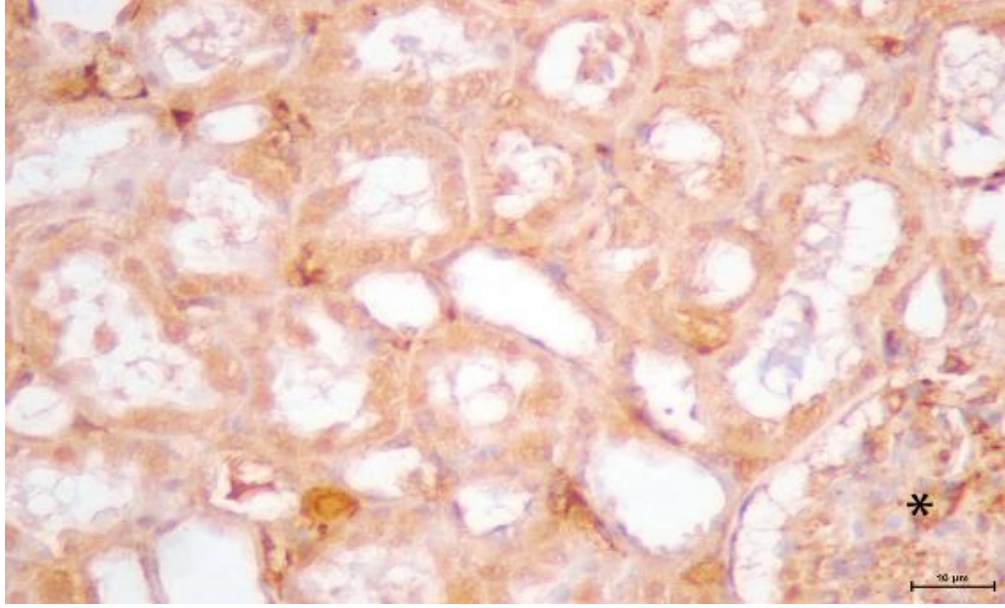


Şekil 4.15. Tarçın grubu böbrek korteksi, TLR4 ekspresyonu x 40'lık objektif, *: glomerulus

Diyabet gruplarında artmış TLR4 immunreaktivitesini azalttığı saptandı (Şekil 4.16, 4.17).



Şekil 4.16. Diyabet+tarçın grubu böbrek medullası, TLR4 ekspresyonu x 20'lik objektif



Şekil 4.17. Diyabet+tarçın grubu böbrek korteksi, TLR4 ekspresyonu x 40'lık objektif
*: glomerulus

5. TARTIŞMA

MH ler doğal ve adaptif bağışıklıktaki immüno-granülositlerden biridir ve fizyolojik savunma sistemi için doku yerleşimli bir bağışıklık hücresidir (Wernersson ve Pejler, 2014). İnflamasyon, otoimmünite, alerji, bulaşıcı hastalıklar ve metabolik bozukluklarda önemli rolleri vardır (Huh, vd., 2014). Kemokinler, sitokinler, büyüme faktörleri, heparin, histamin, proteazlar, kimaz ve triptaz gibi MH araçlarının, diyabet dahil metabolik hastalıkların patogeneze katkıda bulunduğu bilinmektedir (Zhang ve Shi, 2012). Yapılan çalışmada diyabette IgE düzeylerinin arttığı saptanmıştır. Bu artışın IgE aracılı MH aktivasyonunun diyabetin patogenezinde önemli etkisi olabileceğini düşündürmektedir (Syensson, vd., 2012). Carlos ve ark. (2015) STZ uygulamasından önce adaptif MH transferinin, diyabete direnç kazandırdığı ve pankreatik lenf nodlarında Treg hücrelerinde artışı indüklediğini bildirmiştir. Ayrıca, MH lerin Treg hücrelerinin aracılık ettiği bir immünolojik tolerans mekanizması yoluyla STZ kaynaklı diyabete dirençle ilişkili olduğunu ileri sürülmüştür (Daniela, vd., 2015). Deneysel çalışmalarda diyabetik modeli oluşturulmuş rat böbreklerinde MH sayısı ve aktivitesinin arttığı ortaya konmuştur (Richarlsson, 2018). Diyabetik ratlar ile yapılan çalışmada, idrar kesesinde MH sayısının oldukça arttığı bildirilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada Benfluoreks – C vitamin tedavisi etkisinin araştırıldığı diyabetik grupta ise diyabetik örneklerde olduğu kadar fazla sayıda MH ye rastlanmamıştır (Gökalp, 2008). Diyabetik ratların mezenterindeki MH sayısının sağlıklı ratlara göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği belirlenmiştir. Aynı çalışmada, antialerjik tranilastın diyabetik ratlarda MH sayısını önemli ölçüde azalttığı ortaya koyulmuştur (S.E. Jones, vd., 2004). MH lerin diyabetik ratlarda özellikle langerhans adacıklarının periferik bölgelerinde artış gösterdiği bilinmektedir (Ahmed, vd., 2019). STZ ile deneysel diyabet oluşturulan ratlarda ovaryum ve uterus dokularında MH sayıları incelendiğinde diyabetik ratlarda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artışın olduğu saptanmıştır (Hayiroğlu, vd., 2016). Klinik ve prelinik çalışmalarda diyabetin MH yoğunluğunu arttırdığı ve MH leri stabilize eden ajanların deneysel olarak diyabeti iyileştirebileceği açığa çıkarılmıştır (Pichler, vd., 2016). Yukarıdaki literatürlerle paralel olarak çalışmamızda diyabet gruplarının böbrek dokusunda en fazla sayıda MH artışı saptanmıştır. Ayrıca tarçın ekstratının da MH artışına neden olduğu gözlenmiştir.

Elde ettiğimiz bu bulgunun MH lerin granüllerinde bulunan primer ve sekonder mediyatörler aracılığı ile diyabetin doku ve hücrelerde oluşturabileceği olası hasarlara karşı etkili bir savunma gösterebileceğini düşündürmektedir.

TLR4 ün bakteriyel enfeksiyonlara karşı konak savunmasında kritik bir öneme sahip olduğu bilinmektedir (Freudenberg, vd., 2008). Bununla birlikte, TLR4'ün doku yaralanmasında gösterildiği gibi onarım ve doku yeniden şekillenme süreçlerini teşvik ederek enflamatuvar doku hasarına karşı etkili koruma sağladığı da bulunmuştur (Jiang, vd., 2010). Araştırmalar hiperglisemi gibi metabolik bozuklukların böbrek hücrelerine zarar vereceğini ve hücreleri inflamatuvar faktörleri salgılamaya ve salmaya teşvik edeceğini göstermektedir (On'kin JBKL, vd., 2017). Gül den ve ark. (2013) çalışmalarında TLR4 eksikliği olan farelerde, diyabet gelişiminin hızlandığını ve paralel olarak Treg hücre aktivitesinin azaldığını saptanmıştır (Gül den, vd., 2013). İnflamatuvar faktör ekspresyonu açısından, renal tübüler epitel hücrelerinin hiperglisemi durumunda TLR4 endojen ve eksojen ligandlar tarafından uyarıldığı bilinmektedir (Perry, vd., 2018). Hiperglisemide TLR4 ekspresyonunun, renal tübüler epitel hücreleri tarafından hızlı ve güçlü inflamatuvar yanıt üretimini indükleyebileceğini düşündürmektedir (Chen, vd., 2017). Yapılan bir çalışmada TLR4 aktivasyonunun insülin ile ilişkili yüksek yağlı diyetin neden olduğu insülin direncini kısmen önleyebileceğini gözlenmiştir (Shi, vd., 2006). Ayrıca, insülin tedavisinin kan şekerini ve TLR4 protein ekspresyonunu azaltabileceği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Ghanim, vd., 2008). STZ ile deneysel diyabet oluşturulmuş rat böbreğinde diyabet şekillendikten sonra farklı haftalarda böbrek dokusu incelenmiştir. Kontrol grubundaki her zaman noktasında TLR4 ekspresyonunun nispeten düşük olduğu saptanmıştır. Modelleme grubundaki ratlarda ise böbreğin glomerüler bazal membranın, proksimal kıvrımlı tübülün ve renal interstisyel alanın 2 haftadan sonra yüksek TLR4 ekspresyonuna sahip olduğu ve kontrol grubuna kıyasla anlamlı fark gözlendiği bildirilmiştir (Si-Yang Liu, vd., 2013). Bizim çalışmamızda da yukarıdaki çalışmalara paralel olarak diyabet gruplarında ve tarçın verilmiş gruplarda böbrek dokusunda TLR4 ekspresyonunda artış gözlenmiştir. Ayrıca diyabet + tarçın grubunda TLR4 ekspresyonu diyabet grubuna göre azalmıştır. Mevcut bilgi ve bu çalışmadaki verilere dayanarak tarçının bağışıklık yanıtının güçlendirilmesine ve dolaylı olarak diyabet tedavisine katkıda bulunabileceğini düşünüyoruz.

MH lerin aktivasyonu, granüllerinden histamin gibi önceden oluşturulmuş araçları salmanın yanı sıra de novo sentezlenmiş lipit araçlarını, sitokinleri ve kemokinleri serbest bırakabilir. Daha sonra, inflamatuvar yanıtı indüklerler veya savunma yanıtlarında yer alırlar (Shelburne ve Abraham, 2011). MH nin Fc reseptörleri, TLR'ler, kemokinler, sitokinler ve ayrıca MH aktivasyonu ve bağışıklık tepkileri ile ilgili patojenle ilişkili moleküler modeller dahil olmak üzere farklı reseptörleri eksprese eder (Krystel-Whittemore, vd., 2016). İnsan ve fare MH leri yüzeyindeki TLR4 reseptörleri, FcRI'nin aracılık ettiği MH sinyal yolunu sinerjik olarak düzenleyebilir ve MH degranülasyonunu ve Th2 sitokinlerinin salınımını destekleyebilir (Novak, vd., 2010). TLR in, MH lerin hem hücre zarında hem de sitozolünde eksprese edildiği ve virüsleri, bakterileri ve mantarları tanıyabildiği ortaya konmuştur (Kılınç ve Baranoğlu, 2020). Yapılan bir çalışmada Crohn hastalığında sağlıklı bireylere oranla intestinal mukozada MH sayısında ve TLR4 ekspresyonunda artış görüldüğü bildirilmiştir (Ryota Kobayashi, vd., 2007). Farklı bir çalışmada ise sağlıklı dişeti dokularında TLR4 ekspresyonuna sahip birkaç dağınık MH nin gözlendiğini, hafif ve şiddetli periodontitisli grubun dişeti dokularında ise MH ve TLR4 pozitif MH lerin sayısında önemli ölçüde artış olduğundan söz etmektedir (Bo Huang, vd., 2018). MH ile TLR4 ilişkisinin incelendiği bir başka çalışmada ise bir parazit türü olan *Giardia lamblia* trofozitlerinin MH leri stimüle ettiği ve bu uyarıma bağlı olarak TLR4 ekspresyonunda artış şekillendiği belirtilmiştir (Samira, vd., 2018). İleumda nekrotik enterokolitli ratlar kullanarak yapılan bir çalışmada da insan anne sütü oligosakkaritlerinin ileum dokusunda oluşan hasarı hafifletmenin yanı sıra MH sayısını ve TLR4 ekspresyonunu baskılandığını saptamıştır (Jingqiu, vd., 2020). Çalışmamızda diyabet oluşturulmuş ve tarçın verilmiş gruplarda MH sayısında ve TLR4 ekspresyonunda paralel olarak artış görülmüştür. Bu sinerjik artış tarçının çeşitli hastalıkların olası doku hasarlarını önlemek ve ayrıca immun sistemi desteklemek için kullanılabileceğini varsaymamıza neden olmuştur.

6. SONUÇ

Bu çalışmada, tarçın uygulamasının deneysel diyabet oluşturulmuş rat böbreğinde MH sayısı ve TLR4 ekspresyonu arasındaki ilişki incelenmiştir. Ayrıca tarçının diyabet tedavisindeki etkinliği araştırılmıştır.

Çalışmamızda, deney gruplarında özellikle diyabet grubunda en fazla sayıda MH ve TLR4 ekspresyonu saptanmıştır. Araştırmamızın bulguları birlikte değerlendirildiklerinde diyabetin ve tarçının MH sayısında ve TLR4 ekspresyonunda artışa yol açtığı görüldü. Ayrıca, tarçın + diyabet grubunda ise MH sayısında ve aynı zamanda TLR4 ekspresyonunda azalma olduğu dikkati çekmiştir.

Antioksidan, anti-inflamatuar ve insülin direncini iyileştirebilen özelliği bilinen ve beslenmede yaygın olarak tüketilen tarçının özellikle doğuştan gelen immün yanıtta rol oynadığı bilinen MH lerin sayısına ve TLR4 ekspresyonuna üzerinde etki gösterebileceği ortaya konmuştur.

Sonuç olarak tarçının diyabette dolaylı olarak iyileştirici etkilerinin yanında hücre ve sitokinleri düzenleyebileceği açıklanmaya çalışılmıştır. Tarçının belirli hücre gruplarını aktive veya stabilize ederek metabolik bozukluklar sonucu oluşabilecek hücre ve doku hasarlarını önlemede dolaylı olarak kullanılabileceğini ortaya koyduk. Çalışma sonuçlarımızın hem diyabet konusunda hem de inflamasyon, otoimmünite, alerji, bulaşıcı hastalıklar ve metabolik bozukluklarda önemli rolleri olan MH ve TLR4 fonksiyonlarını çalışan araştırmacılara katkısı olacağını düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., Pillai, S. (2007). *Cellular and Molecular Immunology*. China: Saunders Elsevier, p.: 441-453.
- Accili D, Drago J, Lee EJ, Johnson MD, Cool MH, Salvatore P, et al. Early neonatal death in mice homozygous for a null allele of the insulin receptor gene. *Nat Gen*1996;12:106-9.
- Aggarwal BB, Targeting inflammation-induced obesity and metabolic diseases by curcumin and other nutraceuticals. *Annu Rev Nutr* 2010.
- Aggarwal, BB., Ahmad, N., and Mukhtar, H., 2002. Spices as Potent Antioxidants with Therapeutic Potential in *Handbook of Antioxidants*. Eds. Cadenas, E., and Packer, L., 437-457. Marcel Dekker, Inc., New York, USA.
- Agnese DM, Calvano JE, Hahm S, Coyle SM, Corbett SA, Calvano SE, Lowry SF, 2002. Human Toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphism are associated with an increased risk of gramnegative infections. *J Infect Dis*, 186:1522- 1525.
- Ahmed A.M., Abdel-Hamid, Alaa El-Din , L.Firgany (2019). Increased mast cell number is associated with a decrease in beta-cell mass and regeneration in type 2 diabetic rats. *Acta Histochemica* Volume 121, Issue 4, May 2019, Pages 508-515.
- Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol* (2004) 4:499–511. doi:10.1038/nri1391.
- Almind K, Doria A, Kahn CR. Putting the genes for type 2 diabetes on the map. *Nat Med* 2001;7:277-9.
- American Diabetes Association. Consensus Development Conference on Insulin Resistance. *Diabetes Care* 1998;21:310-4.
- AnaBritannica (1990). Tarçın. (c.20, s. 404-405)..
- Anderson RA, Broadhurst CL, Polansky MM et al. Isolation and characterization of polyphenol type-A polymers from cinnamon with insulin-like biological activity. *J Agric Food Chem* 2004;52(1):65-70.
- Andersson U, Tracey KJ. HMGB1 is a therapeutic target for sterile inflammation and infection. *Annu Rev Immunol*. (2011) 29:139–62. doi: 10.1146/annurev-immunol-030409-101323.
- Arda, M., Minbay, A., Aydın, N., Akay, Ö., İzgür. M., Diker. K. S. (1998). *İmmunoloji*. Ankara: Medisan Yayın Serisi: 13, p.: 170-172.
- Aslan, M., Orhan, N. (2010), *Diyabet Tedavisinde Kullanılan Bitkisel Ürünler ve Gıda Destekleri*. mised 23 ve 24, 27-38.
- Atlas Keşif kitaplığı, (2009) Hoş tatlar, Acılar ve Kokular, Baharat Atlası Özel Koleksiyon s.19.
- Bancroft JD, Cook HC (1984): *Manuel of Histological Techniques*. Churchill Livingstone Inc, New York.
- Bancroft JD, Gamble M (2002): *Theory and Practice of Histological Techniques*. Churchill Livingstone Inc, China
- Beutler B, Jiang Z, Georgel P, Crozat K, Croker B, Rutschmann S, Du X, Hoebe K. 2006. Genetic analysis of host resistance: Toll-like receptor signaling and immunity at large. *Annu. Rev. Immunol*. 24: 353-389.

- Bienenstock, J., Befus, D., Denburg, J., Goto, T., Lee, T., Otsuka, H., Shanahan, F., 1985. Comparative Aspects of Mast Cell Heterogeneity in Different Species and Sites, *Int. Archs. Allergy appl. Immun.*, 77: 126-129.
- Blasius AL, Beutler B. 2010. Intracellular tolllike receptors. *Immunity*. 32(3): 305-315.
- Bloom GD. A short history of the mast cell. *Acta Otolaryngol* 1984; 414: 87-92
- Bo Huang, Qian Dai, Shi-Guang Huang, (2018). Expression of Toll-like receptor 4 on mast cells in gingival tissues of human chronic periodontitis. *Mol Med Rep*. 2018 May;17(5):6731-6735. doi: 10.3892/mmr.2018.8648. Epub 2018 Feb 27.
- Bothwell TH, Charlton RW. A general approach to the problems of iron deficiency and iron overload in the population at large. *Semin Hematol* 1982; 19:54-67
- Broadhurst, C.L., Polansky, M.M., Anderson, R.A. (2000), Insulin-like biological activity of culinary and medicinal plant aqueous extracts in vitro. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 48, 849–852.
- Broz P, Monack DM. 2013. Newly described pattern recognition receptors team up against intracellular pathogens. *Nat Rev Immunol*. 13(8): 551-565.
- Brüning JC, Winnay J, Bonner-Weir S, Taylor SI, Accili D, Kahn CR. Development of a novel polygenic model of NIDDM in mice heterozygous for IR and IRS-1 null alleles. *Cell* 1997;88:561-72.
- Campbell, T.M., Neems, R., Moore, J. (2008), Severe exacerbation of rosacea induced by cinnamon supplements. *Journal of Drugs in Dermatology* 7(6), 586-587.
- Cario E. (2008). Barrier-Protective Function of Intestinal Epithelial Toll-Like Receptor 2. *Mucosal Immunol Suppl* 1: S62–66.
- Celhar T, Magalhaes R, Fairhurst AM. 2012. TLR7 and TLR9 in SLE: when sensing self goes wrong. *Immunol Res*. 53: 58-77.
- Chatterjee, S., P. R. R. Gangula, Y. L. Dong, and C. Yallampal-li, 1996: Immunocytochemical localization of nitric oxide synthase III in reproductive organs of female rats during the oestrous cycle. *Histochem. J.* 28, 715–723.
- Chen G, Sun W, Liang Y, Chen T, Guo W and Tian W: Maternal diabetes modulates offspring cell proliferation and apoptosis during odontogenesis via the TLR4/NF- κ B signalling pathway. *Cell Prolif* 50, 2017.
- Chen W, Alley MR, Manktelow BW Davey P (1990): Mast Cells in the Ovine Lower Respiratory Tract: Morphology, Density and Distribution. *Br Vet J.*, 146, 425-436.
- Chen W, Alley MR, Manktelow BW, Davey P (1990): Mast Cells in the Bovine Lower Respiratory Tract: Heterogeneity, Morphology and Density. *Br Vet J*, 146: 425-435.
- Choi K, Kim YB. Molecular mechanism of insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Korean J Intern Med* 2010; 25(2):119-29
- Colville, T., Bassett, J. M. (2002). *Clinical Anatomy and Physiology for Veterinary Technicians*. United States of America: Mosby, Inc. An Affiliate of Elsevier Science. p.: 306.
- Cross, P.C., Mercer, K.L., 1998. *Cell and Tissue Ultrastructure: a Functional perspective*, 3rd Ed., Freeman and Company, USA, 300 pp.
- Çetin, A. , Vardı, N. & Orman, D. (2013). deneysel diyabetin sıçan kalp dokusunda meydana getirdiği histolojik değişiklikler üzerine aminoguanidinin iyileştirici

etkileri . İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi , 1 (1) , 17-26 .

- Daniela Carlos, Juliana N. U. Yaochite, Fernanda A. Rocha, Vanina D. Toso, Kelen C. R. Malmegrim, Simone G. Ramos, Maria C. Jamur, Constance Oliver, Niels O. Camara, Marcus V. M. Andrade, Fernando Q. Cunha, João S. Silva (2015). Mast cells control insulinitis and increase Treg cells to confer protection against STZ-induced type 1 diabetes in mice. *Eur. J. Immunol.* 2015. 45: 2873–2885
- David GG, Shoback D. Greenspan's Lange Temel ve Klinik Endokrinoloji, 8. Baskı, İstanbul, Güneş Tıp Kitabevleri 2009;660-667.
- De Fronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E. Pathogenesis of NIDDM. In: Alberti KGMM, Zimmet P, De Fronzo RA, Keen H (eds), *International Textbook of Diabetes Mellitus*. Second edition. Chichester, John Wiley & Sons Ltd. 1997;81:635-89.
- Desai KGH, Park HJ 2005. Encapsulation of vitamin C in tripolyphosphate cross-linked chitosan microspheres by spray drying. *Journal of Microencapsulation*, 22: 179-192.
- Diker, S. (1998). *İmmunoloji*. Ankara: Medisan Yayın Serisi: 37, p.: 239-240.
- Dugoua, J.J., Seely, D., Perri, D., Cooley, K., Forelli, T., Mills, E., Koren, G. (2007), From type 2 diabetes to antioxidant activity: a systematic review of the safety and efficacy of common and cassia cinnamon bark. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 85, 837-847.
- Elke Glden, Masaru Ihira, Atsushi Ohashi, Anna Lena Reinbeck, Marina A Freudenberg, Hubert Kolb, Volker Burkart (2013). Toll-like receptor 4 deficiency accelerates the development of insulin-deficient diabetes in non-obese diabetic mice. 2013 Sep 23;8(9):e75385. doi: 10.1371/journal.pone.0075385. eCollection 2013.
- Enerback L (1966): Mast Cells in Rat Gastrointestinal Mucosa: 1. Effects of Fixation. *Acta Pathol Microbiol Scan*, 66: 289-302
- Ergün, L. (2011). Bağ Dokusu. In: Temel Histoloji. Ed.: Aytekin zer. Ankara: Nobel Yayın, p.: 201-203.
- Erkoğak A., (1973) zel Histoloji. Baskı Ajans, Ankara
- Erpek, S., 2004. Mast Hücreleri, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 11:(2), 109-120.
- Eurell JA, Frappier BL (2006): *Dellman's Textbook of Veterinary Histology*. Blackwell Publishers, Oxford.
- Eurell, J. A., Frappier, B. L. (2006). *Dellman's Textbook of Veterinary Histology*. Oxford: Blackwell Publishers, p.: 34-35.
- European Scientific Cooperative on Phytotherapy. ESCOP Monographs: *Cinnamomi Cortex*. 2. Baskı. Exeter, UK, 2003
- Fawcett, D. W. (1994). *Bloom and Fawcett a Textbook of Histology*. 12th Ed. United States of America: Chapman and Hall, p.: 62-64. FAWCETT, D. W., JENSH, R. P. (2002). *Bloom and Fawcett's Concise Histology*. 2nd Ed. Malta. Gutenberg Press, p.: 237.
- Felter, S.P., Vassallo, J.D., Carlton, B.D., Daston, G.P. (2006), A safety assessment of coumarin taking into account species-specificity of toxicokinetics. *Food and Chemical Toxicology Journal* 44, 462-475.

- Fitzgerald KA, Rowe DC, Golenbock DT. Endotoxin recognition and signal transduction by the TLR4/MD2-complex. *Microbes Infect* (2004) 6:1361–7. doi:10.1016/j.micinf.2004.08.015.
- Flier JS. Lilly Lecture: syndromes of insulin resistance. From patient to gene and back again. *Diabetes* 1992;41: 1207-19.
- Foster DW. Diabetes Mellitus. In: Wilson JD, Fauci A, Braunwald E, Isselbacher KJ, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL. (eds), *Harrison's Principle of Internal Medicine*. 14. edition. New York, McGrawHill Companies 1998;Volume 2: 2060-80.
- Frandsen, R. D., Spurgeon, T. L. (1992). *Anatomy and Physiology of Farm Animals*. 5th Ed. United States of America: Lippincott Williams and Wilkins. p.: 378.
- Freudenberg MA, Tchaptchet S, Keck S, Fejer G, Huber M, et al. (2008) Lipopolysaccharide sensing an important factor in the innate immune response to Gram-negative bacterial infections: benefits and hazards of LPS hypersensitivity. *Immunobiology* 213: 193–203.
- G.E. Trease, *Pharmacognosy*, English Language Book Society, London, 1983.
- Gallı SJ (1993): New Concept about the Mast Cell. *N Engl J Med*, 328, 257-265.
- Gartner LP, Hiatt JL (2007): *Color Textbook of Histology*. W. B. Saunders Elsevier, China: W. B. Saunders Elsevier, p:117-121.
- Ghanim H, Mohanty P, Deopurkar R, Sia CL, Korzeniewski K, Abuaysheh S, et al. Acute modulation of toll-like receptors by insulin. *Diabetes Care* 2008; 31(9): 1827-1831.
- Gökalp Özkormaz E. Streptozotosin diyabetik ve Benfluoreks - C vitamini tedavili sıçanların mesane dokusunda histolojik incelemeler (tez). Ankara: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2008.
- Groop LC, Widen E, Ferrannini E. İnsulin resistance and insulin deficiency in pathogenesis of type 2 diabetes: errors of metabolism or of methods. *Diabetologia* 1993;36:1326-31.
- Gunther, R.T., *The Grek Herbal of Dioscorides*, Hafner Publishing Co. New York, 1959.
- Gurish, M. E., Austen, K. F. (2001). The Diverse Roles of Mast Cells. *J Exp Med.*, 194(1):F1-F5.
- Gurish, M.E. and Austen, K.F., 2001. The diverse roles of mast cells, *J. Exp. Med.*, 1: (2), F1-F5.
- Güleşçi, Nuri. (2006), Kapsaisin ve tarçının yüksek glukoz konsantrasyonlarına maruz bırakılan insan eritrositlerinde protein glikozilasyonu, Na, K atpaz, Ca atpaz ve lipid peroksidasyonu düzeylerine etkisinin araştırılması, Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.
- Gürlek A. İnsülin Direncinde Genetik Faktörler. *Klinik Endokrinoloji*. İzmir, Meta Basım 2001;49-53.
- Gürson, O., Özçelikay, G. (2005), Tarçın'ın Tarih Boyunca ve Günümüzdeki Kullanımı. *OTAM: Ankara Üniversitesi Osmanlı Tarihi Araştırma ve Uygulama Merkezi Dergisi* 18, 171-183.
- Güven MC. (2002) *Özel Histoloji Dnce Yapı ve Gelişme*. ANTİP A.Ş. Tıp Kitapları ve Bilimsel Yayınları, Ankara

- Harris HE, Andersson U, Pisetsky DS. HMGB1: a multifunctional alarmin driving autoimmune and inflammatory disease. *Nat Rev Rheumatol.* (2012) 8:195–202. doi: 10.1038/nrrheum.2011.222
- Hayıroğlu, A. E. , Karaca, T. & Demirtaş, S. (2016). Streptozotosin ile Deneysel Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Östrus Siklusunun Değişik Evrelerinde Ovaryum ve Uterus Dokularında Mast Hücrelerinin Dağılımının Histokimyasal ve İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi . *Kafkas Tıp Bilimleri Dergisi* , 6 (1) , 29-37 .
- Hemayatkhah Jahromi V. , Baqerzadeh P. *JOURNAL OF ANIMAL BIOLOGY.* 2017. The Effect Of Cinnamon Extract On Ovary In Adult Rats Treated Lead Acetate. Volume 9 , Number 2; Page(s) 1 To 9.
- Hlebowicz, J., Darwiche, G., Björgell, O., Almer, L. (2007), Effect of cinnamon on postprandial blood glucose, gastric emptying and satiety in healthy subjects. *American Journal of Clinical Nutrition* 85, 1552– 1556.
- Holdsworth SR, Summers SA (2008): Role of Mast Cells in Progressive Renal Diseases. *J Am Soc Nephrol*, 19, 2254–2261.
- Hollenbeck C, Reaven GM. Variations in insulin stimulated glucose uptake in healthy individuals with normal glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;64:1169-73.
- Huh JY, Park YJ, Ham M, Kim JB. Crosstalk between adipocytes and immune cells in adipose tissue inflammation and metabolic dysregulation in obesity. *Mol Cells* 2014; 37: 365-371.
- Humayun F, Domingo-Fernandez D, Paul George AA, Hopp MT, Syllwasschy BF, Detzel MS, et al. A computational approach for mapping heme biology in the context of hemolytic disorders. *Front Bioeng Biotechnol.* (2020) 8:74. doi: 10.3389/fbioe.2020.00074.
- Imparl-Radosevich, J., Deas, S., Polansky, M.M., Baedke, D.A., Ingebritsen, T.S., Anderson, R.A., Graves, D.J.(1998), Regulation of PTP-1 and insulin receptor kinase by fractions from cinnamon: implications for cinnamon regulation of insulin signalling. *Hormone Research* 50(3), 177-182.
- Irani AA, Schechter NM, Craig SS, DeBlois G, Schwartz LB. Two types of human mast cells that have distinct neutral protease compositions. *Proc Natl Acad Sci* 1986, 88:4464-4468.
- Jafari SM, Assadpoor E, He Y, Bhandari B 2008. Encapsulation Efficiency of Food Flavours and Oils during Spray Drying. *Drying Technology* 26: 816–835.
- Janssens S, Beyaert R. Role of toll-like receptors in pathogen recognition. *Clin Microbiol Rev* (2003) 16:637–46. doi:10.1128/CMR.16.4.637-646.2003
- Jarvill-Taylor, K.J., Anderson, R., Graves, D. (2001), A hydroxychalcone derived from cinnamon function as a mimetic for insulin in 3T3-L1 adipocytes. *Journal of American College of Nutrition* 20, 327-336.
- Jastrow, H., 2005. Overview Mast Cells, <http://www.unimainz.de/FB/Medizin/Anatomie/workshop/EM/EMMastzE.html>.
- Jiang D, Liang J, Noble PW (2010) Regulation of non-infectious lung injury, inflammation, and repair by the extracellular matrix glycosaminoglycan hyaluronan. *Anat Rec* 293: 982–985.
- Jingqiu, He-Yang, Wenting Zhang, Jie Liu, Peng Xue, Xiaoying Zhou, (2020). Human breast milk oligosaccharides attenuate necrotizing enterocolitis in rats by

suppressing mast cell accumulation, DPPI activity and TLR4 expression in ileum tissue, and regulating mitochondrial damage of Caco-2 cells. 2020 Nov;88:106881

- John PWM. Statistical Design and Analysis of Experiments. 1 st ed. NewYork, NY, USA: Macmillan; 1971.
- Joshi RL, Lamothe B, Cordonnier N, Mesbah K, Monthieux E, Jami J, et al. Targeted disruption of the insulin receptor gene in the mouse results in neonatal lethality. *EMBO J* 1996;15:1542-7.
- Jungi TW, Farhat K, Burgener IA, Werling D. (2011): Toll-like receptors in domestic animals. *CellTissue Res.* 343:107–20. doi:10.1007/s00441-010-1047-8.
- Junqueira, L. C., Carneiro, J. (2005). Basic Histology Text and Atlas. 11th Ed. United States of America: The McGraw-Hill. p.: 97-100.
- Junquera LC, Carneiro J. Basic Histology; 10 th ed. MCgRAW-Hill Companies, 2003:101-115
- Kanzler H, Barrat FJ, Hessel EM, Coffman RL. Therapeutic targeting of innate immunity with toll-like receptor agonists and antagonists. *Nat Med* (2007) 13:552–9. doi:10.1038/nm1589.
- Karaca N, Ozturk G, Gerceker BT, et al. TLR2 and TLR4 gene polymorphisms in Turkish vitiligo patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013;27:e85-90.
- Karaca T, Yörük M (2005): Mast hücre heterojenitesi, *YYÜ Vet Fak Derg*, 16: 57-60
- Kawai T, Akira S. (2010): The role of patternrecognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol.* 11(5): 373- 384.
- Kawai T, Akira S. (2010): The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol.* 11:373–84. doi: 10.1038/ni.1863.
- Keskin H 1982 Besin Kimyası Cilt:2, Baskı:4, Fatih Yayınevi ve Matbaası, İstanbul.
- Khadem, H., Farsad, A.R., Pourghassem, B., Ali-Asgharzadeh, A., Nemati, A.(2010), Effect of cinnamon on glycemic control and insulin resistance in type II diabetes patients: A randomized clinical trial. *Journal of Ardabil University of Medical Science* 10(4), 295-302.
- Khan, A., Bryden, N.A., Polansky, M.M., Anderson, R.A. (1990), Insulin potentiating factor and chromium content of selected foods and spices. *Biological Trace Element Research* 24(3), 183-188.
- Khan, A., Safdar, M., Khan, M.M.A., Khattak, K.N., Anderson, R.A. (2003), Cinnamon Improves Glucose and Lipids of People with Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 26, 3215–3218.
- Kılınç, E. & Baranoğlu, Y. (2020). Mast cell stabilizers as a supportive therapy can contribute to alleviate fatal inflammatory responses and severity of pulmonary complications in COVID-19 infection . *Anatolian Clinic the Journal of Medical Sciences , Anadolu Kliniği Tıp Bilimleri Dergisi (COVID 19 Özel Sayısı) ,* 111-118 .
- Kim, S.H., Hyun, S.H., Choung, S.Y. (2005), Anti-diabetic effect of cinnamon extract on blood glucose in mice. *Journal of Ethno pharmacology* 18, 3953-3958 *Kitabevi* 2001;51-61, 63-7, 69-81, 215-17, 237-43.
- Koehler's Medicinal-Plants (1887) *Cinnamomum Zeylancium* (C. Verum) <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Koeh-182.jpg>

- Krystel-Whittemore M, Dileepan KN, Wood JG. (2016) Mast Cell: A multi-functional master cell. *Front Immunol* 2016;6:620.
- Kumar H, Kawai T, Akira S. 2011. Pathogen recognition by the innate immune system. *Int. Rev. Immunol.* 30(1): 16-34.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Robbins Temel Patoloji, 7. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri 2003;642.
- Le, T.H., Coffman. T. M. (2006): A New Cardiac MASTer Switch for the ReninAngiotensin System. *J Clin Invest.*, 116: 866-869.
- Lee SM, Kok KH, Jaume M, Cheung TK, Yip TF, Lai JC, Guan Y, Webster RG, Jin DY, Peiris JS. 2014. Toll-like receptor 10 is involved in induction of innate immune responses to influenza virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 111(10): 3793-3798.
- Leung AY, Foster S 1996: *Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs and Cosmetics*. Second edition, New York: Wiley, 168-170.
- Lin T, Befus AD (2002): Mast Cells in Mucosal Defense and Pathogenesis. In: *Mucosal Immunity Volume 1*, Ed.: J. Mestecky, M. E. Lamm, W. Strober, J. Bienstock, J. R. McGhee, L. Mayer. Elsevier Academic Press, United States of America.
- Lois K, Kumar S. Obesity and diabetes. *Endocrinol Nutr* 2009; 56(4): 38-42.
- Lopez, P., Sanchez, C., Battle, R., Nerin, C. (2005), Solid- and vapour-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected food borne bacterial and fungal strains. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 53(17), 6939-6946.
- Lu YC, Yeh WC, Ohashi PS. LPS/TLR4 signal transduction pathway. *Cytokine*. (2008) 42:145–51. doi: 10.1016/j.cyto.2008.01.006.
- Madjene LC, Pons M, Danelli L, Claver J, Ali L, Madera-Salcedo IK, Kassas A, Pellefigus C, Marquet F, Dadah A, Attout T, El-Ghoneimi A, Gautier G, Benhamou M, Charles N, Daugas E, Launay P, Blank U (2015): Mast cells in renal inflammation and fibrosis: Lessons learnt from animal studies. *Mol Immunol*, 63(1): 86-93.
- Mancek-Keber M, Jerala R. Postulates for validating TLR4 agonists. *Eur J Immunol*. (2015) 45:356–70. doi: 10.1002/eji.201444462
- Mange, B., Wolters, M., Schmitt, B., Kelb, K., Lichtinghagen, R., Stichtenothand, D.O., Hahn, A. (2006), Effects of a cinnamon extract on plasma glucose, HbA1c, and serum lipids in diabetes mellitus type 2. *European Journal of Clinical Investigation* 36, 340–344.
- Martin BC, Warram JH, Krolewski AS et al. Role of glucose and insulin resistance in development of type 2 diabetes mellitus: results of a 25-year follow-up study. *Lancet* 1992;340:925-9.
- Mauvais-Jarvis F, Kulkarni RN, Kahn CR. Knockout models are useful tools to dissect the pathophysiology and genetics of insulin resistance. *Clin Endocrinol* 2002;57
- McJURDY, J. D., Lin, T. J., Marshall, J. S. (2001). Toll-like Receptor 4-Mediated Activation of Murine Mast Cells. *J Leukoc Biol.*, 70(6): 977-84.
- McNeil HP, Gotis-Graham I. Human mast cell subsets-distinct functions in inflammation? *Inflam Res* 2000, 49:3-7.
- Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA Jr. (1997). A Human Homologue of the Drosophila Toll Protein Signals Activation of Adaptive Immunity. *Nature*. 388(6640): 394-397.

- Meng Y, Gao X, Chen W, Plotnikoff NP, Griffin N, Zhang G, et al. . Methionine enkephalin (MENK) mounts antitumor effect via regulating dendritic cells (DCs). *Int Immunopharmacol.* (2017) 44:61–71. 10.1016/j.intimp.2017.01.004
- Metcalfe, D. D., Richard, D., Peavy, R. D., Alasdair, M., Gilfillan, A. M. (2009). Mechanisms of Mast Cell Signaling in Anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol.*, 124: 639-646.
- Metcalfe, D.D., Baram, D. and Mekori, Y.A., 1997. Mast Cells, *Physiol. Rev.*, 1033-1079.
- Metcalfe, D.D., Baram, D., Richard, D., Peavy, D., Alasdair, M., Gilfillan A.M. (2009). Mechanisms of Mast Cell Signaling in Anaphylaxis. *J Allergy Clin Immunol.*, 124:639-646
- Molderings, G. J. (2010). Mast Cell Function in Physiology and Pathophysiology. *Biotrend Reviews*. Review. 5(1).
- Morioka N, Miyauchi K, Miyashita K, Kochi T, Zhang FF, Nakamura Y, et al. Spinal high-mobility group box-1 induces long-lasting mechanical hypersensitivity through the toll-like receptor 4 and upregulation of interleukin-1beta in activated astrocytes. *J Neurochem.* (2019) 150:738– 58. doi: 10.1111/jnc.14812.
- Naas, R., Moher, M. (2009), Complementary and alternative medicine for the treatment of type 2 diabetes. *Canadian Family Physician* 55, 591-596.
- Norrbj K. Mast cells and angiogenesis. *APMIS* 2002, 110; 355-71
- Novak N, Bieber T and Peng WM: The immunoglobulin E-Toll-like receptor network. *Int Arch Allergy Immunol* 151: 1-7, 2010.
- Onderoglu, S., Sozer, S., Erbil, K.M., Ortac, R., Lermioglu, F. (1999), The evaluation of long term effects of cinnamon bark and olive leaf on toxicity induced by streptozotocin administration to rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 51, 1305–1312.
- On'kin JBKL, Longo-Mbenza B, Tchokonte-Nana V, Okwe AN and Kabangu NK: Hyperbolic relation between beta-cell function and insulin sensitivity for type 2 diabetes mellitus, malaria, influenza, *Helicobacter pylori*, *Chlamydia pneumoniae*, and hepatitis C virus infection-induced inflammation/oxidative stress and temporary insulin resistance in Central Africans. *Turk J Med Sci* 47: 1834-1841, 2017.
- Özkök, A., Gayetülbeyan Fi Tedbiri Bedenilİnsal , İnsan sağlığı Koruma Yöntemleri, VegaYayınları, Ankara 1992.
- Paul, A., Yokoyama, D., Yokoyama, W. (2011), Cinnamon Intake Lowers Fasting Blood Glucose: Meta-Analysis. *Journal of Medicinal Food* 14, 1–6
- PDR For Herbal Medicines, Montwale-New Jersey: Medical Economics Company, 2000.
- Pearce, F.L., Ali, H., Barett, K.E., Befus, A.D., Bienenstock, J., Brostoff, J., Ennis, M., Flint, K.C., Hudspith, B., Johnson, N.M., Leung, K.B.P., Peachell, P.T., 1985. Functional characteristics of mucosal and connective tissue mast cells of man, rat and other animals, *Int. Arch. Allergy appl. Immun.*, 77: 274-276.
- Perry BD, Rahnert JA, Xie Y, Zheng B, Woodworth-Hobbs ME and Price SR: Palmitate-induced ER stress and inhibition of protein synthesis in cultured myotubes does not require Toll-like receptor 4. *PLoS One* 13: e0191313, 2018.
- Pichler R, Afkarian M, Dieter BP, Tuttle KR. (2016). Immunity and inflammation in diabetic kidney disease: translating mechanisms to biomarkers and treatment

- targets. *Am J Physiol Renal Physiol* 312: F716 –F731, 2017. First published August 24, 2016; doi:10.1152/ajprenal.00314.2016
- Pirinçci, İ. (2007). Yerel Hormonlar, In: Veteriner Farmakoloji. Ed.: Sezai Kaya. Ankara: Medisan Yayın Serisi: 65, 6/32. p.:1-12.
- Prussin, C., Metcalfe, D. D. (2006). IgE, Mast Cells, Basophils, and Eosinophils. *J Allergy Clin Immunol.*, 117: 450-456.
- Rafehi H, Ververi K, Karagiannis TC. Controversies surrounding the clinical potential of cinnamon for the management of diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2012;14(4):493-9.
- Ren PC, Zhang Y, Zhang XD, An LJ, Lv HG, He J, et al. High-mobility group box 1 contributes to mechanical allodynia and spinal astrocytic activation in a mouse model of type 2 diabetes. *Brain Res Bull.* (2012) 88:332–7. doi: 10.1016/j.brainresbull.2012.03.002.
- Richarlisson, Borges de Moraes, Victor Pereirado Couto Muniz, Emerson Nunes Costa, Sebastião Rodrigues Ferreira Filho, Karen Renata Nakamura Hiraki, Luiz Borges Bispo-da-Silva, Ana Paula Coelho Balbi, (2018). Mast cell population in the development of diabetic nephropathy: Effects of renin angiotensin system inhibition. *Biomedicine & Pharmacotherapy* Volume 107, November 2018, Pages 1115-1118.
- Ross, M. H., Pawlina, W. (2006). *Histology a Text and Atlas With Correlated Cell and Molecular Biology*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, p.: 169-172
- Ryota Kobayashi, Shinichi Okamura, Tatsukuni Ohno, Hirohisa Saito, Masatomo Mori, Chisei Ra, Yoshimichi Okayama, (2007). Hyperexpression of FcγRI and Toll-like receptor 4 in the intestinal mast cells of Crohn's disease patients. *Clin Immunol.* 2007 Nov;125(2):149-58. doi: 10.1016/j.clim.2007.07.008. Epub 2007 Sep 12.
- S.E. Jones, R.E. Gilbert, D.J. Kelly, (2004). Tranilast reduces mesenteric vascular collagen deposition and chymase-positive mast cells in experimental diabetes. *Journal of Diabetes and its Complications* Volume 18, Issue 5, September–October 2004, Pages 309-315.
- Sağlam M, Aştı RN, Özer A (2008): *Genel Histoloji*. Yorum Matbaacılık, Ankara.
- Samira, Muñoz-Cruz, Argelia Gomez-García, Félix Matadamas-Martínez, Juan A Alvarado-Torres, Patricia Meza-Cervantez, Lourdes Arriaga-Pizano, Lilián Yépez-Mulia, (2018). Giardia lamblia: identification of molecules that contribute to direct mast cell activation. 2018 Aug;117(8):2555-2567. doi: 10.1007/s00436-018-5944-1. Epub 2018 Jun 2.
- Samuelson, D. A. (2007). *Textbook of Veterinary Histology*, China: Saunders Elsevier, p.: 78-80.
- Sangal, A. (2011), Role of cinnamon as beneficial antidiabetic food adjunct: a review. *Advances Applied Scientific Research* 2 (4), 440-450.
- Sasai M, Linehan MM, Iwasaki A. 2010. Bifurcation of Toll-like receptor 9 signaling by adaptor protein 3. *Science*. 329(5998): 1530-1534.
- Shelburne CP and Abraham SN: The mast cell in innate and adaptive immunity. *Adv Exp Med Biol* 716: 162-185, 2011.
- Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzameli I, Yin H, Flier JS. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *Clin Invest* 2006; 116(11): 3015-3025.

- Shi Z, Cai Z, Sanchez A, Zhang T, Wen S, Wang J, Yang J, Fu S, Zhang D. 2011. A novel Toll-like receptor that recognizes vesicular stomatitis virus. *J Biol Chem.* 286(6): 4517-4524.
- Silver, R. B., Reid, A.C., Mackins, C.j., Askwith, T., Schaefer, U., Herzlinger, D., Levi, R. (2004). Mast Cells: A Unique Source of Renin. *PNAS*, 101(37): 13607-13612.
- Skidmore Roth, L. (2003), *Handbook of Herbs and Natural Supplements* (2nd Ed.) St. Louis Company: Mosby.
- Solymoss BC, Bourassa MG, Lespérance J, LevesqueS, Marcil M, Varga S, Campeau L. Incidence and clinical characteristics of the metabolic syndrome in patients with coronary arter disease. *Coron Artery Dis* 2003;14:207-12.
- Stuart, A.G. (2005), Cinnamon. İnternet Erişim Sitesi: <http://www.herbalsafety.utep.edu/herbs-pdfs/cinnamon.pdf> (22.11.2012)
- Svensson J, Eising S, Mortensen HB, et al. High levels of immunoglobulin E and a continuous increase in immunoglobulin G and immunoglobulin M by age in children with newly diagnosed type 1 diabetes. *Hum Immunol.* 2012; 73: 17–25.
- Swerdlow, J. L. (2007). ğıfalı Bitkiler, Doğanın eczanesinden 100 mucize, geleneksel ve modern tıpta kullanımı. *National Geographic Türkiye*, s.95.
- Şenyüz, M. ve Demirezen, Ş., 2000. Mast Hücresi Biyolojisi, *Klinik Bilimler&Doktor*, 6: (3), 412- 417.
- Takahashi K, Shibata T, Akashi-Takamura S, Kiyokawa T, Wakabayashi Y, Tanimura N, Kobayashi T, Matsumoto F, Fukui R, Kouro T, Nagai Y, Takatsu K, Saitoh S, Miyake K. 2007. A protein associated with Toll-like receptor (TLR) 4 (PRAT4A) is required for TLRdependent immune responses. *J Exp Med.* 204(12): 2963-2976.
- Tanker, M., Tanker, N. (1990). *Farmakognazi*, cilt 2 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları 65, 347-349
- Tanyeri F.: Diabetes Mellitusun sınıflandırılması ve Prevelansı. *Aktüel Tıp Dergisi*, 7: 500 – 503 1996.
- Tanyolaç, A. (1999). *Özel Histoloji*, Ankara: Yorum Basın Yayın Sanayi. p.: 119-129.
- Telser, A. G., Young, J. K., Baldwin, K. M. (2007). *Elsevier's Integrated Histology*, China: Mosby Elsevier, p.; 102-104.
- Tizard, I. R. (1984). *Immunogy. An inturoduction*. Halt-Saunders International Editors. Japan: Saunders College Publishing, p.: 354-360.
- True LD. *Principles of immunohistochemistry*. Gower Medical Publishing, New York, 1990.
- Underhill DM, Ozinsky A, 2002. Toll-like receptors: key mediators of microbe detection. *Curr Opin Immonol*, 14 (1): 103- 110.
- Vabulas RM, Ahmad-Nejad P,da Costa C,Miethke T,Kirschning CJ,Hacker H, et al. Endocytosed HSP60s use toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 to activate the toll/interleukin-1 receptor signaling pathway in innate immune cells. *J Biol Chem* (2001) 276:31332–9. doi:10.1074/jbc.M103217200.
- Watkins PJ., Drury PL., Howell SL.: *Diabetes and its a managenant* 5th ed. Blackwell Co p:3 1996.
- Werling D, Jungi TW, 2003. Toll-like receptors linking innate and adaptive immune response. *Vet Immunol Immonopathol.* 91: 1-12.

- Wernersson S, Pejler G (2014): Mast cell secretory granules: armed for battle. *Nat Rev Immunol*, 14(7): 478-94.
- White, M.F. (2008). *Insulin*. AccessScience
- Yang H, Hreggvidsdottir HS, Palmblad K, Wang H, Ochani M, Li J, et al. A critical cysteine is required for HMGB1 binding to Toll-like receptor 4 and activation of macrophage cytokine release. *Proc Natl Acad Sci USA*. (2010) 107:11942–7. doi: 10.1073/pnas.1003893107
- Yenigün M (Editör). İnsülin direnci ve ölçüm metodları. In: Altuntaş Y. Her yönüyle diabetes mellitus. 2nci Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi, 2001:839-52.
- Yeşilada, E. (2012), Tarçın kan şekerini düşürmede etkili mi? Yeditepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi. Internet Erişim Sitesi : <http://www.pharmetic.org/bilgi-bankasi/tarcin.pdf> (22.11.2012)
- Young, B., Heath, J.W. (2000). *Weather's Functional Histology a Text and Colour Atlas* 4th Ed., Spain: Churchill Livingstone. p.: 85.
- Zahmatkesh, M., Fallah Hoseyni, H. Haji Agayi, R., Heydari, M., Mehrafarin, A., Tavakkoli fard, B. (2010), Tarçının tip 2 diyabet hastalarının kan şekeri üzerine etkisi. *İran bitki ilaç dergisi* 8, 258-263.
- Zhang J, Shi GP. Mast cells and metabolic syndrome. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1822: 14-20.



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 68489742-604.01.03-E.6122
Konu : Hadyek izini hk

11/03/2020

DR. ÖĞR. ÜYESİ TUĞRUL ERTUĞRUL
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ

Laboratuvar hayvanları üzerinde Araştırma amaçlı çalışma yapmak üzere başvuran Dr. Öğr. Üyesi Tuğrul ERTUĞRUL' un 2020/16 Kabul nolu **"Deneysel diyabet oluşturulmuş rat böbreğinde tarçın ekstratının Toll-like reseptör 4 (TLR4) ekspresyonuna ve mast hücrelerinin sayısal dağılımına etkisinin incelenmesi."** başlıklı projesi 05.03.2020 tarihli Kurul toplantısında OMU-HADYEK'in yönergesi kapsamında değerlendirilmiş ve Hayvan Hakları ve Deney Etik İlkelerine Uygun bulunmuştur. Karar onayı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-imzalıdır

Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ
HADYEK Başkanı

EK: ETİK KURUL KARARI 2020 – 16 T. ERTUĞRUL

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü
Telefon: 0362 312 19 19 Faks: 0362 457 60 91
Elektronik Ağ: <http://www.omu.edu.tr/>



Kep Adresi:
omu@hs01.kep.tr

Hayriye ÇELİK
Dahili Tel: 2588

5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu'na uygun olarak Güvenli Elektronik İmza ile üretilmiştir.
Evrak teyidi <https://ebysorgu.omu.edu.tr> adresinden SYSP-SOUE-ORIH kodu ile yapılabilir.

ÖZ GEÇMİŞ

Hülya ŞEN, Samsun Yakakent Anadolu Lisesi’ni bitirdikten sonra Amasya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi’nden Hemşirelik bölümünden 2017 yılında mezun oldu. 2019 yılında OMÜ LEE Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Yüksek Lisans programına girdi. Temel ilgi alanları, tarih ve edebiyattır.

İletişim Bilgileri

ORCID ID : 0000-0002-7190-0618.



