

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ - EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**RAT AKCİĞERLERİNDEKİ ENDOKRİN
HÜCRELERİN POSTNATAL PERİYOTTA
İMMUNOHİSTOKİMYASAL ÇALIŞMALAR
İLE İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

**ALİ BAYRAKDAR
ELAZIĞ – 2006**

ONAY SAYFASI

Prof.Dr. Necip İLHAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof.Dr. Aydın GİRĞİN

Anabilim Dalı Başkanı

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

Yrd.Doç.Dr. Berrin G. TARAKÇI

Danışman

Yüksek Lisans/Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Doç.Dr. Güner KÜÇÜKBAYRAM

Prof.Dr. Aydın GİRĞİN

Prof. Dr. Harun ÖZER

Prof. Dr. Gürsel DİNÇ

Yrd.Doç.Dr. Berrin G. TARAKÇI

TEŞEKKÜR

Öncelikle doktora çalışmamda danışmanlığımı üstlenmesinden ve çalışma süresince yardımlarını esirgememesinden dolayı hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Berrin GENCER TARAKÇI'ya teşekkürlerimi borç bilirim. Ayrıca Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Aydın GİRGİN'e ve Anabilim Dalımızın diğer üyeleri ve çalışma arkadaşlarım Yrd.Doç.Dr. Mine YAMAN'a, Yrd.Doç.Dr. Sema TİMURKAAN'a ve Arş.Gör. Fatih Mehmet GÜR'e teşekkürlerimi bildiririm. Özellikle çalışmam süresince iyi ve kötü günlerimde hep yanımda olan ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen saygıdeğer eşim Vet. Hekim Serpil Hanıma teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca bugüne kadar üzerimde büyük emekleri olan saygıdeğer annem Zeliha Hanıma ve babam Ali Beye teşekkürlerimi iletirim. Çalışmamı doğduğu günden beri yuvamızın ayrı bir neşe kaynağı olan kızım İkbal Umay'a armağan ediyorum.

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (FÜBAP) tarafından 690 numaralı proje olarak desteklenmiştir. Çalışmaya sağlamış oldukları maddi destekten dolayı FÜBAP kurumuna teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u> <u>No</u>
BAŞLIK SAYFASI.....	i
ONAY SAYFASI.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
KISALTMALAR.....	vii
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT.....	2
3. GİRİŞ.....	3
3.1. <i>PNEC</i> Sistemin Lokalizasyonu ve Işık Mikroskopik Görünümü.....	4
3.2. <i>PNEC</i> Sistemin İnnervasyonu	7
3.3. <i>PNEC</i> Sistemin Görevleri	8
3.3.1. Kemoreseptör Etki.....	8
3.3.2. Akciğer Gelişimi ve Olgunlaşması Üzerine Etkisi	11
3.3.3. Bronkomotor Tonusun Düzenlenmesi.....	12
3.3.4. İmmunomodulasyon.....	12
3.4. <i>PNEC</i> Sistemde İncelenen Bazı Amin ve Peptid Maddeler.....	13
3.4.1. <i>Serotonin (5HT)</i>	13
3.4.2. <i>Calcitonin Gene Related Peptide (CGRP)</i>	14
3.4.3. <i>Calcitonin (Kalsitonin)</i>	16
3.4.4. <i>Cholecystokinin (CCK, kolesistokinin)</i>	16

3.4.5. <i>Somatostatin</i>	17
3.4.6. <i>Vasoactive Intestinal Polypeptide (VIP)</i>	18
3.5. Postnatal Dönemde <i>PNEC</i> Yoğunluğunda Görülen Değişimler.....	19
4. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	22
5. BULGULAR.....	25
6. TARTIŞMA.....	29
7. ŞEKİLLER.....	39
8. KAYNAKLAR.....	48
9. ÖZGEÇMİŞ.....	58

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
	<u>No</u>
Şekil 1: 5 günlük rat akciğer dokusunda, bronş epitelinde <i>5HT-IR</i> NEB'ler.....	40
Şekil 2: 15 günlük rat akciğer dokusunda, alveol duvarında görülen <i>5HT-IR</i> bir NEB..	40
Şekil 3: 20 günlük rat akciğer dokusunda, alveol duvarında görülen <i>5HT-IR</i> bir NEB..	41
Şekil 4: 30 günlük rat akciğer dokusunda, alveol duvarında görülen <i>5HT-IR</i> bir NEB..	41
Şekil 5: Ergin rat akciğer dokusunda, bronş duvarında görülen <i>5HT-IR</i> bir NEB	42
Şekil 6: 5 günlük rat akciğer dokusunda, alveol duvarında görülen <i>CGRP-IR</i> bir NEB.	42
Şekil 7: 10 günlük rat akciğer dokusunda, bronşiyol duvarında görülen <i>CGRP-IR</i> NEC	43
Şekil 8: 5 günlük rat akciğer dokusunda, bronşiyol duvarında belirlenen <i>calcitonin-IR</i> NEC	43
Şekil 9: Ergin rat akciğer dokusunda, bronş duvarında tespit edilen <i>calcitonin-IR</i> NEC	44
Şekil 10: 5 günlük rat akciğeri dokusunda, alveol paraşiminde tespit edilen <i>CCK-IR</i> bir NEB	44
Şekil 11: 10 günlük rat akciğeri dokusunda, alveol duvarında belirlenen <i>CCK-IR</i> NEB	45
Şekil 12: Ergin rat akciğeri dokusunda alveol paraşiminde bulunan <i>CCK-IR</i> bir NEB	45
Şekil 13: 5 günlük rat akciğeri dokusunda, bronşiyol duvarında belirlenen <i>somatostatin-IR</i> NEB	46
Şekil 14: 10 günlük rat akciğer dokusunda, alveol duvarında görülen <i>somatostatin-IR</i> NEB	46
Şekil 15: 25 günlük rat akciğer dokusunda, alveol duvarında görülen <i>somatostatin-IR</i> bir NEB	47
Şekil 16: Ergin rat akciğer dokusunda alveol duvarında <i>somatostatin-IR</i> NEB.....	47

KISALTMALAR

5HT: 5-hydroxytryptamine, serotonin

APUD: Amine precursor uptake and decarboxylation

BSA: Bovine serum albumine

CCK: Cholecystokinin, kolesistokinin

CGRP: Calcitonin gene related peptide, kalsitonin gen ilişkili peptid

GDN: glukoz-oksidaz diamino benzidine nikel

H₂O₂: hydrogene peroxide, hidrojen peroksit

Ig: Immunoglobuline

IR: Immunoreaktivite, immunoreaktif

MSS: Merkezi sinir sistemi

NEB, NEBs: Neuroepithelial body (bodies), nöroepitelyal cisimcik(ler)

NEC: Neuroendocrine cell, nöroendokrin hücre

PBS: Phosphate buffer saline, fosfat tamponu

PNEC: Pulmoner neuroendocrine cell, akciğer nöroendokrin hücre

VIP: Vasoactive intestinal polypeptide

1.ÖZET

Bu çalışmada Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezinden (FÜTDAM) temin edilen 18 adet gebe Wistar rat kullanıldı. Eter ile anestezi sonrası her grup için dörder (4'er) adet rat kullanılmak üzere yeni doğmuş, neonatal 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 günlük ratlar ile ergin ratlardan toplam 32 adet akciğer dokusu alınarak, İHK (immunohistokimya) boyama metotları için uygun işlemlerden geçirildi.

Doku örnekleri *serotonin* ile *CGRP*, *kalsitonin*, *CCK*, *somatostatin* ve *VIP* bakımından incelendi. Tüm ratların akciğer endokrin hücrelerinde *serotonin*, *CGRP*, *kalsitonin*, *CCK* ve *somatostatin* immunoreaktivitesi gözlemlendi. Endokrin hücrelerde *VIP* immunoreaktivitesine rastlanmadı. Pozitif akciğer endokrin hücreler ya tek olarak bulunan (*NECs*, neuroendocrine cells) veya kümelerden (*NEBs*, neuroepithelial bodies) oluşan formlardan ibaret olarak gözlemlendi.

Erken neonatal periyotlarda, rat akciğerlerindeki *serotonin* ve *CGRP-IR* hücreler, sayı bakımından yüksek olarak belirlendi. İmmunoreaktif hücrelerin sayısı kısa bir süre sonra azalmış olarak gözlemlendi. *Kalsitonin*, *CCK* ve *somatostatin-IR* hücreler, tüm gruplarda, eşit yoğunlukta ve seyrek olarak saptandı.

Sonuç olarak; sunulan çalışma ile özellikle *serotonin* ve *CGRP*'nin neonatal periyotta fonksiyonel olduğu, akciğer gelişiminde ve neonatal hayata adaptasyonda önemli görevler üstlendiği görüşüne varıldı.

Anahtar Kelimeler: Rat, akciğer, PNEC, İHK

2. ABSTRACT

In the present study eighteen (18) pregnant rat which have been taken from University of Firat Experimental Research Centers were used. After euthanasia with ether, tissue samples from lungs of newborn, neonatal 5, 10, 15, 20, 25, and 30 days old and adult rats (4 from each group, totally 32 rats) were taken and processed for IHC (immunohistochemistry) staining methods.

Tissue samples were examined with regard to *serotonin*, *CGRP*, *calcitonin*, *CCK*, *somatostatin* and *VIP-IR*. *Serotonin*, *CGRP*, *calcitonin*, *CCK*, *somatostatin-IR* were observed in pulmonary endocrine cells of all rats. No immunoreactivity was seen in endocrine cells for *VIP*. Positive pulmonary endocrine cells were seen in either solitary (*NECs*, neuroendocrine cells) or clusters (*NEBs*, neuroepithelial bodies) form.

Serotonin and *CGRP-IR* cells were high in number in the lung of rats in early neonatal periods. The number of these immunoreactive cells were decreased shortly thereafter. *Calcitonin*, *CCK* and *somatostatin-IR* cells were rare and in same dense in all group.

As a conclusion, the present study suggest that *serotonin* and *CGRP* may more effective in neonatal period such as lung development and adaptation to neonatal life.

Key Words: Rat, lung, PNEC, IHC

3. GİRİŞ

Pek çok araştırıcının bildirdiğine gre, akciğerlerdeki endokrin hücreler, ilk kez Feyrter tarafından 1938 yılında ortaya konmuştur (28, 94, 109, 110). Yine bazı araştırıcıların bildirdiğine göre, Fröhlich, 1949 yılında, bu hücreleri, hematoksilen ve eozin boyamasına karşı ilgisiz olmaları nedeni ile “*şeffaf hücreler*” (helle zellen, clear cells) olarak adlandırmıştır (95, 98, 110). Fröhlich, argirofil tekniğini kullanarak, ilk kez, sinir sonları ile bu şeffaf hücrelerin bazal sitoplazmaları arasındaki ilişkiyi göstermiş, bu durum sonraları birçok araştırıcı tarafından teyit edilmiştir. Bu yöntem ile metalik gümüş, bu hücrelerin sitoplazmasında çökelek oluşturmakta ve hücrelerin boyanmasına neden olmaktadır (93, 95).

Değişik araştırıcılar, yaptıkları yayınlarda, ğu zaman bu hücreleri farklı isimler ile ifade etmişlerdir. Bazı araştırıcılar, bu hücrelere, onları ilk bulan araştırıcının isminden esinlenerek *Feyrter hücreleri* ismini vermişlerdir (102). Bazı araştırıcılar, bu hücreler için, gastrointestinal kanaldaki enterokromafin hücrelerine benzemelerinden dolayı, *enterokromafin benzeri hücreler* (37) ve *Kultschitzky benzeri hücreler* (11, 23) isimlerini kullanmışlardır. Ayrıca, bu hücrelerin gümüş tutma özelliklerine dayanarak *argirofilik hücreler* ismi de zaman zaman kullanılmıştır (67, 113). Bu hücreler için zaman zaman kullanılmış diğer isimler ise *kromafin hücreler* (8), *endokrin hücreler* (46, 47), *endokrin-benzeri hücreler* (22, 48), *nrosekretr hücreler* (10) , *küçük granüllü hücreler* (78), *küçük granüllü endokrin hücreler* (103), *biyojenik amin içeren hücreler* (36) yada *nöroendokrin hücreler* (58, 71)

şeklinde. Aminoasitleri yapısına katma özelliklerinden esinlenerek, bazı yazarlar, bunlara *APUD hücreleri* (92, 101) ismini de vermişlerdir.

Akciğerlerdeki epitel katman içerisinde tek tek yerleşen endokrin hücrelere *tek nöroendokrin hücreler (NEC)* (25, 41, 45, 121), *tek nöroepitelyal endokrin hücreler* (93) veya *tek pulmoner nöroendokrin hücreler* (39, 120), hücre kümeleri şeklinde yerleşim gösterenlere de *nöroepitelyal cisimcikler (NEB)* (64, 65, 73, 93, 121) adı verilmektedir. *NEB* adı ilk kez Lauweryns ve ark. (1972) tarafından ortaya atılmıştır ve akciğerlerdeki endokrin hücre kümeleri için günümüzde çok yaygın olarak kullanılmaktadır (64). Her iki akciğer endokrin hücre tipine birlikte *PNEC* sistemi adı verilmektedir (27, 55, 121).

3.1. *PNEC* Sistemin Lokalizasyonu ve Işık Mikroskopik Görünümü

Yapılan çalışmalar, *NEC*'lerin hem ekstrapulmoner, hem de intrapulmoner solunum yolları epitel katmanında, *NEB*'lerin ise sadece intrapulmoner solunum yolları epitel katmanında lokalize olduklarını göstermektedir (21, 23, 41, 53, 64, 73, 120).

NEB'ler; sinir innervasyonuna sahip, amin ve peptid maddeler içeren epitelyal hücre kümeleri olup, insan dahil birçok memelinin solunum yollarında bulunmaktadır (19, 27, 39, 54, 62, 65, 93, 110, 129). Yapılan çalışmalar ile türler arasında, *NEB*'lerin, yapı ve morfoloji bakımından büyük benzerlik, büyüklük bakımından ise değişkenlik gösterdikleri saptanmıştır (41, 98, 121, 126). Gomez-Pascual ve ark. (1990), yaptıkları çalışmada, 3-17 hücre içeren *NEB*'ler ile karşılaşmışlardır. Bu araştırmacılar, *NEB*'lerin ekstrapulmoner ve

intrapulmoner solunum yollarında, bifurkasyonlar gibi tercihli yerleşim yerlerinin olmadıklarını bildirmişlerdir (41). Shimosegawa ve Said (1991), *NEB*'leri, 2-30 hücrenin sıkı bir şekilde kümeleşmesi sonucu şekillenen yapılar olarak tespit etmişlerdir (98). Van Lommel ve ark. (1999), *NEB*'lerin 20 veya daha fazla hücrenin birleşmesi ile meydana geldiklerini belirtmişlerdir (121). Verastegui ve ark. (1997), çalışmalarında, *NEB*'lerin 3-10 hücreden oluştuklarını, bazen bu sayının 10'u da geçtiğini ifade etmişlerdir (126). *NEB*'lerin, daha çok üçgen, pirizmatik veya silindirik şekilli hücrelerden oluştuğu gözlenmiştir (95, 98, 99).

NEB'lere yönelik yapılan çalışmaların çoğunluğunda, bunların hem solunum yolları lumeni, hem de bazal membran ile temas kurdukları (5, 24, 41, 99) ve solunum yolları bifurkasyonlarında veya yakınlarında daha yoğun yerleşme eğiliminde oldukları (18, 28, 38, 119, 123) ortaya konmaktadır. Bazı *NEB*'lerin solunum yolu lumeni ile iştirak halinde olmadıkları, apikal ve lateral yüzlerinin Clara hücreleri tarafından kapatıldığı belirlenmiştir (24, 86, 95, 109, 120, 121). *NEB*'lerin, onları örten Clara hücreleri ile arasında bulunan küçük porlar vasıtasıyla, solunum yolları lumeni ile irtibat kurduğu ifade edilmiştir (120, 123). *NEB*'ler, bazen geniş yüzü bazal lamina üzerine gelecek şekilde yerleşim göstermektedir (41, 94). Yapılan incelemelerde, bazı *NEB*'lerin solunum yolları lumenine doğru çıkıntı oluşturdukları (94, 122, 123), bazı *NEB*'lerin ise epitel katman içerisinde gizlendikleri ve alttaki bağdokuya doğru girinti yaptıkları (86, 94) tespit edilmiştir. Bazı *NEB*'ler, kendilerini oluşturan hücrelerin bazal membran üzerinde komşu hücrelere doğru yan yana dizilmeleri ile şekillenmişlerdir (41, 94).

NEC'ler; ekstrapulmoner ve intrapulmoner solunum yollarında bulunmakta, ancak daha yoğun olarak ekstrapulmoner solunum yollarında yerleşim göstermektedir (23, 41). Dayer ve ark. (1985) incelemelerinde, *NEC*'leri üçgen şekilli, lumene doğru uzanan ve sadece büyük bronşlarda bulunan hücreler olarak belirlemişlerdir (28). Verastegui ve ark. (1997), *NEC*'leri, bronş ve bronşiyollerde bazal membran üzerine oturmuş, piramidal şekilli, büyük bir çekirdeğe sahip, lumenle ilişkisi olmayan hücreler olarak tanımlamışlardır (126). Lauweryns ve Van Ranst (1987), *NEC*'leri alveol epitelinde belirlemişlerdir (70). Lauweryns ve ark. (1987), insan, fare ve domuz akciğerlerinde, farklı peptidleri kullanarak intrapulmoner solunum yolları boyunca immunoreaktif *NEC*'leri göstermişlerdir (71). Yapılan birçok çalışmada da, *NEC*'ler akciğerlerde daha az yoğun olmak üzere, tüm solunum yollarında belirlenmiştir (41, 57, 66, 121).

PNEC sistemin embriyolojik kökeni ile ilgili bilgiler arasında tutarsızlık bulunmaktadır. Bu konuda iki farklı görüş ortaya çıkmaktadır. Birinci ve ağırlıklı olan görüşe göre; *NEB*'ler akciğer endoderminden köken almaktadır (14, 104, 121). İkinci görüşe göre ise; *NEB*'ler nöral krista ektoderminden köken alarak şekillenmektedir (45).

3.2. PNEC Sistemin İnnervasyonu

Yapılan çalışmalar, *NEB*'lerin subepitel tabakada bulunan sinir iplikleri tarafından bazolateral yönden innerve edildiklerini ortaya koymaktadır (68, 70, 73, 84, 121, 126). *NEC*'lerin innervasyona sahip olup olmadıkları tam olarak bilinmemektedir (120). *NEB*'ler *NEC*'ler ile karşılaştırıldıklarında, daha belirgin innervasyona sahiptirler (95). Bu sebeple, Lauweryns ve ark. (1985), *NEB*'lerin *NEC*'lerden daha farklı fonksiyonel özelliklere sahip olabileceklerini ileri sürmüşlerdir (69). Bazı araştırmacılar ise *NEC*'lerin de sinir innervasyonuna sahip olduklarını bildirmişlerdir (34, 52). *NEB*'leri innerve eden intraepitelyal ve subepitelyal sinir iplikleri zaman zaman *NEB*'lerin bazal yüzü ile temas kurmaktadır (74, 119). Gomez-Pascual ve ark. (1990), yaptıkları incelemede, sinir iplikleri ile *NEC*'ler arasında açık bir bağlantı gözlememişlerdir (41). Sinir sonları, *NEB*'ler ile birleşme yerlerinde varikozlar oluşturmakta (120, 126), sinaptik vezikül ve mitokondriyon birikimleri göstermektedir (120). Sinir iplikleri daha çok bronş ve bronşiyol duvarında gözükmekte, epitel katman yanında, düz kas ve kan damarları ile de ilişki kurmaktadır (70, 75, 126).

NEB'lerin daha çok vagosensorik sinir iplikleri ile innerve edildikleri deneyler ile ortaya konmuştur (3, 27, 120). Yapılan başka bir çalışmada, *NEB*'lerin spinal sensorik sinirler tarafından daha fazla innerve edildiği bildirilmiştir (119). Hamster ve ratlarda, innervasyon postnatal gelişime bağlı olarak artmakta ve erginlerde en yüksek değerine ulaşmaktadır (124).

3.3. PNEC Sistemin Görevleri

PNEC sistemin görevi tam olarak aydınlatılamamasına rağmen, bildirilen görüşler ağırlıklı olarak kabul edilmektedir. Araştırmacılar, daha çok kemoreseptör (1, 25, 63, 124, 133), akciğer büyümesinin ve olgunlaşmasının düzenlenmesi (51, 105, 120), bronkomotor tonusun kontrolü (57, 107) ve immunomodulasyon (121, 125) konuları üzerinde durmuşlardır.

3.3.1. Kemoreseptör Etki

İlk olarak, Lauweryns ve Cokelaere (1973), *NEB*'lerin solunum yollarında, hipoksiye karşı duyarlılık gösteren intrapulmoner kemoreseptörler olarak görev yaptıklarını ve karotid cisimciklerin görevlerini tamamlayıcı bir etki gösterdiklerini ileri sürmüşlerdir (63). Daha sonra yapılan çalışmalarda elde edilen veriler, araştırmacılar tarafından bu görüşün çoğunlukla kabul görmesine neden olmuştur (1, 39, 121).

NEB'lere atfedilen kemoreseptör hipotezi üç dayanak üzerine oturmaktadır (124). Bunlardan birincisi; *NEB*'ler ile karotid cisimcik (77) ve tat tomurcukları (59) gibi bilinen kemoreseptörler arasında yakın yapısal benzerliklerin bulunmasıdır (124). *NEB*'ler de karotid cisimcikler gibi amin veya peptid maddeler içeren nörosekretör granüller içermektedir (2). İkincisi; *NEB*'lerin de vagal sensorik sinir iplikleri ile innerve edilmesidir (14, 109). Üçüncüsü; *NEB*'lerin de karotid cisimcikler gibi spesifik membran reseptörlerine (95) ve oksijene duyarlı K^+ kanallarına (38, 133) sahip olmasıdır. Yani *NEB*'ler, arteriyel kemoreseptörlerin solunum yollarındaki analogudurlar.

Aynı zamanda her iki kemoreseptör türü de hipoksiye cevap olarak bir amin olan *serotonin* salgılayarak yanıt vermektedir (38).

Fetal ve neonatal dönemde, karotid cisimcikler, erişkinler ile karşılaştırıldıklarında, hipoksiye karşı daha düşük kemosenitiviteye sahiptir (120, 127). Bu nedenle, *NEB*'ler, muhtemelen doğum sırasında ve sonrasında karotid cisimcikleri destekleyici bir görev üstlenmektedir (14, 19). *NEB*'lerin sinir sistemi tarafından innerve edilmesi ve yakınlarında pencereci kapillarların bulunması da bu iş için gereklilik oluşturmaktadır (109).

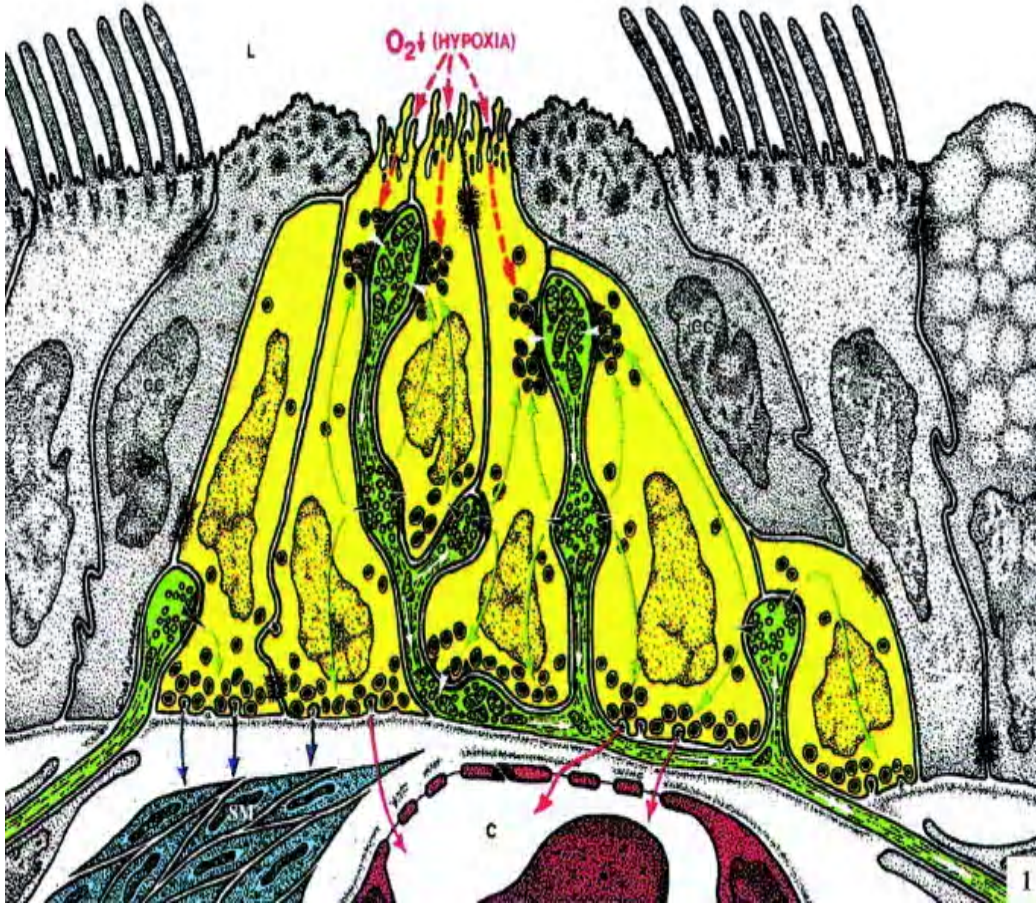
Doğum sırasında hipoksi ile birlikte salınan *serotonin*, doğum sonrasında solunumun başlaması ile birlikte azalmakta ve vazodilatasyon şekillenmektedir (95).

NEB'ler ile karotid cisimcikler arasında görevsel açıdan bir farklılık bulunmaktadır. *NEB*'ler, solunum yollarında bulunan havanın oksijensizliğine karşı duyarlı iken, karotid cisimcikler, daha çok arteriyel oksijen tarafından uyarılmaktadır. Bu durum, *NEB*'lerin yetersiz ventilasyona karşı daha çabuk tepki gösterdiğini ortaya koymaktadır (120). *NEB*'ler ile karotid cisimcikler arasındaki bir diğer farklılıkta, karotid cisimciklerin postnatal yaşam boyunca sayılarının artması ve belli bir süre sonra sabit kalmasıdır (19).

Hipoksi, *NEB*'leri oluşturan hücrelerin plazma membranında bir dizi değişiklik oluşturmak suretiyle, bu hücrelerin depoladıkları amin veya peptid türünden maddelerin salıverilmesine yol açmaktadır (1) (Şekil-A). Hipoksi şekillendiğinde, düşük oksijen düzeyine duyarlı bir protein/reseptör olan NADPH oksidaz (95) uyarılmakta ve H_2O_2 'de dahil olmak üzere reaktif oksijen türlerinin üretimi azalmaktadır. Bu durum K^+ kanallarının kapanmasına ve

hücre dışına K^+ akımının azalmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda, *NEB*'lerdeki hücrelerin membranlarında depolarizasyon şekillenmekte, ardından Ca^{2+} kanalları açılmakta ve ekstraselüler Ca^{2+} hücre içerisine girmektedir. Böylelikle *NEB*'lerde depolanan amin (*serotonin*) ekstraselüler alana verilmektedir (39, 72, 120, 129). Salınan bu maddeler, hipoksiye karşı lokal veya genel mekanizmalar ile düzenleyici etkilerini göstermektedir (124).

Solunum yollarındaki havanın oksijenden fakir olması, *PNEC* sisteme ait hücrelerden *serotonin* salınımına yol açmakta (19, 21, 38, 120), bu da akciğerlerde vazokonstriksiyona neden olmaktadır. Güçlü bir vazodilatör olan *CGRP* ise optimum O_2 düzeylerinde salınmakta, hipoksiye maruz kalındığında salınması azalmakta, dolayısıyla akciğerlerde vazokonstriksiyon şekillenmektedir. Bu da *serotonin* salınması ile oluşan etkinin aynısıdır (120).



Şekil A: Memeli *NEB*'lerinin innervasyonunu ve hipoksik havaya karşı muhtemel reaksiyonunu gösteren şema. Hipoksik hava (kırmızı kesikli oklar) *NEB* hücrelerini (sarı) uarmakta ve yoğun merkezli vezikül içeriklerini intrakorpusküler sensorik sinir sonlarının (beyaz okbaşları) afferent sinapslarına boşaltmasına neden olmaktadır. Bu depolarizasyon ile sonuçlanmakta ve sinir iplikleri boyunca yayılan (beyaz oklar) generatör potansiyelin gelişmesine yol açmaktadır. Ardından efferent sonlarda sinaptik aktivite gelişmekte ve nörotransmitterler boşalmaktadır (siyah okbaşları). Bu durum reseptör hücrenin fizyolojik durumunu etkilemekte (yeşil oklar), hipoksiye uyumun modülasyonu uyarılmakta veya kan damarları (kırmızı oklar) veya düz kaslar (mavi oklar) üzerine parakrin sekresyon şekillenmektedir. Generatör potansiyel eşik değere ulaştığı zaman aksiyon potansiyelini başlatmaktadır (iki başlı beyaz oklar). CC, Clara hücreleri; C, kapillar damarlar; SM, düz kaslar; L, solunum yolları lümeni. Adriaensen ve ark. 2003'den alınmıştır.

3.3.2. Akciğer Gelişimi ve Olgunlaşması Üzerine Etkisi

PNEC sistem üyeleri, salgıladıkları amin veya peptid maddeler vasıtasıyla, akciğer gelişimi ve olgunlaşması üzerine önemli görevler üstlenmektedir (5, 14, 19, 28, 51, 83, 132). *NEC* ve *NEB*'ler, akciğer gelişimine ve olgunlaşmasına yardım eden bazı maddeler salgılayarak akciğer gelişimini

uyarmaktadır (51, 106, 120). *NEB*'lerden salgılanan *serotonin* mitoz bölünmeyi uyarmak suretiyle akciğer gelişiminde görev almaktadır (105).

3.3.3. Bronkomotor Tonusun Düzenlenmesi

NEC ve *NEB*'ler, salgıladıkları amin veya peptid maddeler aracılığıyla akciğerlerdeki solunum yolları ve damar düz kaslarını etkilemekte ve solunum yolları çapını kontrol etmektedir (54, 57, 120). Salgılanan bu peptidlerden birisi olan *CGRP*, solunum yolları düz kaslarını etkileyerek bronşlarda kontraksiyona neden olmaktadır (107).

3.3.4. İmmunomodulasyon

NEC ve *NEB*'ler, salgıladıkları maddeler ile muhtelif tiplerdeki immun sistem hücreleri üzerine kemotaksik etki oluşturmaktadır (55, 121, 125).

Van Lommel ve ark. (1995), *NEB*'ler ile immun sistem hücreleri arasındaki muhtemel ilişkiyi inceledikleri araştırmada, hayvan türlerine bağlı olarak, toplam *NEB* sayısının yaklaşık % 5 ila 10'unun immun sistem hücreleri ile yakın ilişki halinde olduklarını tespit etmişlerdir. *NEB*'ler ile en fazla ilişki sağlayan immun sistem hücrelerinin ise nötrofil ve eozinofil olduklarını belirlemişlerdir. Belirtilen çalışmada, bazı immun sistem hücreleri, *NEB*'lerin yerleştiği yerin subepitel katmanında, bazıları ise *NEB*'lerdeki hücrelerin aralarında tespit edilmiştir (125).

3.4. PNEC Sistemde İncelenen Bazı Amin ve Peptid Maddeler

Hem ışık hem de elektron mikroskopik İHK çalışmalarla, çeşitli memeli türlerinin akciğerlerinde, prenatal ve postnatal dönemde bazı amin ve peptidlerin varlığı ortaya konmuştur. *NEC* ve *NEB*'lerde şimdiye kadar incelenmiş amin ve peptid maddeler; bir amin olan *serotonin (5HT)* (5, 20, 28, 32, 41, 53, 87, 110, 129) ile *CGRP* (27, 54, 57, 62, 70, 73, 87, 94, 98, 99, 126), *kalsitonin* (43, 108, 115), *kolesistokinin (CCK)* (6, 87, 109, 130), *somatostatin* (28, 87) ve *VIP* (31, 40) peptidleridir.

3.4.1. Serotonin (5HT)

Serotonin, biyojenik bir amin olup esansiyel amino asit olan triptofandan üretilmektedir (105). Merkezi ve perifer sinir sistemleri, kardiovasküler sistem, gastrointestinal sistem ve akciğerlerde bulunmaktadır (50). *Serotonin* ayrıca trombositlerde ve mast hücrelerinde de tespit edilmiştir (58, 66). *Serotonin*, memelilerde ve aşağı sınıf omurgalılarda, akciğer *NEB*'leri için güvenilir bir belirleyicidir (19, 25, 39).

NEB'ler, hipoksiye karşı *serotonin* salgılayarak tepki göstermekte ve muhtemelen modulator görevi görmektedir (21, 38, 120). *Serotonin*, akciğer damarları ve bronşlar üzerine konstriktör etkiye sahip olup, vazokonstriksiyona (4, 50) ve bronkokonstriksiyona (97, 124, 128) neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar ile *serotonin*'in mitojenik etkiye sahip olduğu ortaya konmuş, akciğer gelişiminde (97, 105) rol aldığı ve nörotransmitter olarak da (128) görev yaptığı belirlenmiştir.

Serotonin, akciğer dokusunda en yoğun miktarda fetal ve neonatal dönemlerde belirlenmiştir (19, 83, 128). *NEB*'lerde mevcudiyeti kanıtlanan birçok madde *serotonin* ile birlikte aynı *NEB*'lerde aynı anda bulunabilir (32, 49, 94, 130). Dey ve Hoffpauir (1986), yaptıkları ultrastrüktürel incelemede, sadece aynı *NEB*'lerde değil, aynı zamanda aynı yoğun merkezli veziküllerde de bulunabileceklerini tespit etmişlerdir (32). Wang ve Cutz (1993), muhtelif hayvan türlerinde *serotonin* ve *CCK*'yı, hepsinde olmamakla birlikte aynı yoğun merkezli veziküllerde kolokalize olarak belirlemişlerdir (130). *Serotonin* ile *CGRP*'nin kolokalizasyonu da bazı çalışmalar ile ortaya konmuştur (49, 70, 94).

3.4.2. Calcitonin Gene Related Peptide (CGRP)

CGRP, esasen hipotalamusta yapılmakta, merkezi ve perifer sinir sisteminde ve gastrointestinal endokrin sistemde geniş bir dağılım göstermektedir (9). *CGRP*, *kalsitonin* geninin farklı bir şekilde bağlanması ile oluşan (14, 56, 94) ve 37 aminoasit içeren bir peptiddir (82, 107, 126). *CGRP*'nin; α -*CGRP* ve β -*CGRP* olmak üzere iki izoformu bulunmaktadır (27, 56, 96).

Yapılan çalışmalar ile bu peptid, solunum yollarındaki sinir ipliklerinde (76, 99, 119, 126) ve *PNEC* sistemde (14, 49, 79, 119) tespit edilmiştir. *CGRP*'ye immunoreaktivite gösteren sinir iplikleri, genellikle *NEB*'ler ile yakın ilişki halindedir ve bazen varikozlar oluşturmaktadır (76). *CGRP*, muhtemelen optimum O₂ düzeylerinde salınmakta, hipoksi şekillendiğinde salınması inhibe edilmektedir (120, 124).

CGRP'nin bilinen en önemli etkisi, sistemik ve pulmoner damarlarda vazodilatasyon oluşturmaktır (29, 82, 107, 124). Bu peptidin vazodilatör etkisi, en güçlü vazodilatör madde olarak bilinen adrenomedullin benzeri etkiden daha uzun sürmektedir (107). *CGRP*, aynı zamanda kalsiyum metabolizmasında modülator bir görev üstlenmekte (114) ve bazı hormonların salınmasının düzenlenmesinde de rol almaktadır (16, 57).

***CGRP*'nin solunum yollarındaki etkileri: (107)**

- Solunum yolları epitelyumu → proliferasyonu başlatma
- Solunum yolları düz kasları → bronkokonstriksiyon
- Solunum yolları damarları → vazodilatasyon
- Sinirler → nöromediator
- Salgı bezleri → hafif inhibisyon

Muhtelif araştırmacılar tarafından ikili İHK boyama teknikleri kullanılarak yapılan çalışmalarda, *CGRP* ile diğer bazı amin veya peptidlerin aynı *NEB*'lerde kolokalizasyonu tespit edilmiştir. Bunlar arasında, *serotonin* amini (49, 57) ile *kalsitonin* (98, 109), *bombesin* (108, 109) peptidleri bulunmaktadır.

Lauweryns ve Van Ranst (1987), rat akciğerlerindeki *NEC* ve *NEB*'lerde, *CGRP* immunoreaktivitesini araştırdıkları çalışmada, bronşlardan alveollere kadar immunoreaktivite tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada kriyostat kesitlerde sinir ipliklerinde immunoreaktivite gözlenmiş, ancak parafin kesitlerde gözlenmemiştir (70).

3.4.3. Calcitonin (Kalsitonin)

Kalsitonin, 32 aminoasitten oluşan bir polipeptiddir (117). Tiroit bezi C hücreleri (parafoliküler hücreler) tarafından yapılan bir hormon olup, temel olarak kan kalsiyum düzeyinin ayarlanmasında görev almaktadır (35, 81, 117). *Kalsitoninin* salınmasına neden olan primer uyarım, kan kalsiyum düzeyi olup *gastrin*, *glukagon*, *CCK* ve bazı aminler de salınmasına etki etmektedir (35). Total tiroidektomiden sonra kan *kalsitonin* miktarı sifıra düşmemekte olup, bu durum, *kalsitoninin* tiroitten başka yerlerde de salgılandığını göstermektedir. *Kalsitonin* hipofiz, timus, karaciğer, bağırsaklar ve sidik kesesi gibi organlar yanında akciğerlerde de bulunmaktadır (81).

Akciğerlerdeki endokrin hücrelerde *kalsitoninin* tespit edilmesine yönelik muhtelif çalışmalar yayınlanmıştır (43, 44, 73, 108, 115). Gosney ve Sissons (1985), yaptıkları incelemede, rat akciğerlerinde *kalsitonin-IR* endokrin hücreleri bronş, bronşiyol ve alveol kanallarında tespit etmişlerdir. Bu çalışmada, *NEC*'ler daha çok alveol kanalları ve alveollerde, *NEB*'ler ise daha çok bronş ve bronşiyollerde ortaya konmuştur (43). Luts ve ark (1994), rat akciğerlerinde yaptıkları incelemede, *CGRP-* ve *kalsitonin-IR* endokrin hücreleri göstermişlerdir (73).

3.4.4. Cholecystokinin (CCK, kolesistokinin)

CCK, esas olarak ince bağırsak mukozasındaki endokrin I hücreleri tarafından üretilmekte olup, sinir sisteminin merkezi ve periferal nöronlarında, beyin korteksinde, beyin sapı ve omurilikte (17), hipotalamusta ve

nörohipofizde de bulunduğu belirlenmiştir. *CCK*'nın 8, 33, 39 ve 58 aminoasit içeren formları bulunmaktadır (60).

CCK, safra kesesi kontraksiyonlarını, pankreas büyümesini ve enzim sentezini artırmakta, sindirim sistemi motilitesine yardım etmekte, intestinal kan akımını yükseltmekte ve doygunluk hissi vererek yemek yemeyi inhibe etmektedir (89).

CCK'nın, akciğerlerde *PNEC* sistemde bulunduğuna yönelik kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır (6, 7, 12, 130). Wang ve Cutz (1993), yaptıkları ışık ve elektron mikroskopik çalışmada, muhtelif hayvan türlerinin akciğerlerinde, *PNEC* sistemde, *CCK* immunoreaktivitesi tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada, ikili immunoboyama teknikleri ile bazı yoğun merkezli veziküllerde *CCK* ve *serotonin*in kolokalizasyonu da gözlenmiştir. Bu araştırmacılar, *CCK*'nında diğer peptidler gibi bronşiyal ve vasküler tonusun düzenlenmesinde ve akciğerlerde büyüme faktörü olarak görev yapabileceklerini ileri sürmüşlerdir (130).

3.4.5. Somatostatin

Pankreas adacıklarındaki D hücrelerinde, hipotalamus ve beynin bazı kısımlarında, mide ve bağırsak mukozalarında bulunmaktadır. *Somatostatin*in 14 ve 28 (*som-14* ve *som-28*) olmak üzere iki formu bulunmaktadır. *Som-14*, daha çok pankreas ve merkezi sinir sisteminde (MSS), *som-28* ise ince bağırsakta bulunmaktadır (9).

Somatostatin, inhibitör bir hormondur ve *growth hormone*, *insülin*, *glukagon* ve birçok gastro-intestinal hormonların salınımını engellemektedir

(60). Aynı zamanda intestinal motiliteyi, normal ve neoplastik hücrelerin proliferasyonunu inhibe etmektedir (15, 85). *Somatostatin* antineoplastik etkisini; hücre proliferasyonunu inhibe etmek, apoptozisi indüklemek, büyümeyi destekleyen hormonları azaltmak ve damarlaşmayı inhibe etmek suretiyle göstermektedir. Yarılanma ömrünün kısa olmasından dolayı tedavide kısıtlı kullanım alanı bulmuştur (85).

Balaguer ve ark. (1992), fetal koyunların akciğerlerinde, *NEC* ve *NEB*'lerde, aynı zamanda intrapulmoner gangliyonlarda *somatostatin* immunoreaktivitesi belirlemişlerdir (6).

Hipokside, *somatostatin* ve *CGRP*'nin kandaki düzeyleri azalmakta, *CGRP* infüzyonu ile ikisinin düzeyi de eski durumuna geri dönmektedir (56).

3.4.6. Vasoactive Intestinal Polypeptide (VIP)

Sinir sisteminde, gastrointestinal sistemde, pankreasta ve tükürük bezlerinde bulunmaktadır ve nörotransmitter görevi görmektedir. 28 aminoasit içeren bir molekül olup, düz kaslar üzerinde gevşetici etkiye sahiptir (60). Bu etki, akciğerlerde vazodilatasyona ve bronkodilatasyona neden olmaktadır (9, 12, 56, 75, 91).

Akciğerlerde *VIP-IR*'sinin incelendiği çalışmalarda, bronş ve bronşiyollerdeki düz kas tabakası, damar duvarları, solunum yolları bezleri ile ilgili sinir ipliklerinin ve gangliyonlardaki sinir hücrelerinin bu peptide karşı pozitiflik gösterdiği belirlenmiştir (31, 61). Martling ve ark. (1990) yaptıkları incelemede, trakeada damar çevrelerinde, çok sayıda *VIP-IR* sinir iplikleri belirlemelerine rağmen, periferel bronşiyollerde ya çok az sayıda belirlemişler

veya hiç tespit edememişlerdir (75). Dey ve ark. (1988), *VIP* ile birlikte *substans P*'yi bronş düz kasları, arterleri ve solunum yolları bezleri çevresindeki sinir ipliklerinde kolokelize olarak tespit etmişlerdir (33). Geppetti ve ark. (1988), 3 ve 28 aylık Wistar ratlarda yaptıkları incelemede, akciğerlerde *VIP*'ye immunoreaktivite gösteren sinir ipliklerinin ve hücrelerinin, 28 aylık ratlarda, 3 aylıklar ile karşılaştırıldıklarında azaldıklarını belirlemişlerdir (40).

3.5. Postnatal Dönemde *PNEC* Yoğunluğunda Görülen Değişimler

Son yıllarda, muhtelif hayvan türlerinde, *NEC*'lerin ve özellikle de *NEB*'lerin prenatal ve postnatal dönemlerdeki gelişimini ortaya koymak için ışık ve elektron mikroskopik İHK sıklıkla kullanılmıştır. Bu incelemelerde, bazen farklı sonuçlar elde edilmiş olsa bile, *NEC*'lerin ve *NEB*'lerin, fetal ve neonatal dönemlerde, erginlere kıyasla daha yoğun olarak bulunduğu görüşü ağırlık kazanmıştır (19, 20, 25, 79, 121, 124). Doğumda fazla gelişmemiş akciğerlere sahip hayvan türlerinin (rat, hamster), akciğerlerinde daha yoğun *NEC* ve *NEB* içerdikleri ifade edilmiştir (124).

Luts ve ark. (1994) fetal 20, yeni doğmuş, postnatal 2, 5, 10, 16, 20 ve 30 günlük ratlar ile ergin ratların *NEB*'lerinin dağılımını inceledikleri çalışmalarında, *NEB* yoğunlukları ile ilgili elde ettikleri bulgular genel görüşe paralellik göstermektedir. Buna göre; fetal 20., yeni doğmuş, postnatal 2. ve 5. günlerde nispeten çok sayıda, 10., 16., 20., ve 30. günlerde ise az sayıda *NEB* tespit edilmiştir. Ergin ratlarda ise bu sayı oldukça azdır. Bu çalışmada, *NEB* başına düşen hücre sayısının, postnatal yaşa bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir (73). Polak ve ark. (1993), *serotonin* maddesinin, fetal ve neonatal ratların *NEC*

ve *NEB*'lerinde bulunmakla birlikte, ergin hayvanlarda tespit edilemediğini bildirmişlerdir (87).

Cho ve ark. (1989), tavşan akciğerlerinde yaptıkları kantitatif çalışmada, fetal ve yeni doğmuş hayvanların akciğerlerindeki *NEB* sayıları benzer biçimde yüksek bulunmuş, sonraları bir miktar artış ile birlikte 6. günde en üst seviyeye ulaşmıştır. Takip eden haftalarda ise giderek azalmış ve 56. günde en düşük seviyesine inmiştir (19). Pan ve ark. (2002), tavşan akciğerlerinde yaptıkları incelemede, *NEB* sayısının doğuma yakın dönemde arttığını ve postnatal 3.-4. günlerde zirveye ulaştığını, sonraki günlerde ise hızlı bir şekilde azaldığını belirlemişlerdir. Aynı çalışmada *NEC*'lerde ise gebeliğin 26. gününde başlayan ve postnatal dönemde de devam eden bir azalma gözlenmiştir (83).

Keith ve Ekman (1988) yeni doğmuş, 6 günlük, 1 aylık ve ergin hamsterler üzerinde yaptıkları çalışmada, *NEB*'leri neonatal dönemde birbirine yakın sonuçlar ile yüksek bulmuşlar, erginlerde ise azalmış olarak gözlemlemişlerdir (57). Bolle ve ark. (1999), 1 ve 4 haftalık hamsterlerde *NEB* sayılarını incelemişler ve 4 haftalık hayvanlardaki *NEB* sayısının 1 haftalıklar ile kıyaslandığında azaldıklarını belirlemişlerdir (14). Fakat, aksine, Sarikas ve ark. (1985), *NEB* sayısını ergin hamsterlerde neonatlara kıyasla daha yoğun olarak tespit etmişlerdir (92). Asabe ve ark. (2004) fetal, postnatal ve ergin koyunlar üzerinde yaptıkları çalışmada, *NEB* sayısının perinatal dönemde az olduğunu ve yaşa bağlı olarak arttığını, ergin koyunların ise perinatal dönemdeki kuzulara kıyasla, daha yüksek yoğunlukta *NEB*'lere sahip olduklarını belirlemişlerdir (5).

İnsanlarda yapılan bir çalışmada, *NEB*'ler gençlerde daha yoğun bulunmakla birlikte, 90 yaşındaki deneklerde de belirlenebilmiştir (42).

Şimdiye kadar yapılan bazı çalışmalar ile farklı canlı türlerinin, *PNEC* sistemindeki *serotonin* ve bazı nöropeptidlerin ontogenezisleri tespit edilmiştir. Ramların akciğerlerindeki endokrin hücrelerin postnatal yaşa bağı ontogenezisi ile ilgili kısıtlı sayıda çalışma yapılmıştır. Sunulan çalışmanın amacı; farklı gelişim evrelerinde, rat akciğerlerindeki endokrin hücrelerde, *serotonin* ve mevcudiyeti ile ilgili kısıtlı sayıda bilgi bulunan diğler bazı peptidlerin varlığını immunohistokimyasal yöntemler ile incelemektir.

4. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezinden (FÜTDAM) temin edilen 18 adet gebe Wistar rat kullanıldı. Gebe ratlardan elde edilen yeni doğmuş, postnatal 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 günlük ratlar ile ergin rat akciğerlerinden, diethyl eter anestezisi altında doku örnekleri alındı. Her grup için dörder -4- adet olmak üzere toplam 32 adet rat akciğeri kullanıldı. Doku örnekleri parafin kesitler için uygun işlemlerden geçirildi.

Parafin Kesitler

Alınan doku örnekleri, fosfat tamponu (phosphate buffer saline, PBS) ile hazırlanan % 10'luk formaldehit solüsyonunda 24 saat tespit edildi. Dokular tespit işlemini takiben 24 saat çeşme suyunda yıkandı. Daha sonra dokular, her bir seride 30'ar dakika olmak üzere % 70, % 80, % 96 I, % 96 II, % 100 I ve % 100 II' lik alkol ve ardından yine 30'ar dakikalık ksilol I ve ksilol II serilerinden geçirildi. Ardından 45 °C' lik etüvde sırasıyla ksilol-parafin karışımında 45 dakika, sonra her birinde 60'ar dakika olmak üzere üç ayrı parafin serisinde bekletildi ve parafin bloklar hazırlandı. Parafin bloklardan mikrotom ile 5-6 mikrometrelik kesitler alındı.

Kesitler immunohistokimyasal yöntemler kullanılarak boyandı.

İmmunohistokimyasal Yöntem

İmmunohistokimyasal incelemede immunoperoksidaz metotlarından peroksidaz anti-peroksidaz (PAP) tekniği kullanıldı.

Antijeniteyi artırmak ve parafini gidermek için kesitler her bir seride 2'şer dakika olmak üzere ksilol (ksilol I ve ksilol II) ve yine 2'şer dakikalık alkol serilerinden (sırasıyla % 100 I, % 100 II, % 100 III ve % 70) geçirildi. Daha sonra, endojen peroksidaz aktivitesini azaltmak için kesitler metanolle hazırlanmış % 0,008'lik hidrojen peroksit (H₂O₂) solüsyonunda 5 dakika bekletildi (112). Spesifik olmayan bağlanmaları bloke etmek için normal goat serum (NGS) ile hazırlanmış (1:10) 0,1 M'lık PBS'de -pH 7,2- bekletildi.

PAP Tekniği

Kesitler *rabbit anti-serotonin IgG* (Zymed Lab., 18.0077), *rabbit anti- calcitonin gene-related peptide IgG* (Chemicon, AB5920), *rabbit anti- calcitonin IgG* (Zymed Lab.,18.0012), *rabbit anti-cholecystokinin IgG* (Chemicon, AB2973), *rabbit anti-somatostatin IgG* (Chemicon, AB1976) ve *rabbit anti- vasoactive intestinal polypeptide IgG* (Chemicon, AB982) ile 4 °C' de 16-20 saat inkube edildi. Antiserumlar % 2,5'luk bovine serum albumin (BSA; 100 ml PBS + 2,5 gr bovine serum albumin + 250 mg sodyum azid) ile sırasıyla 1:100, 1:500, 1:100, 1:200, 1:50, 1:50 oranlarında sulandırıldı. Kesitler daha sonra *goat anti-rabbit IgG* (DAKO, Z0421) ile ardından da *tavşan-perksidaz anti-peroksidaz (PAP) kompleksi* (Zymed Lab.,

612003) ile oda sıcaklığında 60'ar dakika süre ile inkübe edildi. Sekunder antiserum 1:50 oranında BSA solüsyonu ile PAP ise yine 1:50 oranında PBS solüsyonu ile sulandırıldı. Kesitler her inkübasyon sonrası 30 dakika (3x10 dakika) süre ile PBS solüsyonunda yıkandı. Daha sonra kesitler glukoz-oksidadz diamino benzidin nikel (GDN) substratına (100) daldırılıp su ile yıkandı. Ardından eozin ile boyanıp alkol (% 70, % 100 I, % 100 II) ve ksilol (ksilol I ve ksilol II) serilerinden geçirildi ve mounting medium ile kapatılarak ışık mikroskobunda incelendi.

Fotoğraflar Nikon marka araştırma mikroskobu yardımı ile çekildi. Terimlerin yazımında Nomina Histologica'dan yararlanıldı (80).

İmmunohistokimyasal reaksiyonların spesifik kontrolü Sternberger (111) tarafından bildirilen metot ile yapıldı.

5. BULGULAR

Ratlarda, tüm yaş gruplarına mensup akciğer dokularında, *serotonin-*, *CGRP-*, *kalsitonin-*, *CCK-* ve *somatostatin- IR* endokrin hücreler tespit edildi. Aynı dokularda, *VIP-IR* endokrin hücrelere rastlanmadı. Tespit edilen endokrin hücreler, tek olarak bulunan *NEC*'ler veya hücre kümelerinden oluşan *NEB*'ler şeklinde gözlemlendi. *NEC*'lere daha çok bronş ve bronşiyollerde, *NEB*'lere ise tüm intrapulmoner solunum yollarında ve alveollerde rastlandı.

Serotonin-IR endokrin hücrelere alveollerde daha yoğun olmak üzere tüm intrapulmoner solunum yollarında rastlandı (Şekil 1-5). İmmunoreaktif endokrin hücreler, daha çok *NEB* formunda (Şekil 1-oklar, 2-5), seyrek olarak *NEC* formunda (Şekil 1-okbaşı) tespit edildi. *Serotonin-IR NEB*'ler, bronş ve bronşiyollere kıyasla alveollerde daha yoğun olarak gözlemlendi. *Serotonin-IR NEC*'lere ise oldukça seyrek olarak bronşlarda rastlandı (Şekil 1-okbaşı). *Serotonin-IR* endokrin hücrelerin yoğunluğunda, erken neonatal dönemde artma ve kısa bir süre sonra azalma tespit edildi. Yeni doğmuş ratların akciğerlerinde, *serotonin-IR* endokrin hücrelerin, yoğunluk bakımından orta düzeyde olduğu saptandı. 5 günlük rat akciğerlerinde düşük düzeyde bir artış gözlemlenmiş olup 15, 20, 25, 30 günlük ratlarda ve ergin ratlarda giderek azaldı. Ergin rat akciğerlerinde çok seyrek yoğunlukta *serotonin-IR* endokrin hücreler belirlendi.

CGRP-IR endokrin hücreler bronş, bronşiyol ve alveollerde gözlemlendi. *CGRP-IR* endokrin hücreler de daha çok *NEB* formunda tespit edildi (Şekil 6).

CGRP-IR NEB'ler bronş, bronşiyol ve alveollerde hemen hemen eşit yoğunlukta saptandı. *CGRP-IR NEC*'lere de seyrek olmak üzere bronş ve bronşiyol duvarında rastlandı (Şekil 7). *CGRP-IR* endokrin hücreler yaşa göre yoğunluk bakımından *serotonin* ile benzerlik gösterdi. Yeni doğmuş ve 5 günlük ratların akciğerlerinde, *CGRP-IR* endokrin hücreler yoğunluk bakımından üst düzeyde olup, sonraki dönemlerde fark edilebilir bir azalma gözlemlendi. *CGRP-IR* endokrin hücreler, 15. ve sonraki günlerde seyrek olarak tespit edildi.

Kalsitonin-IR endokrin hücreler bronş, bronşiyol ve alveollerde tespit edildi (Şekil 8-9). *Kalsitonin* içeren endokrin hücreler genellikle *NEC* formunda olup, daha yoğun olarak bronş ve bronşiyollerde gözlemlendi. Alveollerde de seyrek olmak üzere *kalsitonin-IR NEB*'lere rastlandı. *Kalsitonin-IR NEC*'lerin büyük bir kısmının solunum yolları bazal membranından lumene kadar uzandığı belirlendi (Şekil 8). *Kalsitonin-IR* endokrin hücrelerde yaşa bağlı yoğunluk farkı gözlenmedi. Bu hücrelere, yeni doğmuş ratlardan 30 günlük ratlara kadar akciğerlerde seyrek olarak rastlandı. Erginlerde, yoğunluk daha da azalmış olarak tespit edildi.

CCK-IR endokrin hücreler, sadece alveollerde ve *NEB* formunda gözlemlendi. *CCK-IR NEB*'ler genellikle alveol boşluğu ile temas kurmuş olarak (Şekil 10, 11), bazen de alveol boşluğuna ulaşmadan paransim içine gömülü olarak tespit edildi (Şekil 12). Rat akciğerlerinde, *CCK-IR* endokrin hücrelerde yoğunluk bakımından, gruplar arasında belirgin bir fark gözlenmedi. Tüm neonatal gruplarda, *CCK-IR* endokrin hücrelere seyrek olarak rastlandı. İmmunoreaktivite erginlerde daha da azalmış olarak belirlendi.

Somatostatin-IR endokrin hücreler bronş, bronşiyol ve alveollerde tespit edildi (Şekil 13-16). Bu endokrin hücreler, hem *NEC*, hem de *NEB* formunda gözlemlendi. Bronş ve bronşiyollerde yerleşim gösteren *somatostatin-IR NEB*'lerin, seyrek olarak, solunum lumenine kadar ulaşmadığı belirlendi (Şekil 13). *Somatostatin-IR NEB*'lerin genellikle alveollerde yerleşim gösterdiği, solunum yolları bazal membranı üzerine oturduğu, genellikle alveol boşluğu ile temasta olduğu (Şekil 14-16) tespit edildi. *Somatostatin-IR* endokrin hücrelere de tüm yaş gruplarında ve seyrek olarak rastlandı.

İncelenen rat akciğerlerinde, tüm yaş gruplarında bronş, bronşiyol ve alveollerde *VIP*'ye immunoreaktivite gösteren endokrin hücreler gözlenmedi.

Rat akciğerlerindeki endokrin hücrelerin, yaşa bağlı olarak içerdikleri amin ve peptid madde yoğunlukları tablo-1'de belirtilmiştir.

	YD	P5	P10	P15	P20	P25	P30	E
serotonin	++	+++	++	+	+	+	+	(+)
CGRP	+++	+++	++	+	+	+	+	+
calcitonin	+	+	+	+	+	+	+	(+)
CCK	+	+	+	+	+	+	+	(+)
somatostatin	+	+	+	+	+	+	+	(+)
VIP	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo-1: Rat akciğerlerindeki endokrin hücrelerin yaşa bağlı olarak yoğunlukları. +++; çok yoğun, ++; normal yoğunlukta, +; seyrek, (+); çok seyrek, -; immunoreaktivite yok. YD; yeni doğmuş, P; postnatal, E; ergin.

Akciğerlerde bulunan immunoreaktif *NEC*'ler, genellikle bronş ve bronşiyollerin epitel katmanında, bazal membrandan solunum yolları lumenine kadar uzanan piramidal hücreler (Şekil 7-8), bazen de epitel katman içerisinde bazal membran üzerine oturmuş ve solunum epiteli tarafından örtülmüş, kübik benzeri hücreler olarak tespit edildi (Şekil 1-okbaşı). İmmunoreaktif *NEB*'ler, bronş ve bronşiyollerde, bazen bazal membran üzerine oturmuş ve üzeri solunum epiteli tarafından örtülmüş olarak (Şekil 1-küçük ok, 13), bazen de bazal membran üzerine oturmakla birlikte solunum yolları lumeni ile irtibatlı olarak gözlemlendi (Şekil 1-büyük ok). Alveollerde bulunan immunoreaktif *NEB*'ler, büyük çoğunlukla alveol duvarında ve geniş yüzü alveol bazal membranına, dar yüzü ise alveol boşluğuna gelecek şekilde yerleşmiş olarak tespit edildi (Şekil 2, 3, 14, 16). Pozitif *NEB*'lere, nadir durumlarda alveol paransimi içerisinde, alveol boşluğu ile irtibat kurmaksızın yerleşmiş olarak rastlandı (Şekil 12).

6. TARTIŞMA

İnsan ve muhtelif hayvan türlerinin, *PNEC* sistemine ait endokrin hücrelere yönelik kantitatif incelemeler ile bu hücrelerin amin ve peptid madde içeriklerine yönelik birçok çalışma yapılmıştır (19, 25, 30, 79, 120, 124). *PNEC* sistemdeki endokrin hücrelerin yoğunluğunun veya amin ve peptid madde içeriklerinin incelendiği çalışmalarda, zaman zaman çelişkili sonuçlar da elde edilmiştir (5). Çalışmaların çoğunluğunda, *PNEC* sisteme ait endokrin hücreler, doğum öncesinde ve erken neonatal dönemde en yüksek düzeyde gözükmekte, postnatal dönemde azalmakta ve ergin canlılarda oldukça düşük yoğunlukta bulunmaktadır (20, 25, 79, 121).

Serotonin, muhtelif hayvan türlerinin, özellikle de fetal ve neonatal akciğerlerin *PNEC* sistemlerinde fark edilebilir düzeyde bulunan başlıca amindir (19, 58, 66). Stahlman ve ark. (1985), insan fetuslarında yaptıkları çalışmada, gebeliğin II. trimester evresinde, I. trimester evresine kıyasla akciğerlerde daha yoğun *serotonin-IR* endokrin hücre tespit etmişlerdir. Söz konusu çalışmada, *serotonin-IR* endokrin hücre yoğunluğu, fetal devre ilerledikçe artmaktadır (110). Fu ve ark. (2002), neonatal tavşan akciğerlerinde yaptıkları incelemede, solunum yolları epitelyumu içerisinde lokalize olan *serotonin-IR NEB*'leri gözlemlemişlerdir. Bahsedilen çalışmada, immunoreaktif *NEB*'ler genellikle lumene açık olarak tespit edilmiştir (38). Pan ve ark. (2002), tavşanlar üzerinde yaptıkları kantitatif çalışmada, *serotonin-IR* endokrin hücreleri en yoğun olarak fetal gelişimin son evresinde ve neonatal dönemin ilk

birkaç gününde belirlemişlerdir (83). Cho ve ark. (1989), fetal ve postnatal tavşan akciğerleri üzerinde yaptıkları incelemede, *serotonin-IR* endokrin hücreleri en yoğun olarak neonatal 6. günde ortaya koymuşlardır (19). Yapılan çalışmada ise *serotonin-IR* endokrin hücreler en yoğun olarak erken neonatal dönemde (5.gün) tespit edilmiş olup, takip eden günlerde yoğunluğun azaldığı gözlemlendi. *Serotonin-IR* endokrin hücre yoğunluğunun ergin dönemde en düşük düzeyine ulaştığı saptandı. Önceden yapılan çalışmalarda elde edilen bulgular ile bu çalışmada ortaya konulan bulgular arasında paralellik bulunmaktadır.

Muhtelif memeli türlerinin solunum sisteminde *CGRP-IR*'si tespit edilmiştir. *CGRP*, hem sinir ipliklerinde (57, 75,116), hem de nöroendokrin hücrelerde (49, 70, 79, 126) lokalize olmaktadır. Lauweryns ve Van Ranst (1987) yaptıkları ışık ve elektron mikroskopik incelemede, 12-14 günlük rat akciğerlerinde, *NEB*'lerdeki yoğun merkezli veziküllerde *CGRP-IR*'si tespit etmişlerdir (70). Verastegui ve ark. (1997) fare akciğerlerinde *NEC*, *NEB*, gangliyon hücreleri ve sinir ipliklerindeki *CGRP-IR*'sini ortaya koymuşlardır (126). Shimosegawa ve Said (1991), ikili immunohistokimya tekniklerini kullanarak rat akciğerlerinde, *NEC* ve *NEB*'lerde, *CGRP* ile *kalsitoninin* kolokalizasyonunu tespit etmişlerdir (98). Yapılan bir başka çalışmada ise *CGRP* ile *serotoninin* aynı *NEB*'lerdeki kolokalizasyonu belirlenmiştir (57).

Bolle ve ark. (1999), neonatal hamster akciğerlerinde, *CGRP* kullanarak *NEB* sayılarını kantitatif olarak incelemişler ve 1 haftalık akciğerlerde 4 haftalık akciğerlere kıyasla daha yüksek sayıda *CGRP-IR NEB*'ler gözlemişlerdir. Belirtilen çalışmada, *CGRP-IR NEB*'ler, alveollere göre bronş ve bronşiyollerde daha yoğun olarak tespit edilmiştir (14). Başka bir çalışmada, 1 günlük ve 4

haftalık rat akciğerlerinde, *CGRP-IR NEB*'ler sayı olarak karşılaştırılmış olup sayı 1 günlük rat akciğerlerinde belirgin biçimde yüksek bulunmuştur (124). Yapılan başka bir çalışmada, *CGRP-IR NEB* sayısı fetal 20 günlük, yeni doğmuş ve neonatal 2 ve 5 günlük rat akciğerlerinde aynı düzeyde ve yüksek olarak gözlenmiş, neonatal 10. günden sonra azalma tespit edilmiştir (73). Nakatani (1991), insan akciğerlerinde *CGRP-IR* endokrin hücrelerin sadece neonatal periyot içerisinde yüksek yoğunlukta bulunduğunu ortaya koymuştur (79). Bu çalışmada, *CGRP-IR* endokrin hücreler en yoğun olarak yeni doğmuş ve neonatal 5 günlük akciğerlerde tespit edildi. Yapılan bu çalışma sonucunda elde edilen bulgular ile incelenen çalışmalardaki (14, 73, 124) kantitatif bulgular arasında benzerlik bulunmaktadır.

Serotonin ve *CGRP*'ye immunoreaktivite gösteren akciğer endokrin hücrelerinin erken postnatal periyottan sonra, yoğunluk bakımından giderek seyrekleşmesinin nedeni ile ilgili çeşitli görüşler ortaya atılmıştır. Bazı araştırmacılar, doğumdan sonra, postnatal dönemin ilk evrelerinde artan alveol kitlesinin akciğerlerde hızlı bir gelişime neden olduğunu ve yoğunluk azalmasının alveollerdeki kitle artışından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir (120, 124). Bir grup araştırmacı ise, postnatal seyrekleşmenin sayıca azalmadan kaynaklandığını bildirmişlerdir (14, 73, 88). Hamsterler üzerinde yapılan bir çalışmada, *NEB* sayısındaki postnatal azalmanın nedeni olarak apoptozis gösterilmiştir (118). Özellikle, daha az gelişmiş akciğerlere sahip olarak doğan hayvan yavrularının erken neonatal periyotta daha kolay tespit edilebilir *NEB*'lere sahip olduğu bildirilmiştir (124). Bu tespit, *NEB*'lerde görülen

postnatal yoğunluk azalmasının alveol kitlesindeki artıştan kaynaklandığı fikrini güçlendirmektedir.

Akciğerlerde, *PNEC* sistem üzerine yapılan çalışmalar, *serotonin*in fetal ve erken neonatal canlılarda, solunum yollarındaki ve pulmoner arterlerdeki düz kas tonusunun düzenlenmesinde veya muhtemelen doğumda, solunumun başlaması ile birlikte, adaptasyon olayında rol oynadığını ortaya koymaktadır (38, 110, 120, 131, 133). Hipoksi durumu *NEB*'lerden *serotonin* salınımı için primer etkidir (39). Salınan *serotonin* ya lokal etkilerle veya yakınlarındaki akciğer kapillar damarlarına geçerek genel mekanizmalarla hipoksinin modülasyonunda görev almaktadır (26, 38). *Serotonin* içeren nöroendokrin hücrelerin fetal dönemde de belirgin düzeyde bulunması, bu aminin akciğer gelişiminde de rol aldığını (28), erken neonatal devrede de yoğun olarak bulunması ise bu dönemde relatif olarak hipoksiye daha duyarlı olan ve bir arteriyel kemoreseptör olan karotid cisimciğin görevini tamamlayıcı bir görev üstlendiğini akla getirmektedir (13, 120).

CGRP'nin akciğerlerdeki görevi genellikle spekülatifdir. *CGRP*'nin akciğerlerde, hem *PNEC* sistemde, hem de sinir ipliklerinde tespit edilmiş olması, bu organda önemli düzenleyici görevler üstlendiğini düşündürmektedir (27, 126). *CGRP*, damarlarda vazodilatasyon oluşturmak suretiyle kan akımını artırmaktadır (16, 29). *CGRP* aynı zamanda bronkokonstriktör etkiye de sahiptir (27, 107). Bu peptidin, yeni doğmuş ve erken neonatal yavrularda daha yüksek yoğunluklarda bulunması, bu dönemde önemli etkiler gösterdiğine işaret etmektedir. Akciğerlerde, damarlarda vazodilatasyon ve bronşlarda bronkokonstriksiyon etkileri de dikkate alındığında, *CGRP-IR NEB*'lerin yeni

doğmuş ve erken postnatal dönemdeki akciğerlerde yüksek yoğunlukta bulunması, *CGRP*'nin, doğum sonrasında canlının neonatal hayata uyumu için oldukça önemli olduğu kanısına sebep olmaktadır. *CGRP* ile *serotonin* aynı *NEB*'lerde kolokelize olarak bulunması (57), bu amin ile peptid arasındaki olası fonksiyonel etkileşimin mevcudiyetini güçlendirmektedir. *NEB*'lerde depolanan *CGRP*, normoksi sırasında salınmakta ve güçlü bir vazodilatör etki oluşturmaktadır (120). Solunum yollarındaki O₂ basıncının düzeyine bağlı olarak birinin salınımı artarken diğerini azalabilir. Akciğerlerdeki kapillar damarlar üzerine olan zıt etkileri de dikkate alındığında, bu amin ve peptidin aynı *NEB*'lerde kolokelize olarak bulunması ve ilerleyen postnatal periyotta *serotonin-IR NEB*'ler ile *CGRP-IR NEB*'lerin yoğunluğunda görülen azalma, fonksiyonel etkileşim açısından daha da anlam kazanabilir. Ancak bunlar arasındaki etkileşimin mekanizması hakkında kesin bir hükme varmak için daha detaylı ve geniş bir inceleme yapmak gerektiğide açıktır.

Van Lommel ve ark. (1995) *NEB*'ler ile immun sistem hücreleri arasındaki ilişkiyi tespit etmişlerdir (125). *NEB*'ler ile en fazla ilişki kuran immun sistem hücreleri eozinofiller ve nötrofiller olarak gözlenmiş, bu hücrelere, *NEB*'lerin bulunduğu bölgenin altındaki subepitelyal katmanda yer yer rastlanmıştır (125). Gerçekten de, *CGRP* bu hücrelerden biri olan eozinofillerin göçünü uyarmaktadır (107). *CGRP*'nin fetal dönemden ergin döneme kadar, her yaş grubunda belirli düzeylerde bulunması ve bazı immun sistem hücreleri üzerindeki etkileri, bu peptidin akciğer savunmasında da görev alabileceğini akla getirmektedir.

Kalsitonin, tiroit bezi parafoliküler hücreleri tarafından salgılanan bir peptiddir (35, 117). Total tiroidektomiye rağmen kan *kalsitonin* düzeyinin sıfıra inmemesi, tiroit dışında da bazı yerlerden salgılandığını göstermektedir (81). Yapılan immunohistokimyasal çalışmalar, birçok canlı türünün akciğerlerindeki endokrin hücrelerin *kalsitonine* karşı immunoreaktivite gösterdiğini ortaya koymaktadır (41, 73, 79, 87, 90, 98, 108, 110, 115). Rat akciğerlerinde yapılan bir çalışmada, *kalsitonin* ile *CGRP*, aynı endokrin hücrede kolokalize olarak gözlenmiştir (98). Tsutsumi ve ark. (1983), *NEB*'lerin düşük düzeyde *kalsitonin-IR*'si gösterdiklerini bildirmişlerdir (115). Rodriguez ve ark. (1992), fetal ve neonatallere kıyasla yeni doğmuş at akciğerlerinde daha yoğun *kalsitonin-IR* endokrin hücreleri tespit etmişlerdir (90). Gomez-Pascual ve ark. (1990), neonatal rat akciğerlerindeki incelemelerinde, az sayıda *kalsitonin-IR* endokrin hücre tespit etmişlerdir (41). Yapılan başka bir çalışmada, rat akciğerlerinde, fetal periyottan postnatal 30. güne kadar bulunan tüm dönemlerde, aynı seviyede ve normal yoğunlukta *kalsitonin-IR* endokrin hücreler belirlenmiştir (73). Nakatani (1991), insanlar üzerinde yaptığı incelemede, bronşlarda bronşiyollere kıyasla daha fazla *kalsitonin-IR NEC* tespit etmiştir. Bu çalışmada, çok seyrek yoğunlukta *kalsitonin-IR NEC* tespit edilmiştir. Aynı çalışmada *kalsitonin-IR* endokrin hücre sayılarının, 2 aylık döneme kadar, hemen hemen aynı olduğu ve sonraları azaldığı gözlenmiştir (79). Sissons ve Gosney (1985) fetal, neonatal ve ergin rat akciğerlerindeki *kalsitonin-IR*'sini inceledikleri çalışmada, bütün dönemlerde immunoreaktivite tespit etmişlerdir. Adı geçen çalışmada, immunoreaktivitenin yoğunluğu tüm evrelerde hemen hemen aynıdır (102). Gosney ve ark. (1985), insan akciğerleri

üzerinde yaptıkları başka bir çalışmada, solunum yollarında büyük çoğunlukla immunoreaktiviteyi *NEC*'lerde tespit etmişler, çok az sayıda ise *NEB*'lerde gözlemlemişlerdir (44). Yine rat akciğerlerinde yapılan başka bir çalışmada, *kalsitonin* ile *CGRP*'nin aynı endokrin hücrelerde kolokalizasyonu tespit edilmiştir (98). Sunulan çalışmada, *kalsitonin-IR*'si genellikle *NEC*'lerde belirlenmiş olup, *NEB*'lerde oldukça seyrek yoğunlukta tespit edildi. İmmunoreaktivitenin yoğunluğunun postnatal 30. güne kadar fazla değişmediği ve erginlerde daha da seyrekleştiği saptandı. Mevcut çalışmada tespit edilen bulgular ile incelenen çalışmaların (44, 79) bulguları benzerlik göstermektedir.

Kalsitoninin akciğerlerde *CGRP* ile birlikte kolokalize olarak bulunması (98) ve *CCK* gibi bazı peptidlerin ve bazı aminlerin *kalsitonin* salınımı üzerine etki etmesi (35), bu peptidin, akciğer endokrin hücrelerindeki mevcudiyetini kısmen açıklamaktadır. *CGRP*, aynı zamanda kalsiyum metabolizmasında modülatör görevi görmekte (114) ve *kalsitoninin* fizyolojik etkisine yardım etmektedir (43).

Yapılan bir çalışmada, muhtelif hayvanların, *NEC*'lerinde ve *NEB*'lerinde *CCK-IR*'tesi tespit edilmiştir (130). Adı geçen çalışmada, türler arasında, *CCK-IR*'sinin dağılımı ve şiddeti bakımından farklılıklar gözlenmiştir. Maymun, köpek ve kuzularda, *CCK-IR* endokrin hücrelerin dağılımı ve şiddeti yüksek bulunmuş, rat ve hamsterlerde ise düşük tespit edilmiştir (130). Fetal koyun akciğerlerinde yapılan bir incelemede, *CCK* ve *serotonin*, aynı *NEB*'lerde ve paranöronlarda kolokalize olarak belirlenmiştir (7). Balaguer ve ark. (1992), fetal ve postnatal koyunlar üzerinde yaptıkları incelemede, fetal ve postnatal periyotlarda, *CCK-IR* *NEC* ve *NEB*'leri tespit etmişlerdir (6). Rat, kobay ve

kedilerde yapılan başka bir çalışmada, *CCK*- ve *somatostatin-IR* endokrin hücre kantitesi oldukça düşük olarak ortaya konmuştur (12). Yapılan bu çalışmada ise *CCK-IR*'si gösteren endokrin hücreler, tüm yaş gruplarında, oldukça seyrek olarak tespit edildi. Elde edilen bu sonuç, incelenen çalışmaların (12, 130) sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

CCK, pankreas büyümesini ve enzim sentezini artırmakta, intestinal kan akımını yükseltmektedir (89). Muhtemelen, *CCK*'da diğer peptidler gibi, bronşiyal ve vasküler tonusun düzenlenmesinde görev almakta, akciğerlerde büyüme faktörü olarak görev yapmaktadır. *CCK*'nın akciğer endokrin hücrelerde, *serotonin* ile birlikte bulunması (7, 130), bu iki peptidin karşılıklı etkileşim içerisinde olduklarına işaret etmektedir.

Somatostatinin akciğerlerde endokrin hücrelerdeki identifikasyonunu tespit eden kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda elde edilen bulgular arasında da tam bir uyum bulunmamaktadır (12, 28, 90). Dayer ve ark. (1985), fetal maymunlar üzerinde yaptıkları çalışmada, *PNEC* sistemde çok sayıda *serotonin-IR* endokrin hücre belirlemelerine rağmen, çok az sayıda *somatostatin-IR* endokrin hücre tespit etmişlerdir (28). Bu çalışmada, *serotonin* ve *somatostatinin*, akciğerlerin maturasyonunda ve diferensiyasyonunda düzenleyici etki gösterdikleri ileri sürülmüştür (28). Rodriguez ve ark.(1992), atlarda neonatal ve ergin akciğerlerde *somatostatin-IR* endokrin hücreleri tespit edememişlerdir (90). Bloom ve Polak (1985) ise rat, kobay ve kedi akciğerlerinde yaptıkları çalışmada çok az sayıda *somatostatin* ve *CCK* immunoreaktivitesi belirlemişler ve lokalizasyonlarını tespit etmenin güç olduğunu ifade etmişlerdir (12). Yapılan çalışmada ise *PNEC* sistemde

somatostatin oldukça seyrek olarak gözlemlendi. Farklı hayvan türlerinde, akciğerlerdeki endokrin hücrelerde, *somatostatin* immunoreaktivitesinin incelendiği çalışmalarda, ortaya konan farklı sonuçlar, muhtemelen tür çeşitliliğinden kaynaklanabilir.

Somatostatin, inhibitör bir peptid olup, büyüme ve gelişme ile ilgili hormonların salınmasını (81), normal ve kanserli hücrelerin proliferasyonunu inhibe ederek (15), akciğer gelişiminin regülasyonu ile ilgili görev yapabileceği muhtemeldir. Hipoksinin hem *somatostatin*, hem de *CGRP*'nin akciğerlerdeki düzeyini düşürmesi, normoksinin ve *CGRP* infüzyonunun ise tekrar eski düzeyine yükseltmesi, bu iki peptid arasında bir etkileşime de işaret etmektedir (56).

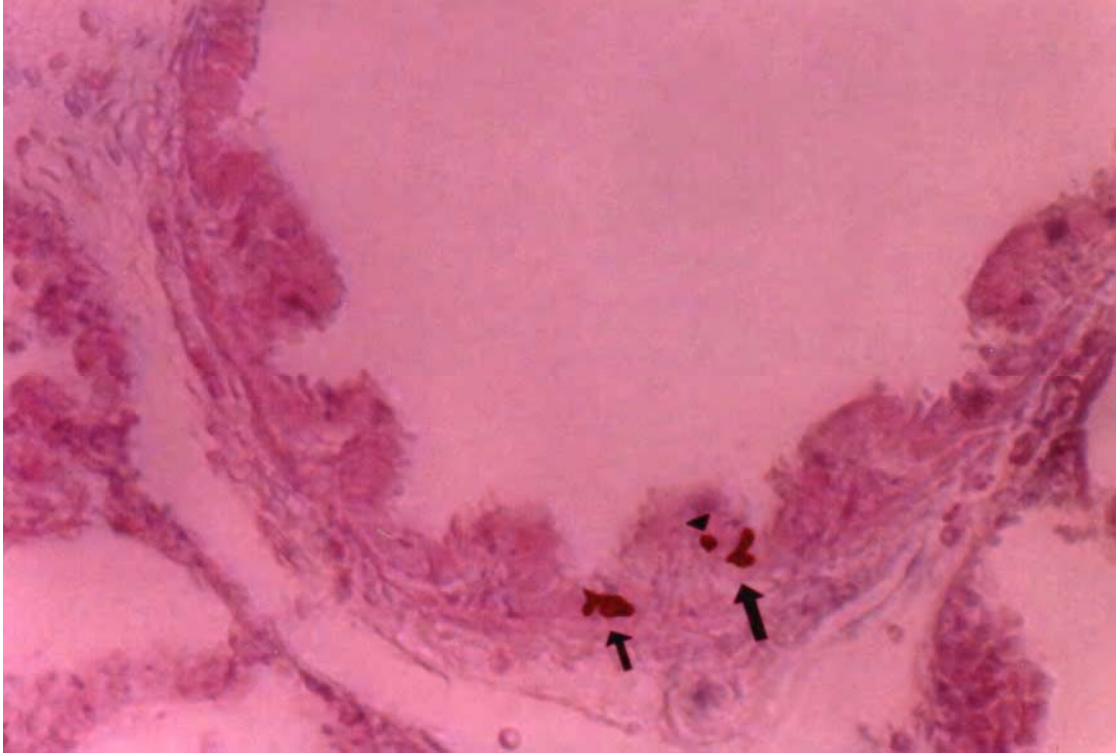
Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, solunum yollarındaki düz kas tabakasında, damar duvarlarında, solunum yollarındaki sinir ipliklerinde *VIP* immunoreaktivitesi tespit edilmekle (31, 40, 60) birlikte, akciğerlerdeki *PNEC* sistem hücrelerinde immunoreaktivite gözlenmemiştir. Yapılan çalışmada ise *VIP-IR* endokrin hücreler ile karşılaşılma olmamış olup, bu durum literatür bilgileri ile paralellik göstermektedir.

Yapılan çalışma neticesinde *kalsitonin-*, *CCK-* ve *somatostatin-IR* endokrin hücrelerin, rat akciğerlerinde seyrek yoğunlukta bulunduğu belirlenmiş olup, bu sonuç önceki çalışmaların sonuçları ile örtüşmektedir. Bazı çalışmalarda elde edilen farklı bulgular, çalışılan hayvan türünün ve kullanılan İHK'sal tekniğin farklılığından kaynaklandığı fikrini oluşturmaktadır. Bu üç peptidi içeren akciğer endokrin hücrelerin perinatal periyotta, *serotonin-* ve *CGRP-IR* endokrin hücreler kadar yoğun olarak bulunmaması, akciğerler için

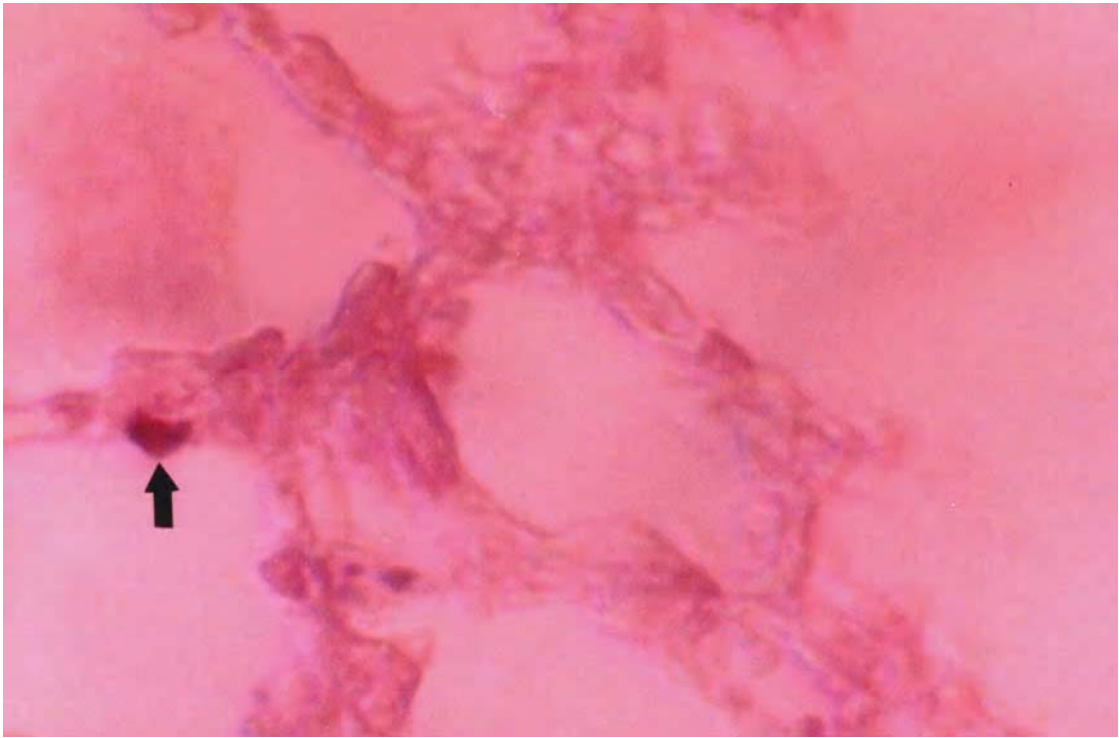
neonatal adaptasyonda, *serotonin* ve *CGRP* kadar etkin olmadığına işaret edebilir.

İncelenen literatür bilgileri ve elde edilen deneysel bulgular özellikle *kalsitonin*, *CCK* ve *somatostatinin* akciğer endokrin hücreleri için iyi bir belirleyici olmadığını açıkça ortaya koymaktadır. Zira, bu peptidler ile immunoboyanan akciğer endokrin hücre yoğunluğu oldukça düşüktür ve zor tespit edilebilmektedir. Ancak, bu peptidlerin hayvan türlerine göre değişmekle birlikte akciğerlerde endokrin hücrelerdeki mevcudiyeti yapılan çalışmalar ile teyit edilmiştir. Tüm bu sonuçlar, ratlarda, akciğer endokrin hücreleri için en uygun belirleyicinin *CGRP* ve *serotonin* olduğunu, bu iki maddeyi içeren endokrin hücrelerin ilerleyen postnatal yaşa bağlı olarak azaldığını ortaya koymaktadır. Bu iki peptid, özellikle erken neonatal devrede akciğerlerin neonatal hayata uyumunu düzenlemekte, diğer peptidler ile birlikte akciğer gelişimi ve büyümesini kontrol altında tutmaktadır. Ancak akciğerlerdeki endokrin hücrelerin kantitatif dağılımı ve görevleri ile ilgili açıklanmaya muhtaç noktalar bulunduğu da ayrı bir gerçektir.

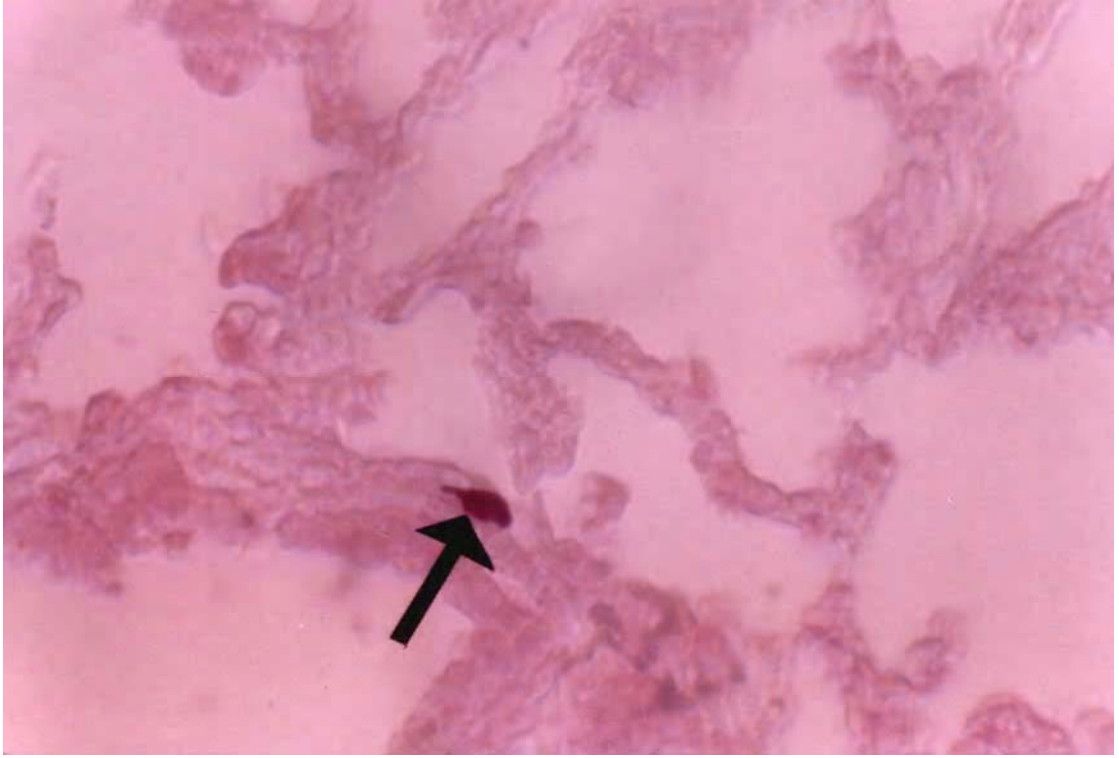
7. ŞEKİLLER



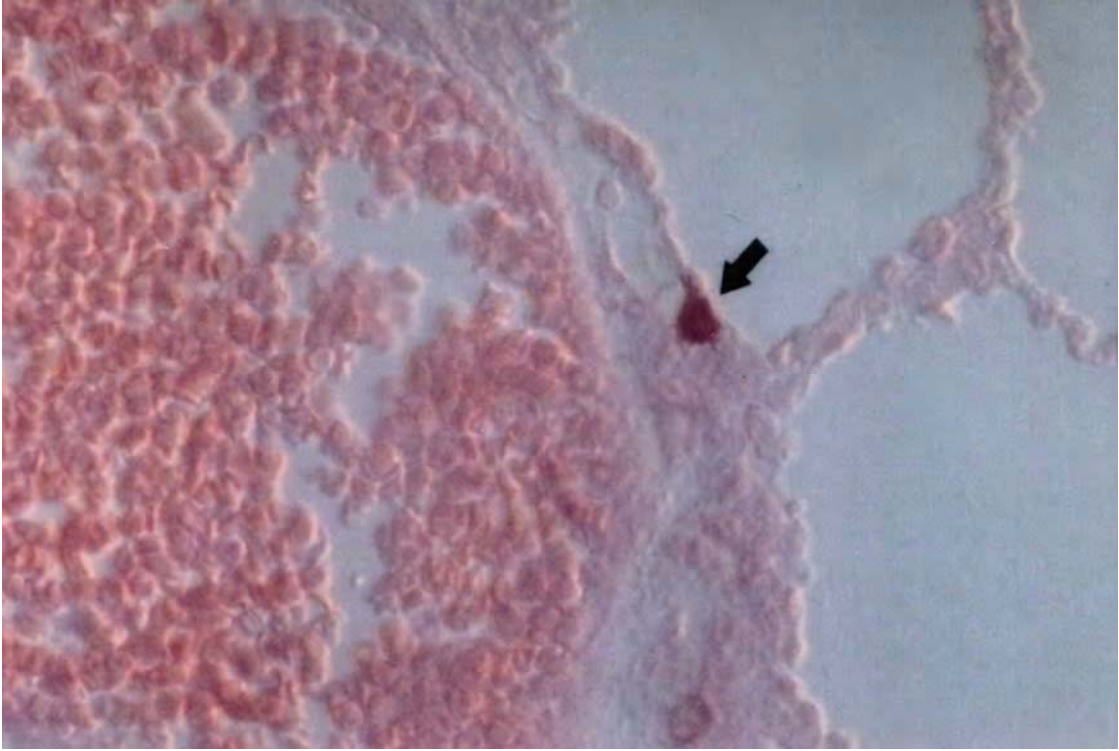
Şekil 1: 5 günlük rat akciğer dokusu bronş epitelinde *5HT-IR NEB*'ler (oklar). *NEB*'lerden biri (büyük ok) bazal membrandan solunum yolu lumenine kadar ulaşırken, diğer *NEB* (küçük ok) lumen ile tam iştirak halinde değildir. Yine bazal membran üzerine oturmuş *5HT-IR NEC* bronş epitelinde tespit edilmiştir (okbaşı). Orijinal büyültme X 200



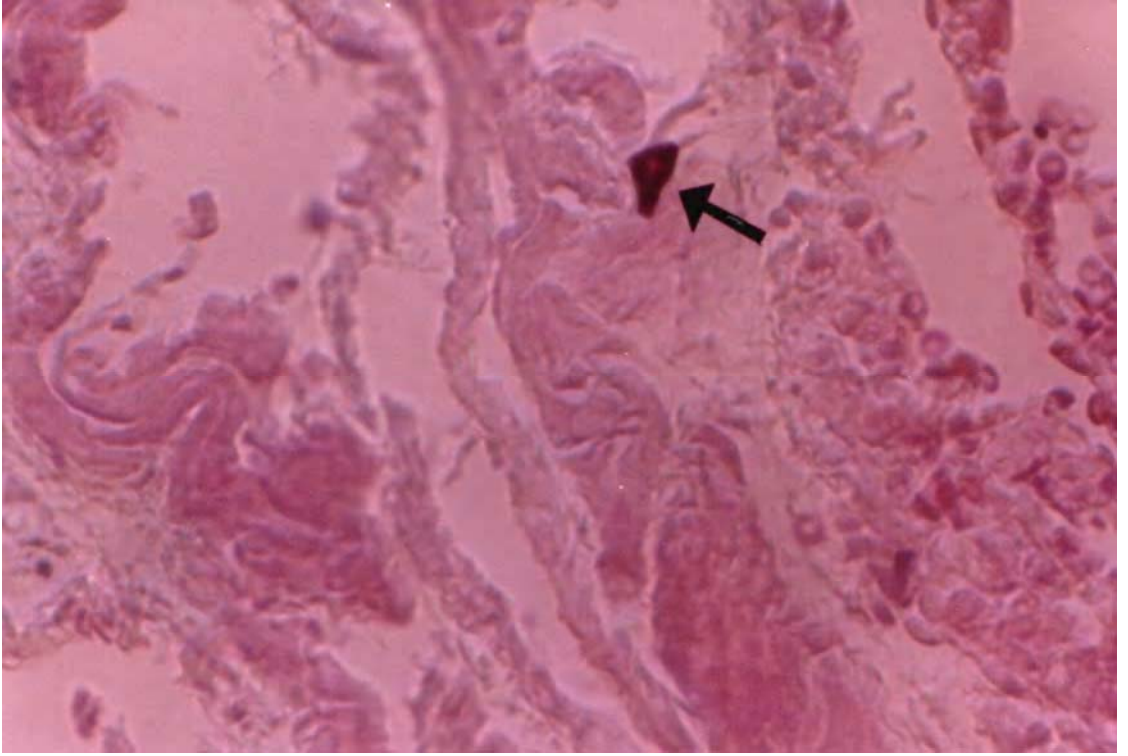
Şekil 2: 15 günlük rat akciğer dokusunda, alveol duvarında görülen *5HT-IR* bir *NEB*. *NEB* dar yüzü ile alveol boşluğuna açılmaktadır (ok). Orijinal büyültme X 400



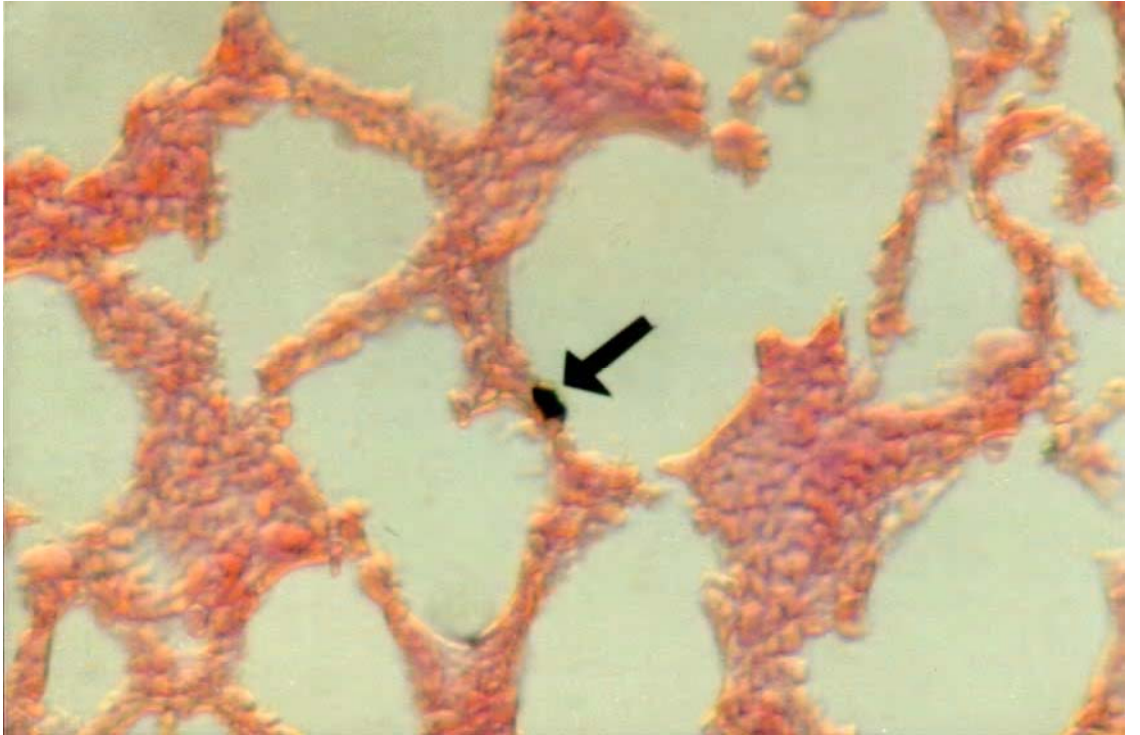
Şekil 3: 20 günlük rat akciğer dokusunda, alveol duvarında görülen *5HT-IR* bir *NEB*. *NEB*'in geniş olan taban kısmı alveol paraşimine otururken, dar olan tepe kısmı alveol boşluğuna açılmaktadır (ok). Orijinal büyültme X 200



Şekil 4: 30 günlük rat akciğer dokusunda, alveol duvarında görülen *5HT-IR* bir *NEB* (ok). Orijinal büyültme X 200



Şekil 5: Ergin rat akciğer dokusunda, bronş duvarında görülen *5HT-IR* bir *NEB* (ok). Orijinal büyültme X 200



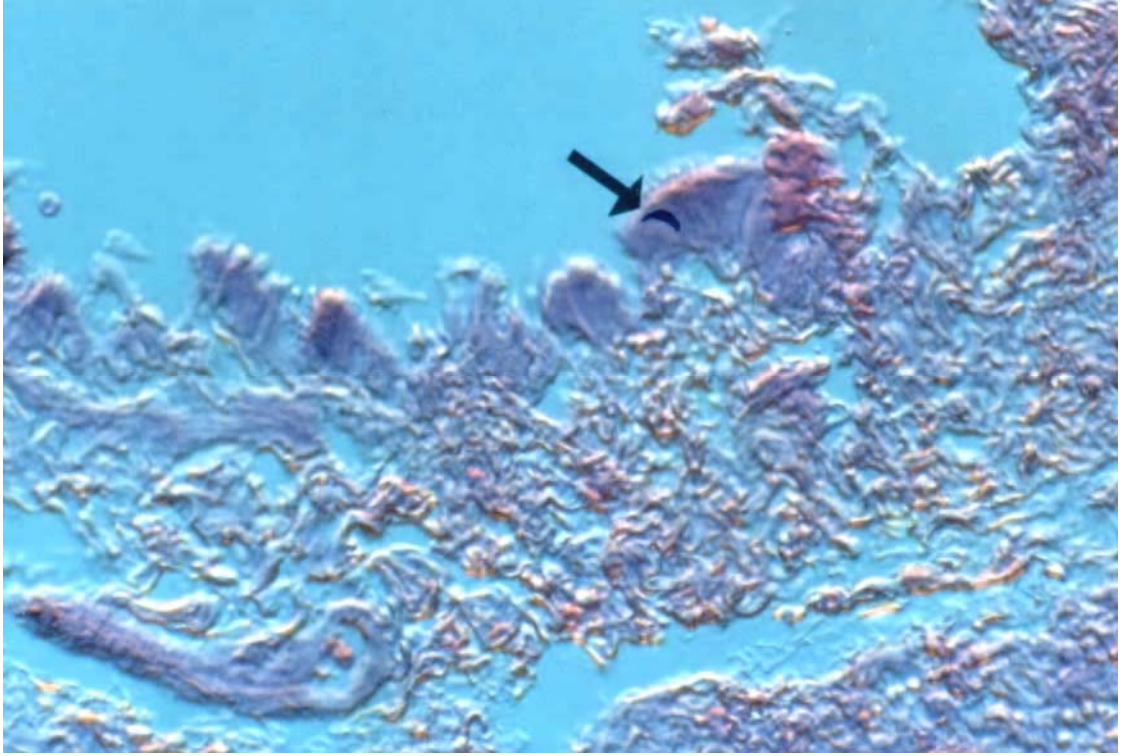
Şekil 6: 5 günlük rat akciğer dokusunda, alveol duvarında tespit edilen ve tamamen solunum lumeni ile irtibat halinde olan *CGRP-IR* bir *NEB* (ok). Orijinal büyültme X 400



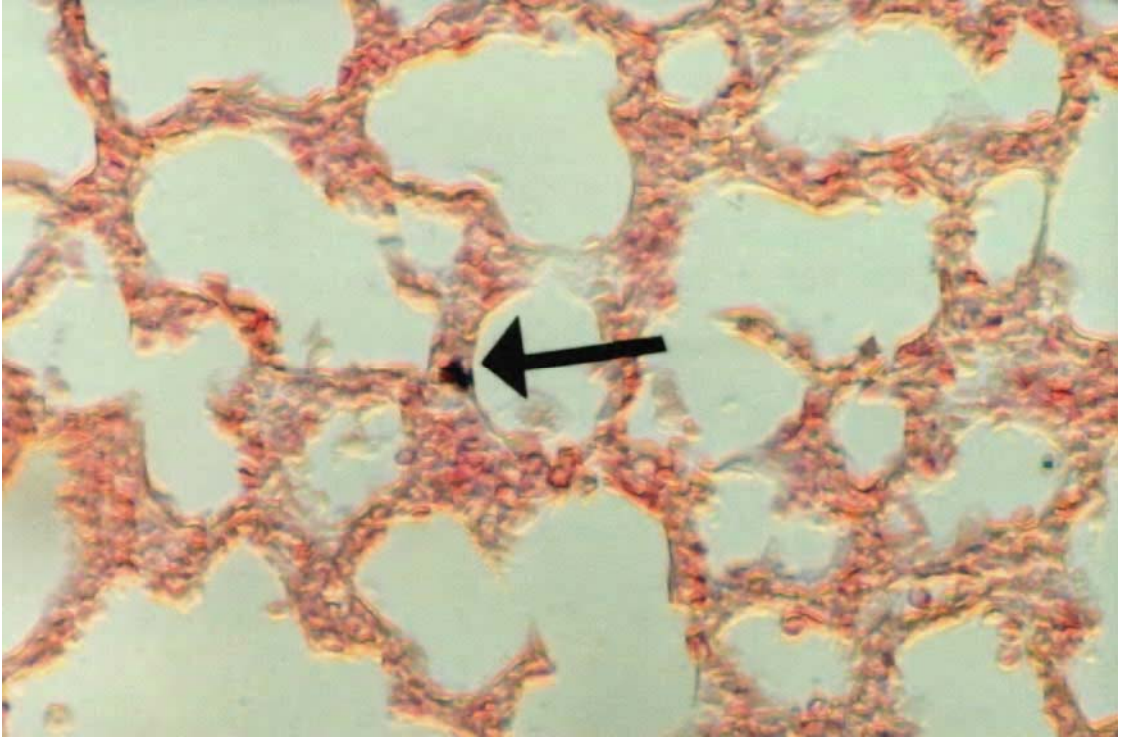
Şekil 7: 10 günlük rat akciğer dokusunda, bronşiyol duvarında belirlenen, bazal membrandan solunum lumenine kadar ulaşan *CGRP-IR* tek *NEC* (ok). Orijinal büyültme X 400



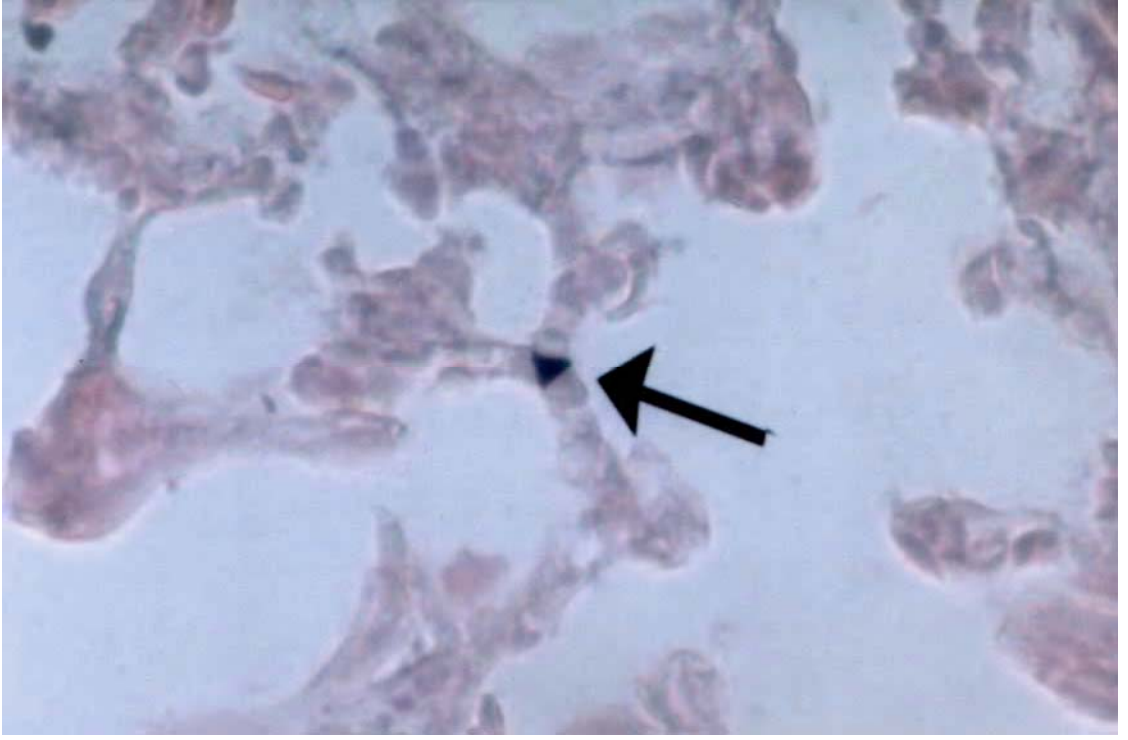
Şekil 8: 5 günlük rat akciğer dokusunda bronşiyol duvarında belirlenen bazal membrandan solunum lumenine kadar uzanan *calcitonin-IR* *NEC* (ok). Orijinal büyültme X 200



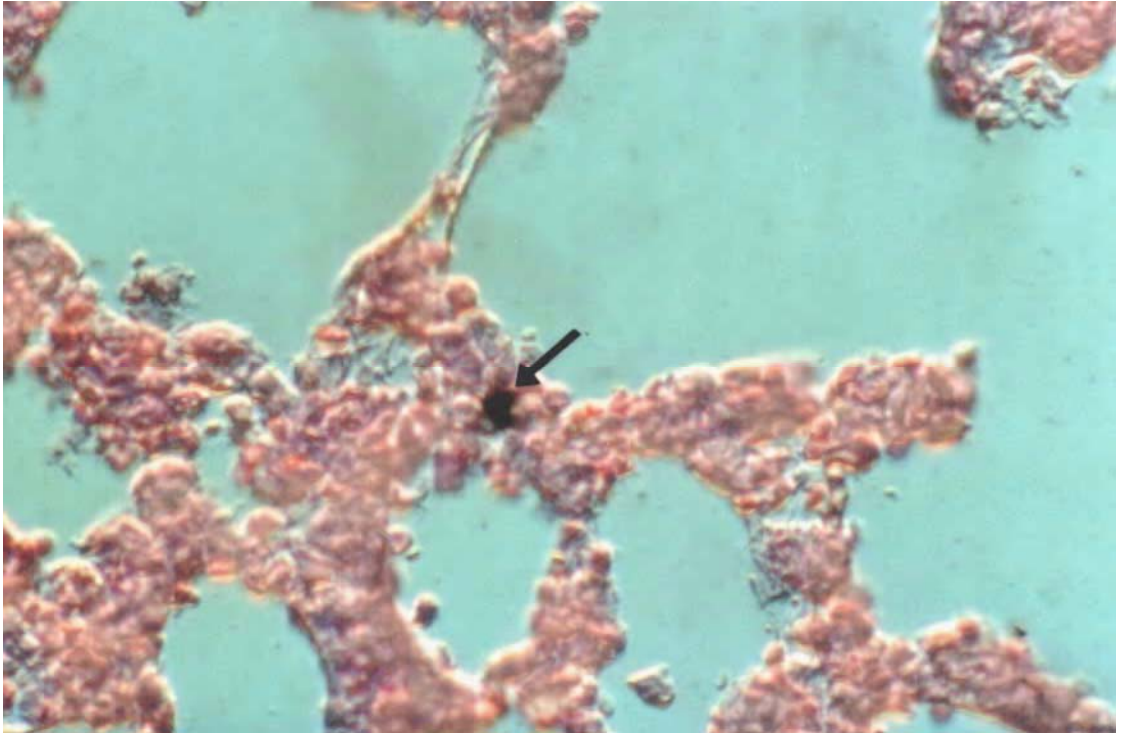
Şekil 9: Ergin rat akciğer dokusunda, bronş duvarında tespit edilen bazal membran üzerine oturmakta olup solunum lumenine kadar ulaşamayan *calcitonin-IR NEC* (ok). Orijinal büyültme X 200



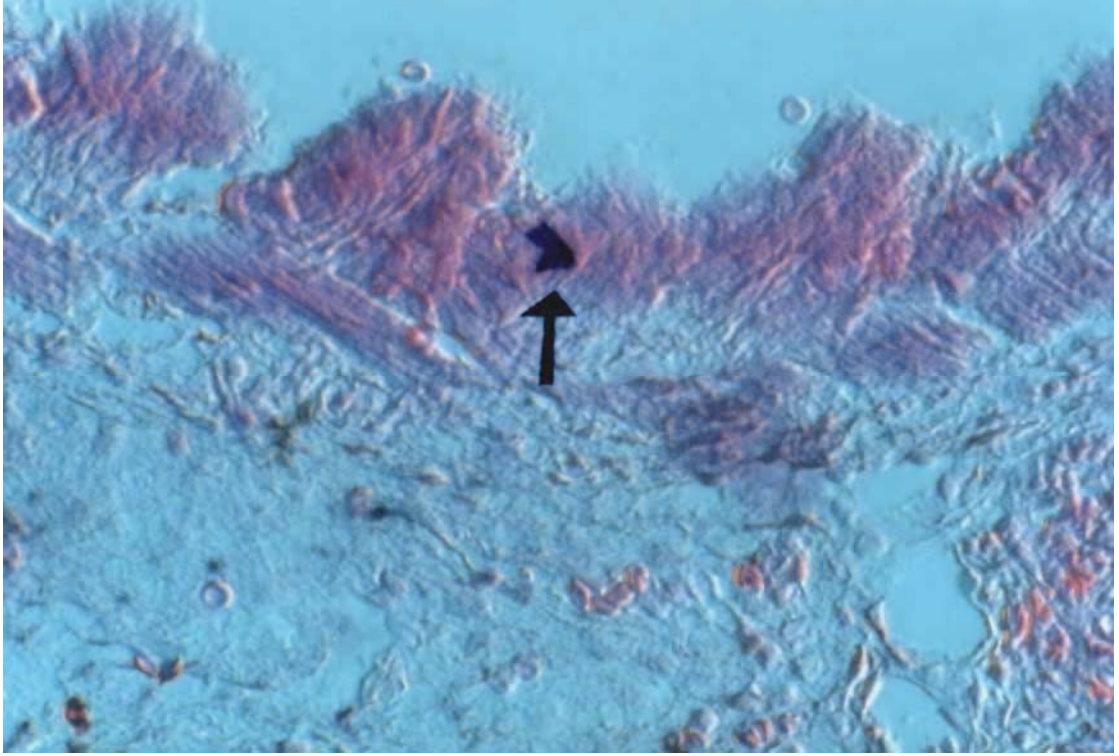
Şekil 10: 5 günlük rat akciğer dokusunda, alveol paraneuriumunda tespit edilen ve alveol boşluğu ile irtibat halinde olan *CCK-IR NEB* (ok). Orijinal büyültme X 200



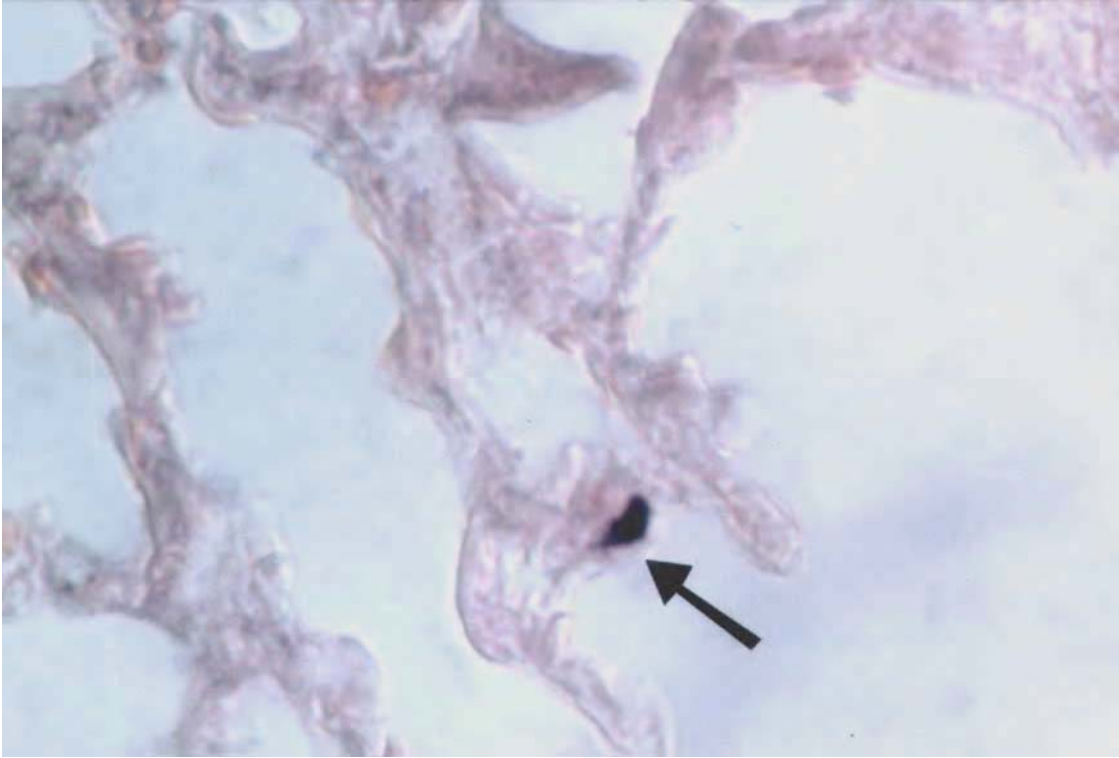
Şekil 11: 10 günlük rat akciğer dokusunda, alveol duvarında belirlenen ve alveol boşluğu ile temas halinde olan *CCK-IR* bir *NEB* (ok). Orijinal büyültme X 200



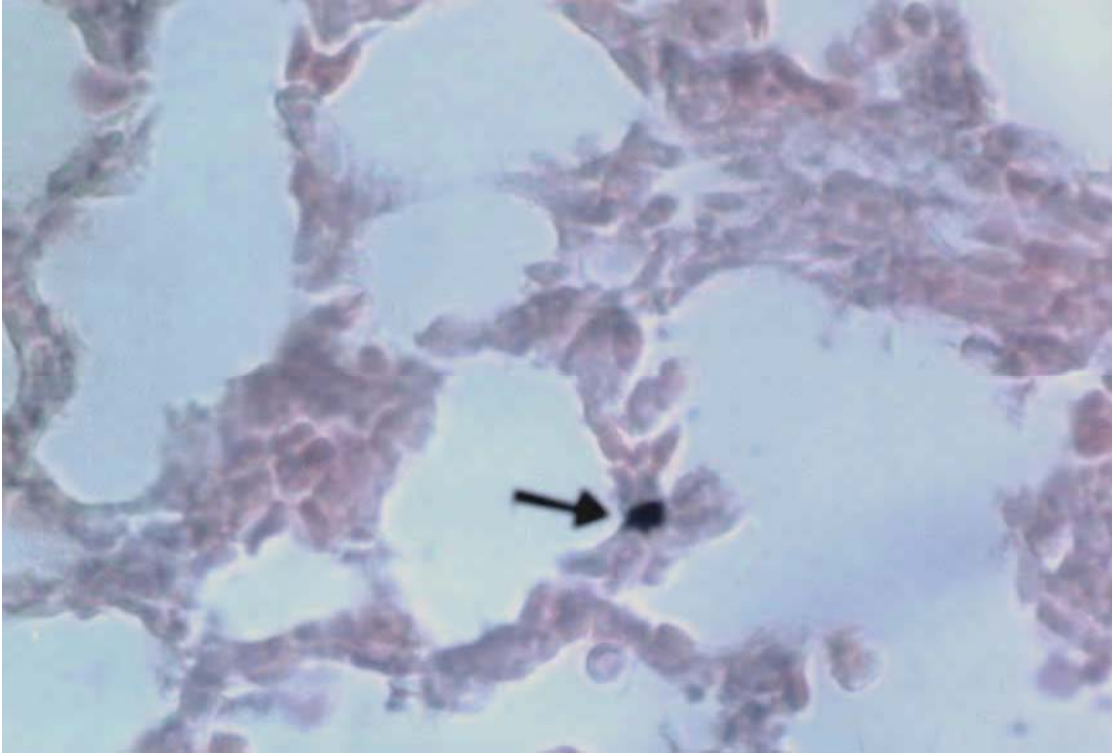
Şekil 12: Ergin rat akciğer dokusunda alveol paransiminde bulunan ve alveol boşluğuna kadar ulaşamayan *CCK-IR* bir *NEB* (ok). Orijinal büyültme X 400



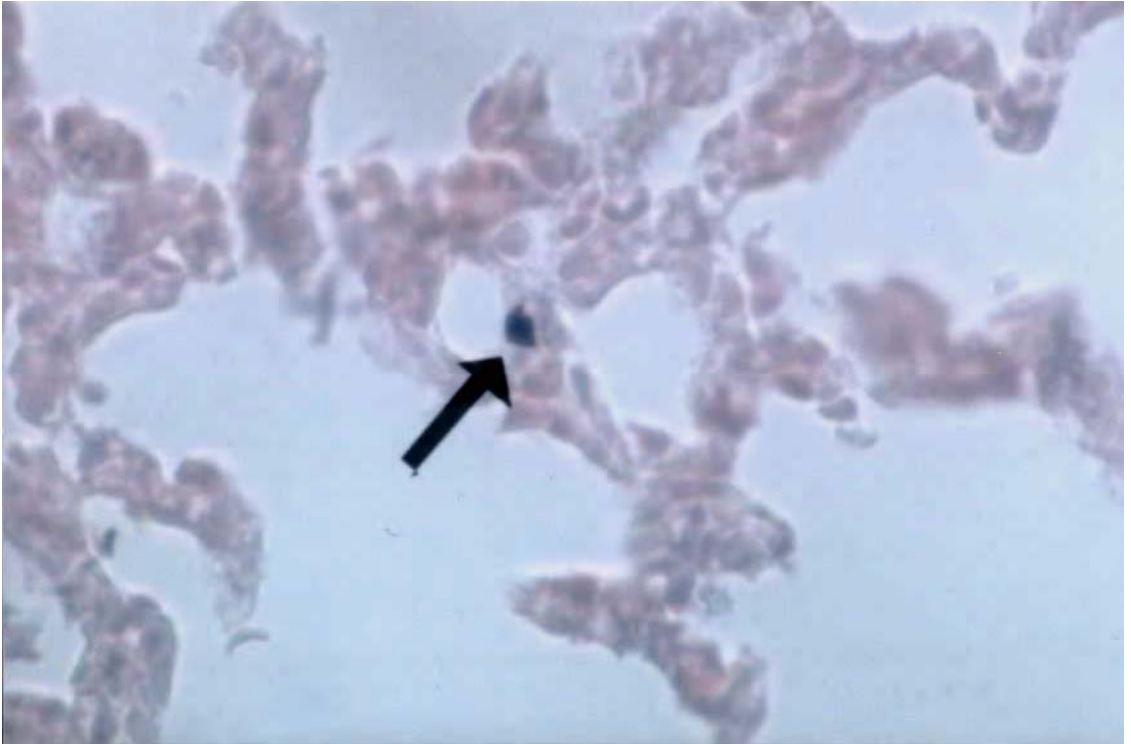
Şekil 13: 5 günlük rat akciğer dokusunda, bronşiyol duvarında belirlenen *somatostatin-IR NEB*. *NEB* bazal membran üzerine oturmakta olup solunum lumenine ulaşmamaktadır (ok). Orijinal büyültme X 200



Şekil 14: 10 günlük rat akciğer dokusunda, alveol duvarında dar yüzeyi alveol boşluğuna açılan *somatostatin-IR NEB* (ok). Orijinal büyültme X 400



Şekil 15: 25 günlük rat akciğer dokusunda, alveol duvarında görülen *somatostatin-IR* bir *NEB* (ok). Orijinal büyültme X 200



Şekil 16: Ergin rat akciğer dokusunda, alveol duvarında görülen *somatostatin-IR* bir *NEB* (ok). Orijinal büyültme X 200

8. KAYNAKLAR

1. Adriaensen D, Brouns I, Van Genechten J, Timmermans JP. (2003). Functional morphology of pulmonary neuroepithelial bodies: extremely complex airway receptors. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol.* 270(1):25-40.
2. Adriaensen D, Scheuermann DW. (1993). Neuroendocrine cells and nerves of the lung. *Anat Rec.* 236(1):70-86.
3. Adriaensen D, Timmermans JP, Brouns I, Berthoud HR, Neuhuber WL, Scheuermann DW. (1998). Pulmonary intraepithelial vagal nodose afferent nerve terminals are confined to neuroepithelial bodies: an anterograde tracing and confocal microscopy study in adult rats. *Cell Tissue Res.* 293(3):395-405.
4. Al-Tinawi A, Krenz GS, Rickaby DA, Linehan JH, Dawson CA. (1994). Influence of hypoxia and serotonin on small pulmonary vessels. *J Appl Physiol.* 76(1):56-64.
5. Asabe K, Jennings RW, Harrison MR, Suita S. (2004). Quantitative study of pulmonary endocrine cells in fetal, postnatal and adult sheep. *J Vet Med Sci.* 66(4):373-80.
6. Balaguer L, Romano J, Ruiz-Pesini P. (1992). Localization of serotonin, cholecystinin and somatostatin immunoreactivity in the lower respiratory tract of embryonic, foetal and postnatal sheep. *Histol Histopathol.* 7(4):703-8.
7. Balaguer L, Romano J, Ruiz-Pesini P. (1994). Coexistence of serotonin and cholecystinin in paraneurons of the foetal sheep lung. *Histol Histopathol.* 9(1):49-51.
8. Basset F, Poirier J, Le Crom M, Turiaf J(1971). Ultrastructural study of the human bronchiolar epithelium. *Z Zellforsch Mikrosk Anat.* 116(3):425-42.
9. Bayraktar M. Gastrointestinal Sistem Endokrinolojisi. Temel ve Klinik Endokrinoloji. Koloğlu S. Kozan ofset. 1996 Ankara. 687-699
10. Becci PJ, McDowell EM, Trump BF. (1978). The respiratory epithelium. II. Hamster trachea, bronchus, and bronchioles. *J Natl Cancer Inst.* 61(2):551-61.
11. Bensch KG, Gordon GB, Miller LR. (1965). Studies on the bronchial counterpart of the Kultschitzky (argentaffin) cell and innervation of bronchial glands. *J Ultrastruct Res.* 12(5):668-86.
12. Bloom SR, Polak JM. (1985). Regulatory peptides and the lung. *Pediatr Pulmonol.* 1(3): 30-6
13. Bolle T, Lauweryns JM, Lommel AV. (2000). Postnatal maturation of neuroepithelial bodies and carotid body innervation: a quantitative investigation in the rabbit. *J Neurocytol.* 29(4):241-8.
14. Bolle T, Van Lommel A, Lauweryns JM. (1999). Stereological estimation of number and volume of pulmonary neuroepithelial bodies (NEBs) in neonatal hamster lungs. *Microsc Res Tech.* 44(2-3):190-4.

15. Bousquet C, Guillermet J, Vernejoul F, Lahlou H, Buscail L, Susini C. (2004). Somatostatin receptors and regulation of cell proliferation. *Dig Liver Dis.* 36 Suppl 1:2-7.
16. Brain SD, Williams TJ, Tippins JR, Morris HR, MacIntyre I. (1985). Calcitonin gene-related peptide is a potent vasodilator. *Nature.* 313(5997):54-6.
17. Brodin L, Buchanan JT. (1988). Immunohistochemical studies of cholecystokinin-like peptides and their relation to 5-HT, cGRP, and bombesin immunoreactivities in the brainstem and spinal cord of lampreys. *J Comp Neurol* 271:1-18
18. Brouns I, Van Genechten J, Hayashi H, Gajda M, Gomi T, Burnstock G, Timmermans JP, Adriaensen D. (2003). Dual sensory innervation of pulmonary neuroepithelial bodies. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 28(3):275-85.
19. Cho T, Chan W, Cutz E. (1989). Distribution and frequency of neuro-epithelial bodies in post-natal rabbit lung: quantitative study with monoclonal antibody against serotonin. *Cell Tissue Res.* 255(2):353-62.
20. Chua BA, Perks AM. (1999). The pulmonary neuroendocrine system and drainage of the fetal lung: effects of serotonin. *Gen Comp Endocrinol.* 113(3):374-87.
21. Cutz E. (1997). Introduction to pulmonary neuroendocrine cell system, structure-function correlations. *Microsc Res Tech.* 37(1):1-3.
22. Cutz E, Conen PE. (1972). Endocrine-like cells in human fetal lungs: an electron microscopic study. *Anat Rec.* 173(1):115-22.
23. Cutz E, Chan W, Wong V, Conen PE. (1975). Ultrastructure and fluorescence histochemistry of endocrine (APUD-type) cells in tracheal mucosa of human and various animal species. *Cell Tissue Res.* 158(4):425-37.
24. Cutz E, Chan W, Sonstegard KS. (1978). Identification of neuro-epithelial bodies in rabbit fetal lungs by scanning electron microscopy: a correlative light, transmission and scanning electron microscopic study. *Anat Rec.* 192(3):459-66.
25. Cutz E, Gillan JE, Bryan AC. (1985). Neuroendocrine cells in the developing human lung: morphologic and functional considerations. *Pediatr Pulmonol.* 1(3 Suppl):S21-9.
26. Cutz E, Speirs V, Yeger H, Newman C, Wang D, Perrin DG.(1993). Cell biology of pulmonary neuroepithelial bodies--validation of an in vitro model. I. Effects of hypoxia and Ca²⁺ ionophore on serotonin content and exocytosis of dense core vesicles. *Anat Rec.* 236(1):41-52.
27. Dakhama A, Larsen GL, Gelfand EW. (2004). Calcitonin gene-related peptide: role in airway homeostasis. *Curr Opi in Pharm.* 4: 215-220
28. Dayer AM, De Mey J, ve Will JA. (1985). Lokalization of somatostatin-, bombesin-, and serotonin-like immunoreactivity in the lung of the fetal rhesus monkey. *Cell Tissue Res.* 239 (3): 621-5.

29. De Vroomen M, Takahashi Y, Roman C, Heymann MA. (1998). Calcitonin gene-related peptide increases pulmonary blood flow in fetal sheep. *Am J Physiol.* 274(1 Pt 2):277-82.
30. Dey RD, Hoffpauir JM. (1986). Ultrastructural colocalization of the bioactive mediators 5-hydroxytryptamine and bombesin in endocrine cells of human fetal airways. *Cell Tissue Res.* 246(1):119-24.
31. Dey RD, Altemus JB, Michalkiewicz M. (1991). Distribution of vasoactive intestinal peptide- and substance P-containing nerves originating from neurons of airway ganglia in cat bronchi. *J Comp Neurol.* 304(2):330-40.
32. Dey RD, Hoffpauir JM. (1986). Ultrastructural colocalization of the bioactive mediators 5-hydroxytryptamine and bombesin in endocrine cells of human fetal airways. *Cell Tissue Res.* 246(1):119-24.
33. Dey RD, Hoffpauir J, Said SI. (1988). Co-localization of vasoactive intestinal peptide- and substance P-containing nerves in cat bronchi. *Neuroscience.* 24(1):275-81.
34. DiAugustine RP, Sonstegard KS. (1984). Neuroendocrinelike (small granule) epithelial cells of the lung. *Environ Health Perspect.* 55:271-95.
35. Drazner FH. (1987). Parathyroid glands and calcium metabolism. *Small Animal Endocrinology.* Drazner FH. Churchill Livingstone Inc.1987. New York. 121-160
36. Eaton JA Jr, Fedde MR. (1978). Biogenic amine-containing cells in the chicken lung. *Poult Sci.* 57(3):793-7.
37. Ericson LE, Hakanson R, Larson B, Owman C, Sundler F. (1972). Fluorescence and electron microscopy of amine-storing enterochromaffin-like cells in tracheal epithelium of mouse. *Z Zellforsch Mikrosk Anat.* 124(4):532-45.
38. Fu XW, Nurse CA, Wong V, Cutz E. (2002). Hypoxia-induced secretion of serotonin from intact pulmonary neuroepithelial bodies in neonatal rabbit. *J Physiol.* 539(2):503-10.
39. Fu.XW, Wang D, Pan J, Farragher SM, Wong V, Cutz E. (2001). Neuroepithelial bodies in mammalian lung express functional serotonin type 3 receptor. *Am.J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 281: L931-940
40. Geppetti P, De Rossi M, Mione MC, Renzi D, Amenta F. (1988). Age-related changes in vasoactive intestinal polypeptide levels and distribution in the rat lung. *J Neural Transm.* 74(1):1-10.
41. Gomez-Pascual A, Martin-Lacave I, Moreno AM, Fernandez A, Galera H. (1990). Neuroendocrine (NE) cells in rat neonatal lungs. A histochemical and immunocytochemical study. *Anat Histol Embryol.* 19(2):158-63.
42. Gosney JR. (1993). Neuroendocrine cell populations in postnatal human lungs: minimal variation from childhood to old age. *Anat Rec.* 236(1):177-80.

43. Gosney JR, Sissons MC. (1985). Widespread distribution of bronchopulmonary endocrine cells immunoreactive for calcitonin in the lung of the normal adult rat. *Thorax*. 40(3):194-8.
44. Gosney JR, Sissons MC, O'Malley JA. (1985). Quantitative study of endocrine cells immunoreactive for calcitonin in the normal adult human lung. *Thorax*. 40(11):866-9.
45. Gould VE, Lee I, Warren WH. (1988). Immunohistochemical Evaluation of Neuroendocrine Cells and Neoplasms of the Lung. *Path Res Pract*. 183:200-213
46. Hage E.(1972). Endocrine cells in the bronchial mucosa of human foetuses. *Acta Pathol Microbiol Scand [A]*. 80(2):225-34.
47. Hage E.(1974). Histochemistry and fine structure of endocrine cells in foetal lungs of the rabbit, Mouse, and guinea-pig. *Cell Tissue Res*. 149(4):513-24.
48. Hage E, Hage J, Juel G. (1977). Endocrine-like cells of the pulmonary epithelium of the human adult lung. *Cell Tissue Res*. 178(1):39-48.
49. Haller CJ. (1992). Evidence for the coexistence of serotonin and calcitonin gene-related peptide at the subcellular level in neuroepithelial bodies in the lung of a marsupial, *Isodon macrourus*. *Cell Tissue Res*. 270(1):199-203.
50. Hindle AT. (1994). Recent developments in the physiology and pharmacology of 5-hydroxytryptamine. *Br J Anaesth*. 73(3):395-407.
51. Hoyt RF Jr, McNelly NA, McDowell EM, Sorokin SP. (1991). Neuroepithelial bodies stimulate proliferation of airway epithelium in fetal hamster lung. *Am J Physiol*. 260(4 Pt 1):L234-40.
52. Hung KS. (1980). Innervation of rabbit fetal lungs. *Am J Anat*. 159(1):73-83.
53. Hung KS, Huntrakoon M, Menon CD. (1991). Immunocytochemical studies of subtypes of pulmonary endocrine cells in diethylnitrosamine-treated rabbits. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*. 60(1):1-5.
54. IJsselstijn H, Hung N, de Jongste JC, Tibboel D, Cutz E. (1998). Calcitonin gene-related peptide expression is altered in pulmonary neuroendocrine cells in developing lungs of rats with congenital diaphragmatic hernia. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 19(2):278-85.
55. Johnson DE, Wobken JD, Landrum BG. (1988). Changes in Bombesin, Calcitonin, and Serotonin Immunoreactive Pulmonary Neuroendocrine Cells In Cystic Fibrosis and after Prolonged Mechanical Ventilation. *Am Rev Res Dis*. 137: 123-131
56. Keith IM. (2000). The role of endogenous lung neuropeptides in regulation of the pulmonary circulation. *Physiol Res*. 49(5):519-37.
57. Keith IM, Ekman R. (1988). Calcitonin gene-related peptide in hamster lung and its coexistence with serotonin: a chemical and immunocytochemical study. *Regul Pept*. 22(4):315-23.

58. Keith IM, Will JA. (1981). Hypoxia and the neonatal rabbit lung: neuroendocrine cell numbers, 5-HT fluorescence intensity, and the relationship to arterial thickness. *Thorax*. 36(10):767-73.
59. Kinnamon JC, Taylor BJ, Delay RJ, Roper SD. (1985). Ultrastructure of mouse vallate taste buds. I. Taste cells and their associated synapses. *J Comp Neurol* 235:48-60
60. Koloğlu S. Pankreas Hormonları. Temel ve Klinik Endokrinoloji. Koloğlu S. Kozan ofset. 1996 Ankara. 359-365
61. Laitinen A, Partanen M, Hervonen A, Pelto-Huikko M, Laitinen LA. (1985). VIP like immunoreactive nerves in human respiratory tract. Light and electron microscopic study. *Histochemistry*. 82(4):313-9.
62. Larson SD, Schelegle ES, Hyde DM, Plopper CG. (2003). The three-dimensional distribution of nerves along the entire intrapulmonary airway tree of the adult rat and the anatomical relationship between nerves and neuroepithelial bodies. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 28(5):592-9.
63. Lauweryns JM, Cokelaere M. (1973). Intrapulmonary neuro-epithelial bodies: hypoxia-sensitive neuro(chemo-)receptors. *Experientia*. 29(11):1384-6.
64. Lauweryns JM, Cokelaere M, Theunynck P. (1972). Neuro-epithelial bodies in the respiratory mucosa of various mammals. A light optical, histochemical and ultrastructural investigation. *Z Zellforsch Mikrosk Anat*. 135(4):569-92.
65. Lauweryns JM, Cokelaere J, Theunynck P. (1973). Serotonin producing neuroepithelial bodies in rabbit respiratory mucosa. *Science*. 180(84):410-3.
66. Lauweryns JM, de Bock V, Verhofstad AA, Steinbusch HW. (1982). Immunohistochemical localization of serotonin in intrapulmonary neuro-epithelial bodies. *Cell Tissue Res*. 226(1):215-23.
67. Lauweryns JM, Peuskens JC. (1969). Argyrophil (kinin and amine producing?) cells in human infant airway epithelium. *Life Sci*. 8(11):577-85.
68. Lauweryns JM, Van Lommel A. (1983). The intrapulmonary neuroepithelial bodies after vagotomy: demonstration of their sensory neuroreceptor-like innervation. *Experientia*. 39(10):1123-4.
69. Lauweryns JM, Van Lommel AT, Dom RJ. (1985). Innervation of rabbit intrapulmonary neuroepithelial bodies. Quantitative and qualitative ultrastructural study after vagotomy. *J Neurol Sci*. 67(1):81-92.
70. Lauweryns JM, Van Ranst L. (1987). Calcitonin gene related peptide immunoreactivity in rat lung: light and electron microscopic study. *Thorax*. 42(3):183-9.
71. Lauweryns JM, Van Ranst L, Lloyd RV, O'Connor DT. (1987). Chromogranin in bronchopulmonary neuroendocrine cells. Immunocytochemical detection in human, monkey, and pig respiratory mucosa. *J Histochem Cytochem*. 35(1):113-8.

72. Lopez-Barneo J, Pardal R, Ortega-Saenz P. (2001). Cellular mechanism of oxygen sensing. *Annu Rev Physiol.* 63:259-87.
73. Luts A, Uddman R, Hakanson R, Sundler F. (1994). Calcitonin, CGRP and helodermin in endocrine cells of the developing rat lung. *Regul Pept.* 51(2):121-9.
74. Luts A, Uddman R, Sundler F. (1989). Neuronal galanin is widely distributed in the chicken respiratory tract and coexists with multiple neuropeptides. *Cell Tissue Res.* 256(1):95-103.
75. Martling CR, Matran R, Alving K, Hokfelt T, Lundberg JM. (1990). Innervation of lower airways and neuropeptide effects on bronchial and vascular tone in the pig. *Cell Tissue Res.* 260(2):223-33.
76. Martling CR, Saria A, Fischer JA, Hokfelt T, Lundberg JM. (1988). Calcitonin gene-related peptide and the lung: neuronal coexistence with substance P, release by capsaicin and vasodilatory effect. *Regul Pept.* 20(2):125-39.
77. McDonald DM, Mitchell RA. (1975). The innervation of glomus cells, ganglion cells and blood vessels in the rat carotid body: A quantitative ultrastructural analysis. *J Neurocytol* 4:177-230
78. McDowell EM, Barrett LA, Trump BF. (1976). Observations on small granule cells in adult human bronchial epithelium and in carcinoid and oat cell tumors. *Lab Invest.* 34(2):202-6.
79. Nakatani Y. (1991). Pulmonary endocrine cells in infancy and childhood. *Pediatr Pathol.* 11(1):31-48.
80. *Nomina Histologica*. Revised 2nd ed. (1992). International Committee on Veterinary Histological Nomenclature and Authorized by the 8th General Assembly of the World Association of Veterinary Anatomists Gent (Belgium).
81. Noyan A. (2003). *Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji*. 13. baskı. Ankara.
82. Onuoha GN, Alpar EK. (1999). Calcitonin gene-related peptide and other neuropeptides in the plasma of patients with soft tissue injury. *Life Sci.* 65(13):1351-8.
83. Pan J, Yeger H, Cutz E. (2002). Neuronal developmental marker FORSE-1 identifies a putative progenitor of the pulmonary neuroendocrine cell lineage during lung development. *J Histochem Cytochem.* 2002 Dec;50(12):1567-78.
84. Pan J, Yeger H, Cutz E. (2004). Innervation of pulmonary neuroendocrine cells and neuroepithelial bodies in developing rabbit lung. *J Histochem Cytochem.* 52(3):379-89.
85. Pawlikowski M, Melen-Mucha G. (2004). Somatostatin analogs - from new molecules to new applications. *Curr Opin Pharmacol.* 4(6):608-13.
86. Pearsall AD, Hoyt RF Jr, Sorokin SP. (1985). Three-dimensional reconstruction of a small-granule paracrine cell cluster in an adult hamster bronchus. *Anat Rec.* 212(2):132-42, 156-7.

87. Polak JM, Becker KL, Cutz E, Gail DB, Goniakowska-Witalinska L, Gosney JR, Lauweryns JM, Linnoila I, McDowell EM, Miller YE, et al. (1993). Lung endocrine cell markers, peptides, and amines. *Anat Rec.* 236(1):169-71.
88. Redick ML, Hung KS. (1984). Quantitation of pulmonary neuroepithelial bodies in pre- and postnatal rabbits. *Cell Tissue Res.* 238(3):583-7.
89. Rehfeld JF. (2004). Clinical endocrinology and metabolism. Cholecystokinin. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 18(4):569-86.
90. Rodriguez A, Pena L, Flores JM, Gonzalez M, Castano M. (1992). Immunocytochemical study of the diffuse neuroendocrine system cells in equine lungs. *Anat Histol Embryol.* 21(2):136-45.
91. Saga T, Said SI. (1984). Vasoactive intestinal peptide relaxes isolated strips of human bronchus, pulmonary artery, and lung parenchyma. *Trans Assoc Am Physicians.* 97:304-10.
92. Sarikas SN, Hoyt RF Jr, Sorokin SP. (1985). Ontogeny of small-granule APUD cells in hamster lung: a morphological study. *Anat Rec.* 213(3):396-409.
93. Scheuermann DW. (1987). Morphology and Cytochemistry of the Endocrine Epithelial System in the Lung. *International Review of Cytology* 106: 35-88.
94. Scheuermann DW, Timmermans JP, Adriaensen D, De Groot-Lasseel MH. (1987). Immunoreactivity for calcitonin gene-related peptide in neuroepithelial bodies of the newborn cat. *Cell Tissue Res.* 249(2):337-40.
95. Scheuermann DW. (1997). Comparative histology of pulmonary neuroendocrine cell system in mammalian lungs. *Mikros Res Tech* 37:31-42.
96. Seiffert K, Granstein RD. (2002). Neuropeptides and neuroendocrine hormones in ultraviolet radiation-induced immunosuppression. *Methods.* 28(1):97-103.
97. Seuwen K, Pouyssegur J. (1990). Serotonin as a growth factor. *Biochem Pharmacol.* 39(6):985-90.
98. Shimosegawa T, Said SI. (1991). Co-occurrence of immunoreactive calcitonin and calcitonin-gene related peptide in neuroendocrine cells of rat lungs. *Cell Tissue Res.* 264: 555-561.
99. Shimosegawa T, Said SI. (1991). Pulmonary calcitonin gene-related peptide immunoreactivity: nerve-endocrine cell interrelationships. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 4(2):126-34.
100. Shu S, Ju G, Fan L. (1988). The Glucose Oxidase-DAB-Nickel Method in Peroxidase Histochemistry of the Nervous System. *Neurosci. Lett.* 85(2): 169-171
101. Sidhu GS. (1979). The endodermal origin of digestive and respiratory tract APUD cells. Histopathologic evidence and a review of the literature. *Am J Pathol.* 96(1):5-20.

102. Sissons MC, Gosney JR. (1985). Pulmonary endocrine cells immunoreactive for calcitonin in the lungs of fetal and neonatal rats. *Thorax*. 40(11):862-5.
103. Sorokin SP, Hoyt RF Jr. (1978). PAS-lead hematoxylin as a stain for small-granule endocrine cell populations in the lungs, other pharyngeal derivatives and the gut. *Anat Rec*. 192(2):245-59.
104. Sorokin SP, Hoyt RF Jr, Shaffer MJ. (1997). Ontogeny of neuroepithelial bodies: correlations with mitogenesis and innervation. *Microsc Res Tech*. 37(1):43-61.
105. Speirs V, Bienkowski E, Wong V, Cutz E. (1993). Paracrine effects of bombesin/gastrin-releasing peptide and other growth factors on pulmonary neuroendocrine cells in vitro. *Anat Rec*. 236(1):53-67.
106. Spindel ER, Sunday ME, Hofler H, Wolfe HJ, Habener JF, Chin WW. (1987). Transient elevation of messenger RNA encoding gastrin-releasing peptide, a putative pulmonary growth factor in human fetal lung. *J Clin Invest*. 80(4):1172-9.
107. Springer J, Geppetti P, Fischer A, Groneberg DA. (2003). Calcitonin gene-related peptide as inflammatory mediator. *Pulm Pharmacol Ther*. 16(3):121-30.
108. Stahlman MT, Gray ME. (1993). Colocalization of peptide hormones in neuroendocrine cells of human fetal and newborn lungs: an electron microscopic study. *Anat Rec*. 236(1):206-12.
109. Stahlman MT, Gray ME. (1997). Immunogold EM localization of neurochemicals in human pulmonary neuroendocrine cells. *Microsc Res Tech*. 37(1):77-91.
110. Stahlman MT, Kasselberg AG, Orth DN, Gray MD. (1985). Ontogeny of neuroendocrine cells in human fetal lung. II. An immunohistochemical study. *Lab Invest*. 52(1):52-60.
111. Sternberger LA. (1979). The Unlabelled Antibody Peroxidase-Antiperoxidase (PAP) Method. In: *Immunocytochemistry* (LA Sternberg, ed.). pp 104-169. John Wiley and Sons. New York
112. Sternberger LA. (1986). *Immunocytochemistry*. 3rd ed. Wiley, New York
113. Taylor W. (1977). Pulmonary argyrophil cells at high altitude. *J Pathol*. 122(3):137-44.
114. Tippins JR, Morris HR, Panico M, Etienne T, Bevis P, Girgis S, MacIntyre I, Azria M, Attinger M. (1984). The myotropic and plasma-calcium modulating effects of calcitonin gene-related peptide (CGRP). *Neuropeptides*. 4(5):425-34.
115. Tsutsumi Y, Osamura RY, Watanabe K, Yanaihara N. (1983). Simultaneous immunohistochemical localization of gastrin releasing peptide (GRP) and calcitonin (CT) in human bronchial endocrine-type cells. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 400(2):163-71.

116. Uddman R, Luts A, Sundler F. (1985). Occurrence and distribution of calcitonin gene-related peptide in the mammalian respiratory tract and middle ear. *Cell Tissue Res.* 241(3):551-5.
117. Uysal AR. Paratiroid ve metabolik kemik hastalıkları. *Temel ve Klinik Endokrinoloji.* Koloğlu S. Kozan ofset. 1996 Ankara. 317-322
118. Van den Steen P, Van Lommel A, Lauweryns JM. (1997). Effects of postnatal age and of thymectomy on hamster pulmonary neuroendocrine system and aspects of programmed cell death. *Cell Tissue Res.* 290(3):553-67.
119. Van Genechten J, Brouns I, Burnstock G, Timmermans JP, Adriaensen D. (2004). Quantification of neuroepithelial bodies and their innervation in fawn-hooded and Wistar rat lungs. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 30(1):20-30.
120. Van Lommel A. (2001). Pulmonary neuroendocrine cells (PNEC) and neuroepithelial bodies (NEB): chemoreceptors and regulators of lung development. *Paediatr Respir Rev.* 2(2):171-6.
121. Van Lommel A, Bolle T, Fannes W, Lauweryns JM. (1999). The pulmonary neuroendocrine system: the past decade. *Arch Hist Cyto* 62(1): 1-16
122. Van Lommel A, Lauweryns JM. (1993). Neuroepithelial bodies in the Fawn Hooded rat lung: morphological and neuroanatomical evidence for a sensory innervation. *J Anat.* 183 (3):553-66.
123. Van Lommel AT, Lauweryns JM. (1993). Ultrastructure and innervation of neuroepithelial bodies in the lungs of newborn cats. *Anat Rec.* 236(1):181-90.
124. Van Lommel A, Lauweryns JM. (1997). Postnatal development of the pulmonary neuroepithelial bodies in various animal species. *J Auton Nerv Syst.* 65(1):17-24.
125. Van Lommel A, Van den Steen P, Lauweryns JM. (1995). Association of immune cells with neuroepithelial bodies in the lungs of neonatal dogs, cats and hamsters. *Cell Tissue Res.* 282(3):519-22.
126. Verastegui C, Prada Oliveira A, Fernandez-Vivero J, Romero A, de Castro JM. (1997). Calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in adult mouse lung. *Eur J Histochem.* 41(2):119-26.
127. Walker DW. (1984). Peripheral and central chemoreceptors in the fetus and newborn. *Annu Rev Physiol.* 46:687-703.
128. Wang D, Post M, Cutz E. (1999). Expression of serotonin receptor 2c in rat type II pneumocytes. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 20(6):1175-80.
129. Wang D, Youngson C, Wong V, Yeger H, Dinauer MC, Vega-Saenz Miera E, Rudy B, Cutz E. (1996). NADPH-oxidase and a hydrogen peroxide-sensitive K⁺ channel may function as an oxygen sensor complex in airway chemoreceptors and small cell lung carcinoma cell lines. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 93(23):13182-7.

130. Wang YY, Cutz E. (1993). Localization of cholecystokinin-like peptide in neuroendocrine cells of mammalian lungs: a light and electron microscopic immunohistochemical study. *Anat Rec.* 236(1):198-205.
131. Widdicombe J.(2001). Airway receptors. *Respir Physiol.* 125(1-2):3-15.
132. Yeger H, Speirs V, Youngson C, Cutz E. (1996). Pulmonary neuroendocrine cells in cultures of human infant airway mucosa from postmortem tissues. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 15(2):232-6.
133. Youngson C, Nurse C, Yeger H, Cutz E. (1993). Oxygen sensing in airway chemoreceptors. *Nature.* 365(6442):153-5.

9. ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Aksaray ili Merkez ilçesine bağlı Yenikent kasabasında doğdum. Yenikent İlkokulunda başladığım ilkokul eğitimimi 2. sınıfta gittiğim Almanya’da tamamladım. Orta ve lise eğitimimi Aksaray ili Merkez ilçesinde bitirdim. 1994 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazandım ve 1999 yılında Veteriner Hekim ünvanı ile mezun oldum. Doktora eğitimime 1999 Eylül döneminde Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında başladım ve 15.12.2000 tarihinde Araştırma Görevlisi kadrosuna atandım. Halen aynı Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktayım. Evliyim ve 1 kız çocuğu babasıyım.