

# Recombinant Human IGF-I (Insülin-Like Growth Factor-I) Enjeksiyonunun Ratlarda (*Wistar albino*) *Musculus gastrocinemius* Üzerine Etkileri <sup>[1][2]</sup>

Meryem Demircan POYRAZ \* Şahin ASLAN \*\* 

[1] Kafkas Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Fonu Tarafından Desteklenmiştir (Proje No:2004-VF-05)

[2] Yüksek Lisans Tezinden Özetlenmiştir

\* Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik Bölümü, Ayşe Kadın Kampüsü, TR-220030 Edirne - TÜRKİYE

\*\* Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, TR-36100 Kars - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2011-4890

## Özet

Bu çalışma, rh IGF-I enjeksiyonunun ratların, m. gastrocnemius'u üzerine etkilerinin histolojik yöntemlerle araştırılması amacı ile yapılmıştır. Bu çalışmada deney hayvanı olarak 30 adet dişi rat 2 gruba ayrılıp kullanıldı. Deney grubundaki ratlara 7 gün süre ile rh IGF-I subkutan enjekte edildi. Enjeksiyonu takip eden 8. günde devamında 15. günde ve 22. gün de ratlar tartılarak, servikal dislokasyon yapıldı ve m. gastrocnemius kası alındı. Rh IGF-I uygulamasının canlı ağırlık artışı istatistiksel düzeyde önemli olmasa da gastrocnemius kasında hücre sayısının ve çapının artışı üzerinde olumlu etkiler yaptığı tespit edildi.

**Anahtar sözcükler:** Rh IGF-I, Rat, *Musculus gastrocinemius*

## The Effects of Recombinant Human IGF-I Injection on *Musculus gastrocinemius* of Rats (*Wistar albino*)

### Summary

The purpose of the present study was to investigate the effects of rh IGF-I injection on the rat m. gastrocnemius by using histological methods. Total of 30 female rats (*Wistar albino*) were divided into two groups. Rh IGF-I was subcutaneously injected in to rat for 7 days. At the end of the injection period, rats were weighed and cervical dislocation was made, and then m. gastrocnemius was removed from one experiment and one control group rat for each corresponding days to between the 8th, 15th and 22th days. Histological preparations and histometrical measurements were carried out for the muscle samples. In conclusion, rh IGF-I injection increased in both diameter and number of rat gastrocnemius muscle without a statistically significant weight gain.

**Keywords:** Rh IGF-I, Rat, *Musculus gastrocinemius*

## GİRİŞ

İskelet kası telleri morfolojik olarak, beyaz, kırmızı ve orta (intermedyer) kas telleri olmak üzere üç gruba ayrılırlar. M. gastrocnemius kası kırmızı kas telleri bakımından zengindir <sup>1,2</sup>.

Memeli kas teli çapları 10-150 µm değerleri arasındadır <sup>1,2</sup>. Kasın hareket tipi, egzersiz, yaş, beslenme ve tabii olunan sınıfa bağlı olarak da kas tellerinin çapı değişmektedir <sup>2</sup>.

İnsülin'in, IGF-I ve IGF-II'nin organogenesis ve gelişme-

deki rolü nadir görülen leprekaunizm (bir çeşit cücelik) olgularında açıklanmıştır <sup>3</sup>.

İnsülin en güçlü metabolik hormon olmakla birlikte IGF'lerin büyümeyi uyarmada daha güçlü olduğu saptanmıştır <sup>3</sup>.

IGF-I'in salınımının başlıca düzenleyicisinin besinsel faktörler ve GH(Growth Hormon) olduğu, glikokortikoidlerin ve protein yetersizliğinin plazmadaki IGF etkinliğini azalttığı ve yüksek dozdaki östrojenin ise IGF-I yapımını baskıladığı belirtilmiştir. Tedavi edilmeyen şeker hastalığı



### İletişim (Correspondence)



+90 474 2426836/1337



sahinaslan0644@hotmail.com

ğında IGF'lerin salgılanmasının azaldığı ancak insülin tedavisi ile normale döndüğü saptanmıştır <sup>3</sup>.

IGF-I'nin, GH tarafından uyarılması, büyümeyi teşvik edici etkinlik olarak belirlenmiştir. GH'un plazma derişiminin çocukluk çağında yükseldiği, pubertede doruğa ulaştığı ve sonra ileri yaşta azaldığı saptanmıştır. IGF-I'nin de endokrin ve parakrin mekanizma ile GH'nın bazı etkilerine aracılık ediyor olabileceği bildirilmiştir <sup>4</sup>.

Kolostrumdaki IGF-I'nin yeni doğanların gastrointestinal gelişiminde rol oynadığı, Ayrıca IGF-I seviyesi ile doğum ağırlığı ve gebelik yaşı arasında pozitif bir bağlantı belirtilmiştir <sup>5</sup>.

IGF-I'nin malnütrisyon, kronik böbrek yetmezliği ve total parantral beslenme (TPN) üzerine anabolik etkileri de saptanmıştır <sup>5</sup>.

İskelet kaslarının normal postnatal gelişiminin yaş, beslenme, cinsiyet hormonları, fiziksel aktivite, insülin ve IGF'ler tarafından düzenlendiği bildirilmiştir <sup>6-8</sup>. İskelet kaslarındaki GH'un etki mekanizması açık olmamasına rağmen IGF-I'nin dolaşımdaki miktarının artırarak etkimesi önemli bir mekanizma olarak kabul edilmiştir. Normal iskelet kaslarında IGF-I mRNA ekspresyonunun GH tarafından düzenlendiği belirtilmiştir <sup>7,8</sup>.

İskelet kası dokusunda IGF-I'nin, IGF-IR'ü sayesinde direkt insülin gibi etki ettiği bildirilmiştir. Ratlarda IGF-I'nin iskelet kasına etkisinin gerek bir defa gerekse birkaç hafta ile verilmesi durumunda meydana gelebileceği de bildirilmiştir. Ancak IGF-I'nin uzun süren tedavilerinde iskelet kası dokusundaki etkilerinin insüline benzediği ancak yağ dokusunda bu etkinin insüline benzemediği saptanmıştır <sup>4</sup>.

IGF-I'nin ratlarda yanık yaralarında iskelet kasında protein sentezini uyardığı ve protein parçalanmasını baskıladığı bildirilmiştir <sup>9</sup>.

IGF-I, IGF-II ve IGF-III'nün genetik olarak ortadan kaldırıldığı farelerde doğumda önemli derecede büyüme geriliği gözlenmiştir <sup>10</sup>. Özellikle insanlarda umbilikal kanda bulunan IGF-I miktarı ile fetus ağırlığı ve doğum ağırlığı arasında doğru orantı olduğu saptanmıştır <sup>5</sup>.

Tavuk embriyosunda IGF-I'nin iskelet kası üzerine etkisi *in vitro* olarak IGF-I' in myogenin genini stimüle ederek myoblast diferensiyasyonunu hızlandırdığı, ayrıca protein yıkımını azaltıp besin alınımını arttırarak myoblastlarda proliferasyonu hızlandırdığı görülmüştür <sup>11-14</sup>.

Hipofizektomili ratlarda GH infüzyonu yapıldığında iskelet kaslarında IGF-I mRNA düzeyini etkilediği gözlenmiştir. Bu noktadan hareketle kas IGF-I düzeylerinin GH tedavisi ile yükseltilebileceği yorumu yapılmıştır <sup>8</sup>.

IGF-I uygulamasının, iskelet kası miyofibrillerinin hipertrofinde, doku kültüründe miyoblastların farklılaşmasının uyarılmasına ve normal ratlarda vücut ağırlığının artmasına neden olduğu bildirilmiştir <sup>15</sup>.

Glikokortikoid uygulamasının kas liflerinin çapının azalmasına neden olduğu ancak eş zamanlı IGF-I uygulamasının glikokortikoide bağlı kas atrofisini bariz bir şekilde azalttığı, bunun sonucu olarak kas atrofisi ile karakterize nöromusküler hastalıklarda IGF-I'nin yararlı olabileceği bildirilmiştir <sup>15</sup>. IGF-I'nin kas üzerine etkilerinin daha çok dolaşımdaki normal ya da normale yakın konsantrasyonları ile olduğu bildirilmiştir <sup>16,17</sup>.

Bir diğer araştırmada <sup>18</sup> rat kalp kaslarının IGF-I'ye yağ dokudan 20 kat daha hassas olduğu ve muhtemelen IGF-I'nin, IGF reseptörleri vasıtasıyla kalpte glukoz metabolizmasını etkilediği bildirilmiştir. IGF-I'nin fizyolojik konsantrasyonlarının uygulanmasının, kaslarda glikojen ve protein sentezinde bir artışa yol açabileceği belirtilmiştir.

Kocamış ve arkadaşları <sup>19</sup> tarafından, 3 günlük tavuk embriyolarına *in ovo* recombinant human IGF-I enjeksiyonunun (100 ng/per embriyo) embriyo aşamasında ve takiben yumurtadan çıktıktan sonra çizgili kas gelişimini artırdığı saptanmıştır.

IGF-I'nin güçlü bir büyüme faktörü olduğu ve hedef organda protein sentezini artırdığı gözlenmiştir. IGF-I'nin kas dokusunda protein sentezi üzerine maksimum etkisinin 100 ng/ml konsantrasyonda olduğu bildirilmiştir <sup>15</sup>.

Çalışmamızın amacı, IGF-I'nin subkutan enjeksiyonunun, ratların m. gastrocnemius üzerine etkilerininin histolojik yöntemlerle incelenmesidir.

## MATERYAL ve METOT

Bu çalışmada deney hayvanı olarak, ağırlıkları 95±5g arasında değişen 30 adet dişi rat (*Wistar albino*) kullanıldı. Ratlar 15'erli iki gruba ayrıldı ve ayrı kafeslere alınarak aşağıda belirtilen enjeksiyon prosedürü uygulandı <sup>19</sup>.

### Enjeksiyon Prosedürü

Deney grubuna uygulanacak olan Rh IGF-I (recombinant human IGF-I) Dr. A. F. PARLOW (UCLA, CA, USA) tarafından sağlandı. Deney grubundaki ratlara 7 gün her 24 saatte bir aynı saatte 100 ng/kg/gün dozunda ve 0.01 M NaHCO<sub>3</sub> içerisinde çözdürülmüş, Rh IGF-I subkutan olarak enjekte edildi. Kontrol grubuna ise yine 7 gün her 24 saatte bir sadece 0.01 M NaHCO<sub>3</sub> subkutan olarak enjekte edildi. Amaç enjeksiyon stresi açısından her iki grup arasındaki koşulları eşitlemekti.

Her iki gruptaki hayvanlar aynı koşullarda, 12 saat ışık 12 saat karanlık ortamda tutuldu. Standart pelet yem ve musluk suyu *ad libitum* olarak verildi.

ETS 123 sayılı 1996 tarihli Deneysel ve Diğer Bilimsel Amaçlarla Kullanılacak Omurgalı Hayvanların Korunması Hakkındaki Avrupa Sözleşmesi kurallarına uygun olarak hayvanlara muamele edildi.

### Histolojik Yöntemler

Yedi günlük enjeksiyonu izleyen ilk 24. saatte (8. gün) deney ve kontrol gruplarından 5'er hayvan tartıldıktan sonra eter anestezisi altında servikal dislokasyon yapılarak m. gastrocinemius alındı. Bu birinci grup olarak adlandırıldı. İkinci gruba aynı işlem, enjeksiyonun başlangıcından sonraki 15. günde, üçüncü gruba ise 22. günde uygulandı ve dokular alındı.

Alınan dokulardan rutin preparat hazırlama tekniği ile yapılan bloklardan 5-6 µm kalınlığında kesitler alınıp, üçlü boyama (Crossman's Triple Stain)<sup>20</sup> uygulandı.

Üçlü boyama uygulanan hayvanlara ait preparatların her birinde 50 farklı alanda olmak üzere birim alana düşen kas hücreleri sayıldı ve kas hücre çapları ölçüldü. Mikrometrik ölçümler, mikroskoba uyarlanan oküler mikrometre yardımıyla yapıldı. Hücre sayımları birim alanda (0.01 mm<sup>2</sup>, birim alan kabul edildi) yapıldı. Yapılan ölçümler µm değerlerine çevrildi. Her grup için ayrı ayrı elde edilen verilerin ortalamaları hesaplandı ve istatistiksel değerlendirme için t-testi uygulandı. İstatistiksel analizler için minitab programı<sup>21</sup> ve ANOVA<sup>22</sup> uygulandı.

### BULGULAR

Histolojik bulgular genel bilgilere paralel olarak bütün gruplarda benzer şekilde izlendi (*Şekil 1, 2*).

**8. Gün:** 8. günde deney grubu ile kontrol grubu arasında, hücre çapı ve kas tellerinde birim alana düşen hücre sayısı açısından yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak bir farklılık saptanmadı (*Tablo 1, 2*).

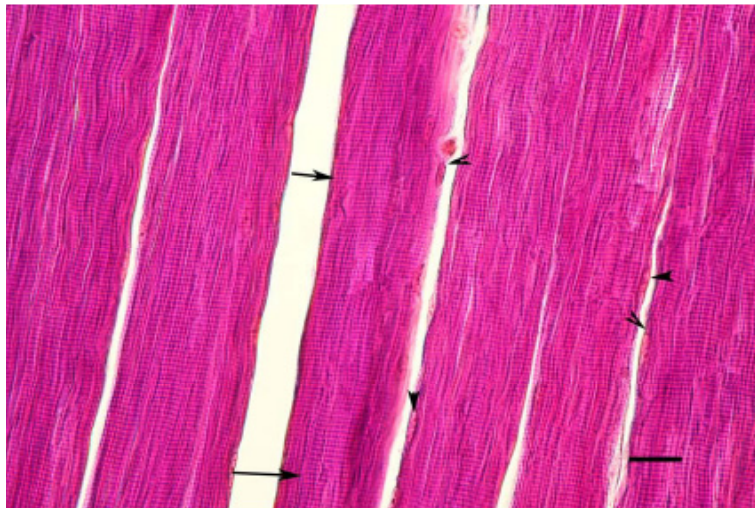
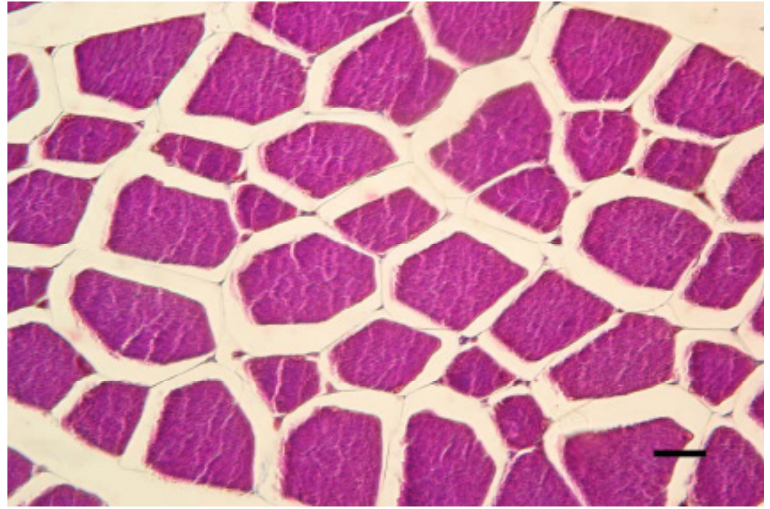
**15. Gün Kontrol Grubu:** Hücre çapları, minimum 33.54 µm, maksimum 79.98 µm, ortalama 54.09±0.59 µm olarak ölçüldü (*Tablo 1*). Birim alana düşen hücre sayısı, minimum 35.00, maksimum 72.00, ortalama 47.45±0.36 olarak sayıldı (*Tablo 2*).

**15. Gün Rh IGF-1 Uygulanan Grup:** Hücre çapları, minimum 28.38 µm, maksimum 87.72 µm, ortalama 50.94±0.53 µm olarak ölçüldü. Hücre çapı ölçümleri açısından 15. günde kontrol grubu ile aralarında istatistiksel açıdan P<0.001 düzeyinde önemli fark olduğu belirlendi (*Tablo 1*).

Birim alana düşen hücre sayısı, minimum 38.00, maksimum 69.00, ortalama 50.90±0.35 olarak sayıldı. Kas tel-

**Şekil 1.** 22. gün rh IGF-1 uygulanan grupta m. gastrocinemius'un enine kesiti, Üçlü boyama, Bar: 76 µm

**Fig 1.** The transversal section of m. gastrocinemius of rat injected by rh IGF-1 (day 22), Tripple staining, Scale Bar: 76 µm



**Şekil 2.** 22. gün kontrol grubunda m. gastrocinemiusta boyuna kesitte bantlaşmanın görünümü. Ok başı: Çekirdek, Oklar: Bantlaşma, Üçlü boyama, Bar: 76 µm

**Fig 2.** The longitudinal section of m. gastrocinemius of control rats showing banding (day 22), Arrowhead: Nucleus, Arrows: Banding, Tripple staining, Scale Bar: 76 µm

lerinde birim alana düşen hücre sayısı açısından 15. günde kontrol grubu ile aralarında istatistiksel açıdan  $P<0.001$  düzeyinde önemli fark olduğu belirlendi (Tablo 2).

**22. Gün Kontrol Grubu:** Hücre çapları, minimum 28.38  $\mu\text{m}$ , maksimum 85.14  $\mu\text{m}$ , ortalama  $56.20\pm 0.64$   $\mu\text{m}$  olarak ölçüldü (Tablo 1). Birim alana düşen hücre sayısı, minimum 35.00, maksimum 68.00, ortalama  $47.49\pm 0.40$  olarak sayıldı (Tablo 2).

**22. Gün IGF-I Uygulanan Grup:** Hücre çapları, minimum 30.96  $\mu\text{m}$ , maksimum 92.88  $\mu\text{m}$ , ortalama  $58.10\pm 0.69$   $\mu\text{m}$  olarak ölçüldü. Hücre çapları açısından 22. günde kontrol grubu ile aralarında istatistiksel açıdan  $P<0.01$  düzeyinde önemli fark olduğu belirlendi (Tablo 1).

Birim alana düşen hücre sayısı, minimum 35.00, maksimum 71.00, ortalama  $50.00\pm 0.53$  olarak sayıldı. Kas tellerinde birim alana düşen hücre sayısı bakımından 22. günde kontrol grubu ile aralarında istatistiksel açıdan  $P<0.01$  düzeyinde önemli fark olduğu belirlendi (Tablo 2).

Hücre çapları bakımından grupların kendi içlerinde yapılan istatistiksel karşılaştırmalarında hem kontrol gruplarının hem de IGF-I uygulanan grupların her üçü arasında istatistik açıdan önemli bir fark olduğu tespit edildi (Tablo 1).

Birim alana düşen hücre sayısı bakımından grupların kendi içlerinde yapılan istatistiksel karşılaştırmalarında; 1. kontrol grubu ile 2. ve 3. kontrol grupları arasında önemli bir fark olduğu, ancak 2. ve 3. kontrol grubu arasındaki farkın önemli olmadığı tespit edildi. IGF-I uygulanan 1. grup ile 2. ve 3. gruplar arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olduğu, ancak 2. ve 3. IGF-I uygulanan grup arasındaki farkın önemli olmadığı tespit edildi (Tablo 2).

Canlı ağırlık bakımından grupların kendi içlerinde yapılan istatistiksel karşılaştırmalarında ise 1., 2. ve 3. kontrol gruplarının her üçü arasında önemli bir fark olduğu tespit edildi. 1. IGF-I uygulanan grup ile 2. ve 3. IGF-I uygulanan grup arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark olmadığı, ancak 2. ile 3. IGF-I uygulanan grup arasındaki farkın önemli olduğu tespit edildi (Tablo 3).

**Tablo 1.** Kontrol ve rh IGF-I uygulanan gruplarda m. gastrocnemius'ta elde edilen kas hücre çaplarının ( $\mu\text{m}$ ), gruplar arasında ve kendi içlerinde istatistiksel karşılaştırmaları

**Table 1.** The statistical comparisons of muscle cell diameters ( $\mu\text{m}$ ) with in and between groups of m. gastrocnemius of rats injected by rh IGF-I and control groups

| Grup    | n   | Kontrol Grubu $X\pm Sx$<br>Hücre Çapı | IGF-I Uygulanan Grup $X\pm Sx$<br>Hücre Çapı | Hücre Çapı<br>t- Değeri |
|---------|-----|---------------------------------------|--|-------------------------|
| 1. Grup | 250 | 43.94 $\pm$ 0.43 <sup>c</sup>         | 43.96 $\pm$ 0.48 <sup>c</sup>                | 0.03 <sup>ns</sup>      |
| 2. Grup | 250 | 54.09 $\pm$ 0.59 <sup>b</sup>         | 50.94 $\pm$ 0.53 <sup>b</sup>                | 3.95 <sup>***</sup>     |
| 3. Grup | 250 | 56.20 $\pm$ 0.64 <sup>a</sup>         | 58.10 $\pm$ 0.69 <sup>a</sup>                | 2.01 <sup>**</sup>      |

ns: önemsiz, \*\*  $P<0.01$ , \*\*\*  $P<0.001$

abc: Aynı grup içinde ortak harf taşımayan ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemlidir

**Tablo 2.** Kontrol ve IGF-I uygulanan gruplarda m. gastrocnemius'ta elde edilen kas hücre sayılarının ( $0.01 \text{ mm}^2$  de), gruplar arasında ve kendi içlerinde istatistiksel karşılaştırmaları

**Table 2.** The statistical comparisons of muscle cell number (with in  $0.01 \text{ mm}^2$ ) with in and between groups of m. gastrocnemius of rats injected by rh IGF-I and control groups

| Grup    | n   | Kontrol Grubu $X\pm Sx$<br>Hücre Sayısı | IGF-I Uygulanan Grup $X\pm Sx$<br>Hücre Sayısı | Hücre Sayısı<br>t- Değeri |
|---------|-----|---|--|---------------------------|
| 1. Grup | 250 | 66.52 $\pm$ 0.56 <sup>a</sup>           | 65.10 $\pm$ 0.70 <sup>a</sup>                  | 1.64 <sup>ns</sup>        |
| 2. Grup | 250 | 47.45 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup>           | 50.90 $\pm$ 0.35 <sup>b</sup>                  | 6.84 <sup>***</sup>       |
| 3. Grup | 250 | 47.49 $\pm$ 0.40 <sup>b</sup>           | 50.00 $\pm$ 0.53 <sup>b</sup>                  | 3.80 <sup>**</sup>        |

ns: önemsiz, \*\*  $P<0.01$ , \*\*\*  $P<0.001$

abc: Aynı grup içinde ortak harf taşımayan ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemlidir

**Tablo 3.** Kontrol ve IGF-I uygulanan gruplarda elde edilen canlı ağırlıkların (g), gruplar arasında ve kendi içlerinde istatistiksel karşılaştırmaları

**Table 3.** The statistical comparisons of weights (g) of rats by rh IGF-I and control groups

| Grup    | n | Kontrol Grubu $X\pm Sx$<br>Canlı Ağırlık | IGF-I Uygulanan Grup $X\pm Sx$<br>Canlı Ağırlık | Canlı Ağırlık<br>t- Değeri |
|---------|---|--|---|----------------------------|
| 1. Grup | 5 | 111.10 $\pm$ 1.10 <sup>c</sup>           | 109.20 $\pm$ 2.20 <sup>b</sup>                  | 0.79 <sup>ns</sup>         |
| 2. Grup | 5 | 122.40 $\pm$ 4.30 <sup>b</sup>           | 120.20 $\pm$ 3.50 <sup>b</sup>                  | 0.40 <sup>ns</sup>         |
| 3. Grup | 5 | 142.00 $\pm$ 0.71 <sup>a</sup>           | 145.40 $\pm$ 2.30 <sup>a</sup>                  | 1.40 <sup>ns</sup>         |

ns: önemsiz, \*\*  $P<0.01$ , \*\*\*  $P<0.001$

abc: Aynı grup içinde ortak harf taşımayan ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemlidir

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapmış olduğumuz incelemelerde kas dokusunda histolojik bulguların literatür bilgileri <sup>1,2</sup> ile paralel doğrultuda olduğu gözlenmiştir.

Memeli kas telleri çaplarının 10-150 µm değerleri arasında değiştiği bildirilmiştir <sup>1,2</sup>. Kasın hareket tipi, egzersiz, yaş, beslenme ve tabii olunan sınıfa bağlı olarak da kas tellerinin çapının değiştiği belirtilmiştir <sup>2</sup>. Yapmış olduğumuz histometrik ölçümlerde de bütün gruplarda iskelet kası tellerinin çapları, minimum 28.38 µm, maksimum 92.88 µm olarak bulunmuştur. Yapmış olduğumuz ölçümlerin bildirilen değerlerle <sup>1,2</sup> uyumlu olduğu saptanmıştır.

IGF ailesi peptidlerinin, embriyonik ve fetal büyüme ile gelişmede önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir <sup>23,24</sup>. Murray ve arkadaşları <sup>3</sup> insülinin en güçlü metabolik hormon olduğunu ancak IGF'lerin büyümeyi uyarmada daha güçlü olduklarını bildirmişlerdir. IGF'lerin kas büyümesi ve gelişmesi üzerine çok önemli etkilerinin olduğu bildirilmiş <sup>12,24</sup> olup, bu etkilerin çoğunun IGF-I reseptörleri aracılığı ile olduğu gösterilmiştir <sup>24</sup>.

Glikokortikoid uygulamasının kas liflerinin çapında belirgin bir azalmaya neden olduğu ve eşzamanlı IGF-I uygulamasının da glikokortikoide bağlı kas atrofisini bariz bir şekilde azalttığı bildirilmiştir <sup>15</sup>. IGF-I'in kas üzerine etkilerinin daha çok dolaşımdaki normal ya da normale yakın konsantrasyonları ile olduğu bildirilmiştir <sup>16,17</sup>.

Yapmış olduğumuz çalışmada, histometrik ölçümler sonucunda, 8. günde kontrol grubu ile IGF-I uygulanan grup arasında hücre çapı bakımından istatistiksel olarak bir farklılık saptanamamıştır. 15. günde IGF-I uygulanan hayvanlarda hücre çapı azalırken birim alana düşen hücre sayısının arttığı gözlemlendi. 15. günde IGF-I uygulanan hayvanlarda hücre çapı bakımından azalmanın istatistiksel olarak  $P<0.001$  düzeyinde önemli olduğu saptanırken, birim alana düşen hücre sayısındaki artışın ise istatistiksel olarak  $P<0.001$  düzeyinde önemli olduğu saptanmıştır. Bu sonuç IGF-I uygulamasının kas hipertrofisine neden olduğu sonucu ile uyumludur. 22. günde IGF-I uygulanan hayvanlarda hücre çapındaki artışın istatistiksel olarak  $P<0.01$  düzeyinde, birim alana düşen hücre sayısı artışının da  $P<0.01$  düzeyinde önemli olduğu saptanmıştır.

Hipofizektomi yapılmış ratlara <sup>26</sup>, büyüme hormonu yetersiz mutant ratlara <sup>27</sup> ve IGF olaylarının tersine çevrildiği cüce farelere rekombinant insan IGF-I'inin verilmesinin vücut ağırlığını ve diğer bazı büyüme parametrelerini artırdığı bildirilmiştir <sup>28</sup>. IGF-I uygulamasının, iskelet miyofibrillerinin hipertrofisine, doku kültüründe miyoblastların farklılaşmasının uyarılmasına ve normal ratlarda vücut ağırlığının artmasına neden olduğu belirtilmiştir <sup>15</sup>. Georgy ve ark.<sup>25</sup> IGF-I'in dolaşımdaki deneysel artışının bazı kasların ve vücut ağırlığının artışına neden olduğunu gözlemişlerdir.

Ancak bizim uyguladığımız 100 ng/kg/gün dozunda IGF-I'in istatistiksel açıdan vücut ağırlığı artışına önemli ölçüde bir etkisinin olmadığı sonucuna varıldı. Gelişime paralel olarak her grubun kendi içerisinde canlı ağırlık artışının olduğu ancak bunun IGF-I uygulanan grupla kontrol grubu arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık oluşturmadığı saptanmıştır. Çalışmamızda canlı ağırlığa etkisinin olmamasının nedeninin uygulanan doz ve süreden kaynaklanabileceği düşünüldü.

Kontrol grubu ve IGF-I uygulanan hayvanlarda birim alana düşen hücre sayısının birinci ve ikinci grup arasında gelişime paralel olarak azaldığı, bu azalmanın istatistiksel açıdan önemli olduğu, ikinci ve üçüncü grup arasında istatistiksel açıdan bir fark olmadığı saptandı. Kontrol grubu ve IGF-I uygulanan hayvanlarda hücre çapı ölçümleri bakımından birinci, ikinci ve üçüncü grup arasında gelişime paralel olarak bir artış olduğu ve bu artışın istatistik açıdan önemli olduğu saptandı.

En çok karaciğerde olmak üzere, kas, yağ doku ve birçok organda üretilen IGF-I, büyüme faktörlerinden önemli bir tanesi olarak kabul edilmiştir <sup>7,8</sup>.

Uzun süre GH yetersizliği olan hipofizektomili erişkin ratlarda iskelet kas gruplarının zayıfladığı ve bunun da bütün iskelet kasını etkilediği belirtilmiştir. Bu durumun, yaşla GH salınımının azalması ve dolaşımdaki IGF düzeyinin düşmesi ile ilişkisi olabileceği de belirtilmiştir. GH ile tedavi edilen bazı hastaların azalmış olan iskelet kas gruplarının arttığı gözlenmiştir. Bu hastaların bir kısmında uzun süreli tedavi sonucu muhtemelen geri dönüşümler oluşabileceği de bildirilmektedir <sup>8</sup>.

Bir diğer araştırmada <sup>18</sup> rat kalp kaslarının, IGF-I'e yağ dokudan 20 kat daha hassas olduğu ve muhtemelen IGF-I'in, IGF reseptörleri vasıtasıyla kalpte glukoz metabolizmasını etkilediği bildirilmiştir. Bu yüzden hayvanlara IGF-I'in fizyolojik konsantrasyonlarının tatbik edilmesi, yağ dokuda herhangi bir etkiye neden olmaksızın kaslarda glikojen ve protein sentezinde bir artışa yol açabileceği de ifade edilmiştir <sup>18</sup>.

IGF-I'in iskelet kasındaki insülin benzeri etkisinin gerek IGF-I'in bir defada gerekse birkaç hafta süre ile verilmesi durumunda meydana gelebileceği bildirilmiştir. Ancak IGF-I ile uzun süren tedavilerde iskelet kası dokusundaki etkilerinin insülin benzeri iken, yağ dokusundaki etkilerinin insülin benzeri olmadığı; adipoz dokuda lipolizi, lipoprotein lipaz aktivitesini artırdığı ve bunun yanı sıra vücut yağ kitlesinde azalmaya neden olduğu da saptanmıştır <sup>4</sup>. Bir çok klasik kitap ve literatürde <sup>1,2,4,6,9,15</sup> insülinin kas dokusu üzerine etkilerinin glikozun doku içine girişini, glikojen sentezini, aminoasit alımını artırdığı bildirilmiştir.

Georgy ve ark.<sup>25</sup> iskelet kası hipertrofisi esnasında protein birikiminde artış olduğunu bunun yanı sıra, miyonekleus sayısında artışla birlikte miyofibrillerde hipertro-

fiye neden olduğunu bildirmişlerdir. Bununla beraber hipertrofik iskelet kasındaki yeni miyonukleusların; satelit hücrelerinin proliferasyonu, farklılaşması ve var olan miyofibrillerle gelişen satelit hücre yapılarının bazılarının füzyonu ile ortaya çıktığı şeklinde olduğu da belirtilmiştir.

Yapmış olduğumuz histometrik ölçümlerin istatistiksel değerlendirmelerinden elde ettiğimiz sonuçlar, rh IGF-I uygulamasının, hücre çapını ve birim alana düşen hücre sayısını artırarak kas dokusunda büyüme ve gelişme üzerine olumlu etkiler yaptığını göstermiştir.

## KAYNAKLAR

1. **Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO:** Basic Histology, *Çeviri (Translation) Ed:* Aytekin Y: Temel Histoloji. 7. Baskı, Barış Kitabevi, İstanbul, 1993.
2. **Sağlam M, Aştı RN, Özer A:** Genel Histoloji. 6. Baskı, Yorum Matbaacılık, Ankara, 2001.
3. **Murray RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW:** Harper's Biochemistry. *Çeviri (Translation) Eds:* Mentaş G, Ersöz B: Harper'ın Biyokimyası. s. 595-614, Barış Kitabevi, İstanbul, 1993.
4. **Frick F, Oscarsson J, Vikman-Adolfson K, Ottosson M, Yoshida N, Edén S:** Different effects of IGF-I on insulin-stimulated glucose uptake in adipose tissue and skeletal muscle. *AJP-Endo*, 278 (4): 729, 2000.
5. **Büyükkayhan D, Tanzer F, Erselcan, T, Çınar Z, Yöner Ö:** Umbilical serum insulin like growth factor -1 (IGF-1) in newborns. *Int J Vitam Nutr Res*, 73 (5): 343-346, 2003.
6. **Ganong WF:** Medical Physiology. *Çeviri (Translation):* Türk Fizyolojik Bilimler Derneği: Tıbbi Fizyoloji. 19. Baskı, Barış Kitabevi, İstanbul, 1999.
7. **Sanger JW, Chowrashi P, Shaner NC, Spalthoff S, Wang J, Freeman NL, Sanger JM:** Myofibrillogenesis in skeletal muscle cells. *Clinic Orthop Relat Res*, 403 (Suppl): 153-162, 2002.
8. **Ullman M, Oldfors A:** Skeletal muscle regeneration in young rats is dependent on growth hormone. *J Neurol Sci*, 106, 67-74, 1991.
9. **Fang CH, Li BG, Wang JJ, Fischer JE, Hasselgren PO:** Insulin-like growth factor 1 stimulates protein synthesis and inhibits protein breakdown in muscle from burned rats. *JPEN*, 21 (5): 245-251, 1997.
10. **Schneider MR, Harald L, Minyao W, Andreas H, Eckhard W:** Transgenic mouse models for studying the functions of insulin-like growth factor-binding proteins. *FASEB J*, 14, 629-640, 2000.
11. **Ewton DZ, Florini JR:** Effects of somatomedins and insulin on myoblast differentiation *in vitro*. *Dev Biol*, 8, 31-36, 1987.
12. **Florini JR, Ewton DZ, Coolican SA:** Growth hormone and the insulin-like growth factor system in myogenesis. *Endocr Rev*, 17 (5): 481-517, 1996.
13. **Florini JR, Ewton DZ, Falen SL, Van Wyk JJ:** Biphasic concentration dependency of stimulation of myoblast differentiation by somatomedins. *Am J Physiol*, 250, 771-778, 1986.
14. **Schmid C, Steiner T, Froesch ER:** Preferential enhancement of myoblasts differentiation by IGF-1 and II in primary cultures of chick embryonic cells. *FEBS Lett*, 116, 117-121, 1983.
15. **Kanda F, Takatani K, Okuda S, Matsushita T, Chihara K:** Preventive effects of insulinlike growth factor-I on steroid-induced muscle atrophy. *Muscle Nerve*, 22, 213-217, 1999.
16. **Florini J R, Nicholson M L, Dulak N C:** Effects of peptide anabolic hormones on growth of myoblasts in culture. *Endocrinology*, 10, 32-41, 1977.
17. **Merrill G F, Florini J R, Dulak N C:** Effects of multiplication stimulating activity on AIB transport into myoblast and myotube cultures. *J Cell Physiol*, 93, 173-182, 1977.
18. **Froesch ER, Schmid C, Zangger T, Schoenle E, Eigenmann E, Zapf J:** Effects of IGFs on growth and differentiation of muscle and bone. *J Anim Sci*, 63, 57-75, 1986.
19. **Kocamış H, Kirkpatrick-Keller DC, Klandorf H, Killefer J:** *In ovo* administration of recombinant human insulin-like growth factor-I (rh IGF-I) alters postnatal growth and development of the broiler chicken. *Poult Sci*, 77, 1913-1919, 1998.
20. **Luna LG:** Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Third ed., Mc Graw-Hill Book Comp, New York, 1968.
21. **Minitab:** Minitab Reference Manual. Release 10 for Windows Minitab Inc., USA, 1994.
22. **Kabukçu MA:** Sağlık Sosyal ve Fen Bilimlerinde Uygulamalı İstatistik. *Selçuk Üniv. Ziraat Fak. Tarım Ekonomi Bölümü, Konya*, 1994.
23. **McMurtry JP, Francis GL, Upton Z:** Insulin-like growth factors in poultry. *Domest Anim Endocrin*, 14 (4): 199-229, 1997.
24. **Tollefsen SE, Lajara R, McCusker RH, Clemmons DR, Rotwein P:** Insulin-like growth factors (IGFs) in muscle development. *J Biol Chem*, 264, 13810-13817, 1989.
25. **Adams GR, McCue SA:** Localized infusion of IGF-I results in skeletal muscle hypertrophy in rats. *J App Physiol*, 84, 1716-1722, 1998.
26. **Schoenle E, Zapf J, Hauri C, Steiner T, Froesch ER:** Comparison of *in vitro* effects of IGF-I and II and of growth hormone in hypophysectomized rats. *Acta Endoc*, 108, 167-174, 1985.
27. **Scottner A, Clark R G, Fryklund L, Robinson T:** Growth responses in a mutant dwarf rat to human growth hormone and recombinant human IGF-I. *Endocrinology*, 124, 2519-2526, 1989.
28. **Van Bull-Offers, S Veda I, Van Den Brande JL:** Biosynthetic somatomedin (IGF-1) increases the length and weight of snell dwarf mice. *Pediatr R*, 20, 825-827, 1986.