

# Kronik melatonin enjeksiyonunun renin granülleri üzerindeki histolojik etkisi

Kemal Ergin, Hatice Kübra Başaloğlu

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Aydın.

## Özet

Birçok çalışmada melatoninin böbrek fonksiyonları ile doğrudan veya dolaylı ilişkisi olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmanın amacı kronik melatonin enjeksiyonundan sonra böbrekteki jukstaglomerüler aparatusta bulunan renin granüllerindeki olası histolojik değişiklikleri araştırmaktır. Yirmi altı adet Wistar cinsi dişi sıçan iki gruba bölünmüştür: kontrol (K) grubu (n=11) ve kronik olarak melatonin enjekte edilen (M) grup (n=15). Melatonin 3 hafta boyunca hergün, subkutan olarak 1 mg/kg dozunda ve 2 cc hacimde enjekte edildi. Deneyin sonunda böbrekten alınan seri kesitler Hematoksilen-eosin, periodik asit schiff (PAS) ve Van Gieson boyaları ile boyandı. Hematoksilen-eosin ve Van Gieson ile boyanmış böbreklerde iki grup arasında herhangi bir farklılık gözlenmedi. PAS ile boyanan böbrek kesitlerinde ise M grubunda renin granüllerinde (jukstaglomerüler hücrelerde) niteliksel olarak bir artış gözlemlendi. Bu artışın melatoninin böbrek ve kan basıncı üzerindeki düzenleyici etkisi sonucu olduğu düşünüldü.

**Anahtar kelimeler:** Melatonin, renin granülü, böbrek

## Abstract

### Histological effect of chronically injected melatonin on the renin granules

Many studies have reported that melatonin has a relationship with kidney functions directly or indirectly. The aim of this study was to examine the possible histological changes at renin granules in the juxtaglomerular apparatus in the kidneys after chronically injection of melatonin. Twenty six female Wistar rats were divided into two groups: control (C) group (n=11) and chronically melatonin injected (M) group (n=15). Melatonin was injected subcutaneously 1 mg/kg daily in a volume of 2 cc for 3 weeks. At the end of the experiment, serial sections of kidneys were stained with Hematoxylen-eosin, periodic acid schiff (PAS) and Van Gieson stain. In Hematoxylen-eosin and Van Gieson stained kidneys, no different histological changes was observed in both group. In the PAS stained kidney sections, an increase has been detected in the renin granules (juxtaglomerular cells), qualitatively in the M group. It is thought that this increase might be the regulatory effect of melatonin on kidneys and blood pressure.

**Key words:** Melatonin, renin granule, kidney

Bu çalışma 18-21 Mayıs 2004 tarihinde Mersin’de yapılan VII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi’nde poster olarak sunulmuştur

## Giriş

Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine) pineal bez tarafından sentezlenen ve salgılanan bir üründür. Bu sentez ve salınım günün karanlık evresinde artan, aydınlık evresinde ise azalan, diurnal varyasyon gösteren siklik bir ritme sahiptir (1). Melatoninin böbrek fonksiyonları ile doğrudan veya dolaylı olarak çok yakın bir ilişki içinde olduğu bildirilmiştir (2, 3). Renal kortekste melatoninine ait

reseptörler bulunmuş ve bunlar renin salınımı ve glomerüler filtrasyondan sorumlu tutulmuşlardır (2, 3). Bununla birlikte melatoninin endojen ve santral hipotansif etkisi üzerinde de durulmuştur (4). Pinealektomi sonrası sıçanlarda hipertansiyon geliştiği bildirilmiş ve bundan artmış plazma renin aktivitesiyle birlikte renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi sorumlu tutulmuştur (5, 6, 7). Ayrıca hipotansif sıçanlarda kronik melatonin uygulamasının bradikardiye ve hipotansiyona neden olduğu ve vazodilatasyonu arttırdığı bildirilmiştir (8). Bizim çalışmamızın amacı da üç hafta süreyle enjekte edilen melatoninin sıçanların böbreklerindeki jukstaglomerüler aparatusta ve buradaki renin granüllerinde meydana

**Yazışma Adresi:** Yrd. Doç. Dr. Kemal Ergin  
7 Eylül Mahallesi, 1001 Sokak, No: 3, Asim Sanlı Apt., Daire: 6,  
Kat:3, 09100- Aydın.  
Tel: +90 256 2253166 - 0535 3090102 Fax: +90 256 2123169;  
E-mail: kemergin@yahoo.com

getirebileceği olası histolojik değişiklikleri ışık mikroskobu düzeyinde incelemektir.

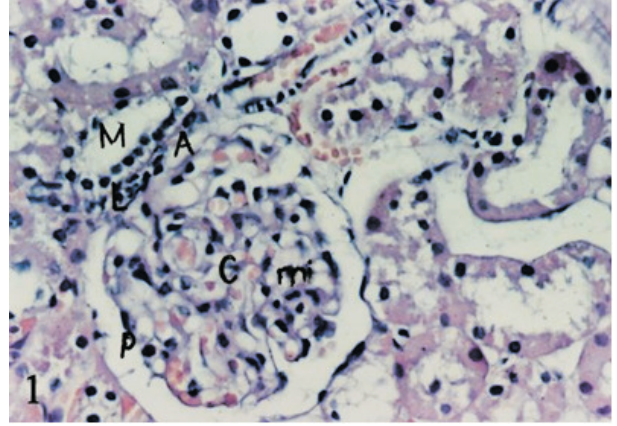
### Gereç ve Yöntem

Çalışmamızda yaklaşık aynı yaş ve ağırlıkta (ortalama 200 gr) 26 adet dişi Wistar cinsi sıçan kullanıldı. Aynı oda ve çevre koşullarında tutulan sıçanlar, standart pellet yem ve suyla beslendi ve aynı gruptan 2-3 sıçan olacak şekilde kafeslendi. Sıçanlar iki gruba ayrıldı: Kontrol (K) grubu (11 adet) ve kronik melatonin enjekte edilen (M) grup (15 adet). Melatonin (Acros company) serum fizyolojik içindeki % 1'lik etanolde çözündürüldü ve subkutan olarak 21 gün süreyle, hergün 15.00- 16.00 saatleri arasında, 1 mg/kg dozda ve 2 cc hacminde enjekte edildi (9). K grubuna da aynı hacimde serum fizyolojik enjekte edildi. Deneyin sonunda, her iki gruptaki sıçanlara ketamin anestezisi yapıldı ve %10'luk formaldehitte intrakardiyak perfüzyon uygulandı. Perfüzyondan sonra sıçanların böbrekleri çıkarıldı ve her bir böbrek, hilustan koronal insizyonla iki parçaya bölünerek %10'luk formaldehitte tespit edildi. Bundan sonra böbrekler rutin histolojik prosedüre (dehidratasyon ve şeffaflaştırma) tabi tutuldu ve parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan bir mikrotom (Leica RM 2135) ile rastgele olarak 5 mikronluk kesitler alındı. Bu kesitler Hematoksilen-eosin, PAS (periodik asit schiff) ve Van Gieson boyaları ile boyanıp, entellan ile kapatıldı. Kesitler ışık mikroskobu (Olympus BX 50) ile incelenip fotoğrafları çekildi. Çalışmamıza Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu'nca onay verilmiştir.

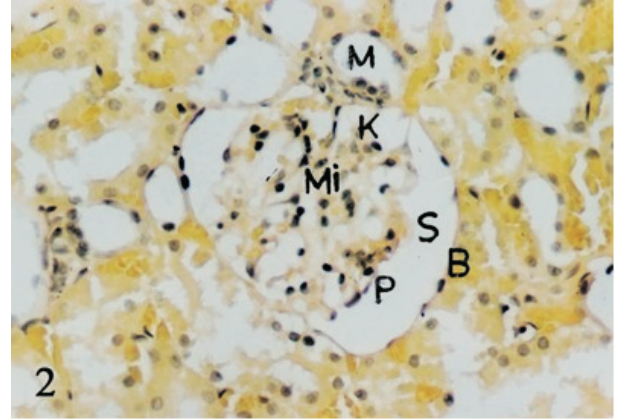
### Bulgular

K grubunda: hematoksilen-eozin ile boyanan kesitlerde, böbrekler dışta korteks (koyu renkli) ve içte medulla (açık renkli) olmak üzere iki bölüm halinde gözlemlendi. Korteksin her bölgesine yayılmış böbrek cisimcikleri (=korpuskulum renale: glomerül ve Bowman kapsülünün parietal ve visseral yaprakları) ve onlara ait jukstaglomerüler apparatuslar gözlemlendi (Resim 1). Van Gieson ile boyanmış dokularda korpuskulum renale ve jukstaglomerüler apparatusdaki hücrelerin nükleusları kahverengi-siyah renkte, bu hücrelerin sitoplazmaları ve mezangial matriks koyu sarı renkte, Bowman kapsülünün parietal yaprağı da kahverengi-siyah renkte görüldü. Korpuskulum renale ve glomerüllerin boyutları ve şekilleri normal olarak izlendi (Resim 2). PAS ile boyamada, intraglomerüler ve ekstraplomerüler hücre nükleusları ve Bowman kapsülünün visseral ve parietal yapraklarındaki nükleuslar mavi renkte izlenmiştir. Bowman kapsülünün parietal tabakasının bazal

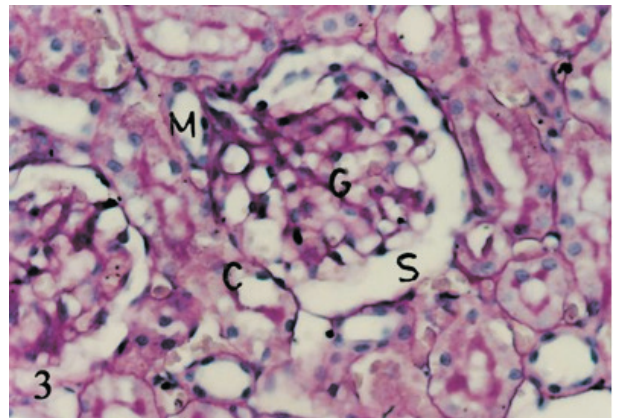
membranı ve intraglomerüler mezangial matriks ise PAS pozitif (koyu kırmızı) boyanmıştır (Resim 3).



Resim 1. Kontrol (K) grubuna ait böbrek cisimciği (glomerül ve Bowman kapsülü), damar kutbu ve jukstaglomerüler apparatus gözlenmektedir. H&E boyası (x400).



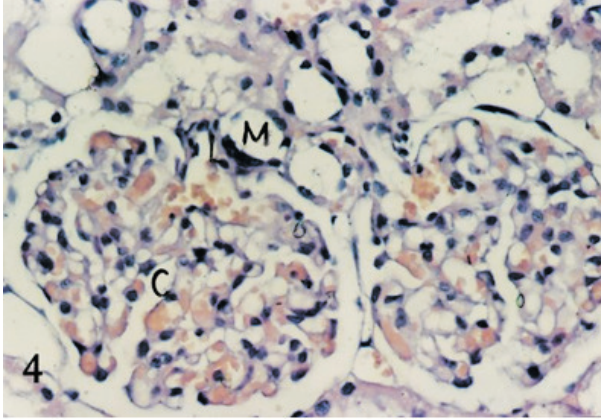
Resim 2. K grubunda; Van Gieson boyası ile korpuskulum renale ve jukstaglomerüler apparatusdaki hücrelerin nükleusları ve Bowman kapsülünün parietal yaprağı kahverengi-siyah renkte, bu hücrelerin sitoplazmaları ve mezangial matriks koyu sarı renkte izlenmektedir. Van Gieson boyası (x400).



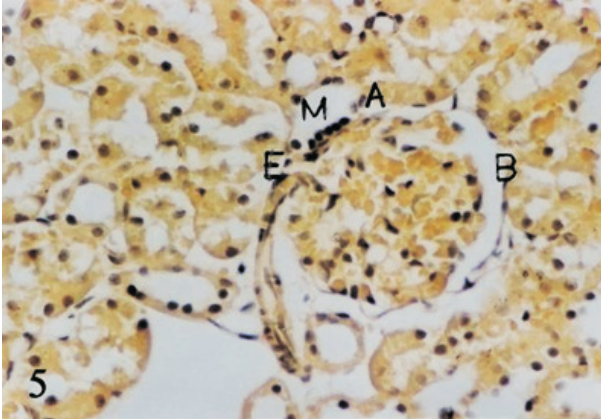
Resim 3. K grubunda, PAS boyası ile intraglomerüler ve ekstraplomerüler hücre nükleusları, Bowman kapsülünün visseral ve parietal yapraklarındaki nükleuslar mavi renkte, Bowman kapsülünün parietal tabakasının bazal membranı ve intraglomerüler mezangial matriks ise koyu kırmızı (PAS pozitif) gözlenmektedir. PAS boyası (x400).



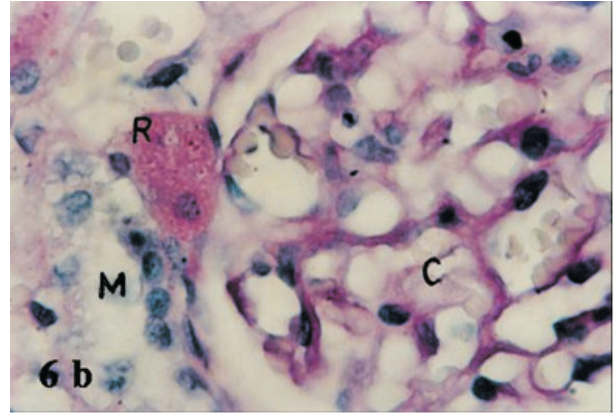
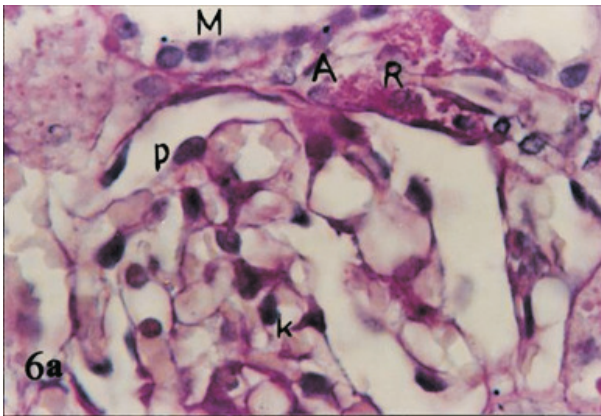
M grubunda: K grubuna kıyasla Hematoksilen-eozin ve Van Gieson ile boyanan böbreklerde korpuskulum renale ve jukstaglomerüler aparatusta herhangi bir histolojik değişiklik gözlenmezken (Resim 4, 5) PAS ile boyanan dokularda afferent arteriollerin jukstaglomerüler hücrelerindeki renin granüllerinde belirgin bir artış saptandı (Resim 6 a,b).



Resim 4. Melatonin (1 mg/kg/gün) enjekte edilen (M) grupta, C grubu ile karşılaştırıldığında korpuskulum renale ve jukstaglomerüler aparatusta herhangi bir histolojik farklılık gözlenmemektedir. H&E boyası, (x400).



Resim 5. M grubunda, C grubu ile karşılaştırıldığında korpuskulum renale ve jukstaglomerüler aparatusta herhangi bir histolojik farklılık gözlenmemektedir. Van Gieson boyası, (x400).



Resim 6a-6b. PAS ile boyanan dokularda afferent arteriollerin jukstaglomerüler hücrelerindeki renin granüllerinde belirgin bir artış gözlenmektedir. 6a. PAS boyası, (x400), 6 b. PAS boyası, (x1000).

C= korpuskulum renale, G= glomerül, M= makula densa, A= afferent arteriol, P= podosit, L= "laciş" hücresi, B= Bowman kapsülünün parietal tabakası, Mi= intraglomerüler mesenjial hücre, S= Bowman aralığı, R= renin granülleri, K= kapiller endotelial hücre, E= efferent arteriol, J= jukstaglomerüler hücre

### Tartışma

Aktif renin, böbreklerdeki jukstaglomerüler hücrelerde bulunan sekretuar granüllerde üretilir. Normal koşullar altında, insan böbreğindeki jukstaglomerüler hücrelerde granül görülmez veya çok az gözükür ve bunların lokalizasyonu perinükleardır (10). Hipergranülasyon durumlarında, hücreler afferent arteriölün mediasına kadar yayılır ve tek bir tabaka gibi sıralanırlar, sitoplazmaları daha diffüz hale gelir ve granülleri daha büyük gözlenir (11). Çalışmamızda, melatonin enjeksiyonu sonrası renin granülleri de bu şekilde görüldü.

Jukstaglomerüler hücrelerdeki granül sayısı arttıkça renin sekresyonu artar (10, 12). Klinik olarak hipotansiyon, renal arter veya aortanın daralması durumlarında da renin salgılanması artar (10). Yapılan bir çalışmada kronik melatonin uygulaması sistolik ve diastolik kan basıncını azaltmıştır (8, 13). Bununla birlikte melatonin karotis arterin nabızında ve katekolamin seviyelerinde belirgin bir düşüşe sebep olmuştur (14). Başka bir çalışmada da sıçanlarda pinealektomiden sonra arteriyel kan basıncında ve renin aktivitesinde bir artış saptanmış (5, 7), ardından farmakolojik dozlarda verilen melatonin sistolik kan basıncında belirgin bir düşüşe sebep olmuştur (5). Ayrıca melatonin endojen bir hipotansif faktör olarak etkimiş ve bu durum, melatoninin adrenerjik yolun santral inhibisyonunu arttırdığı sonucunu doğurmuştu (5, 15). Bununla birlikte melatoninin kan basıncını hipotalamusa etkiyerek, katekolamin seviyelerini düşürerek veya aort duvarındaki düz kasların relaksasyonunu sağlayarak da düşürdüğü

düşünülmüştür (16). Song ve ark. gine domuzlarının böbreklerindeki kortekste daha fazla saptadıkları iodomelatonin bağlanma bölgeleri sayesinde melatoninin renal sisteme doğrudan bir etkisi olabileceğini bildirmişlerdir. (3). Böylece melatoninin renin sekresyonunu, günlük glomerül filtrasyonunu, üre ekskresyonunu ve kationların sekresyonunu düzenlediğini düşünmüşlerdir (3, 4)

Çalışmamızda sıçanların kan basıncı ölçülmemiş olmakla birlikte melatoninin böbrekler üzerindeki etkisi üzerine odaklanılmış ve üç hafta boyunca farmakolojik dozda verilen melatoninin afferent arteriollerde lokalize jukstaglomerüler hücrelerin renin granüllerinde histolojik olarak bir artışa sebep olduğu gözlenmiştir. Bu bulguların melatoninin böbrekler ve kan basıncı üzerindeki düzenleyici etkisi ile oluştuğu düşünülmüştür. Bununla birlikte bu etkileri oluşturan mekanizmaların tam olarak anlaşılması için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

#### **Teşekkür**

ADÜ Tıp Fak. Anatomi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hulki Başaloğlu'na ve ADÜ Araştırma Fonu'na desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

#### **Kaynaklar**

1. Nowak YZ, Zawilsha YB. Melatonin and its physiological and therapeutic properties. *Pharm World Sci* 1998; 20:18-27.
2. Song Y, Poon AMS, Lee PPN, Pamg SF. Putative melatonin receptors in the male guinea pig kidney. *J Pineal Res* 1993;15:153-160.
3. Drew JE, Williams LM, Hannalı LT, Barrett P, Abramovich DR. Melatonin receptors in the human fetal kidney: 2-[1 125] iodomelatonin binding sites correlated with expression of Mel 1a and Mel 1b receptor genes. *J Endocrinol* 1998;156:261-7.
4. Laflamme AK, WU L, Faucart S, Champlain Y. Impaired basal sympathetic tone and alfa1 adrenergic responsiveness in association with the hypotensive effect of melatonin in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1998;11(2): 219-2,.
5. Burgess HJ, Sletten T, Savic N, Gilbert SS, Dawson D. Effects of bright light and melatonin on sleep propensity temperature and cardiac activity at night. *J Appl Physiol* 2001;91(3):1214-22.
6. Karppanen H, Vapaatalo H, Lahovaara S, Paasonen MK. Studies with pinealectomized rats. *Pharmacology* 1970;3(2):76-84.
7. Zanoloni A, Zanoloni-Muciaccia W. Experimental hypertension in pinealectomized rats. *Life Sci* 1967;6:2327-31.
8. Girouard H, Chulak C, Kejossec M, Lamontahne D, Champlain Y. Vasorelaxant effects of the chronic treatment with melatonin on mesenteric artery and aorta of spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2002;19:1369-77.
9. Esquino AI, Moreno ML, Steger RW. Effects of chronic melatonin administration on adrenal medulla catecholamine metabolism in adult male golden hamsters. *J Pineal Res* 1994;16(3):154-8.
10. Itskovitz HD, Hildreth EA, Sellers AM, Blakemore WS. The Granularity of the juxtaglomerular cells in human, Histologic and clinical correlations. *Ann Intern Med* 1963;59(1):8-23.
11. Hartroft PM, Hartroft WS. Studies on renal juxtaglomerular cells, variations produced by sodium chloride and desoxy corticosterone acetate. *J Exp Med* 1953;97:415-29.
12. Lindop GB. Morphological aspects of renin synthesis, processing, storage, and secretion. *Kidney Int* 1987;20:18-24.
13. Lusardi P, Preti P, Savino S, Piazza E, Zoppi A, Fogari R. Effect of bedtime melatonin ingestion on blood pressure of normotensive subjects. *Blood Press Monit* 1997;2(2):99-103.
14. Arangino S, Cagnacci A, Angiolucci M et al., Effects of melatonin on vascular reactivity, catecholamine levels, and blood pressure in healthy men. 1999;83(9):1417-9.
15. Kawashima K, Nagahura A, Wurzbürger R, Spector S. Melatonin in serum and the pineal of spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens (A)* 1984;6:1517-28.
16. Sewerynek E. Melatonin and the cardiovascular system. *Neuroendocrinol Lett* 2002;23(1): 79-83.