

**MERKEZİ HİSTAMİNERJİK SİSTEMİN  
HİPOTALAMİK SİKLOOKSİJENAZ VE  
LİPOOKSİJENAZ PROTEİN AKTİVİTELERİ ÜZERİNE  
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Ayşenur HALKÇIL**



T.C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MERKEZİ HİSTAMİNERJİK SİSTEMİN HİPOTALAMİK SİKLOOKSİJENAZ  
VE LİPOOKSİJENAZ PROTEİN AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

Ayşenur HALKÇIL  
0000-0002-7825-4823

Doç. Dr. Figen ERSOY  
(Danışman)

Prof. Dr. Murat YALÇIN  
(İkinci Danışman)  
(Bursa Uludağ Üniversitesi)

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

BURSA – 2023  
Her Hakkı Saklıdır

## TEZ ONAYI

Ayşenur HALKÇIL tarafından hazırlanan “MERKEZİ HİSTAMİNERJİK SİSTEMİN HİPOTALAMİK SİKLOOKSİJENAZ VE LİPOOKSİJENAZ PROTEİN AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Doç. Dr. Figen ERSOY  
**İkinci Danışman** : Prof. Dr. Murat YALÇIN (Bursa Uludağ Üniversitesi)

**Başkan** : Doç. Dr. Figen ERSOY İmza  
0000-0003-2267-069X  
Bursa Uludağ Üniversitesi,  
Fen Fakültesi,  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

**Üye** : Doç. Dr. Burcu ERBAYKENT TEPEDELEN İmza  
0000-0002-9565-6349  
Bursa Uludağ Üniversitesi,  
Fen Fakültesi,  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

**Üye** : Dr. Öğr. Üyesi Gökçen Güvenç BAYRAM. İmza  
0000-0002-1413-3651  
Dokuz Eylül Üniversitesi, ,  
Veteriner Fakültesi,  
Veterinerlik Fizyolojisi Anabilim Dalı

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof. Dr. Hüseyin Aksel EREN**  
**Enstitü Müdürü**

.././....

**B.U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;**

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

**beyan ederim.**

**11/01/2023**

**Ayşenur HALKÇIL**

## TEZ YAYINLANMA FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezin/raporun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma izni Bursa Uludağ Üniversitesi'ne aittir. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet hakları ile tezin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları tarafımıza ait olacaktır. Tezde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederiz.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**” kapsamında, yönerge tarafından belirtilen kısıtlamalar olmadığı takdirde tezin YÖK Ulusal Tez Merkezi / B.U.Ü. Kütüphanesi Açık Erişim Sistemi ve üye olunan diğer veri tabanlarının (Proquest veri tabanı gibi) erişimine açılması uygundur.

Danışman Adı-Soyadı  
Tarih

Öğrencinin Adı-Soyadı  
Tarih

İmza

Bu bölüme kişinin kendi el yazısı ile okudum  
anladım yazmalı ve imzalanmalıdır.

İmza

Bu bölüme kişinin kendi el yazısı ile okudum  
anladım yazmalı ve imzalanmalıdır.

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### MERKEZİ HİSTAMİNERJİK SİSTEMİN HİPOTALAMİK SİKLOOKSİJENAZ VE LİPOOKSİJENAZ PROTEİN AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

**Ayşenur HALKÇIL**

Bursa Uludağ Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

**Danışman:** Doç. Dr. Figen ERSOY

**İkinci Danışman:** Prof. Dr. Murat YALÇIN (Bursa Uludağ Üniversitesi)

Bu çalışma ile merkezi ve kronik olarak intraserebroventriküler (i.c.v) yol ile uygulanan histamin ve histaminerjik reseptör antagonistlerinin hipotalamik siklooksijenaz (COX) ve lipoksijenaz (LOX) protein aktivite düzeylerininin western blot yöntemi kullanılarak gösterilmesi ile merkezi histaminerjik sistemin etkisinde, COX ve LOX yolaklarının aracılığının ortaya konulması amaçlanmıştır.

Deneyle, Sprague-Dawley sıçanlarda gerçekleştirildi. Histamin (100 nmol), histaminerjik H1 reseptör antagonisti klorfeniramin (100 nmol), histaminerjik H2 reseptör antagonisti ranitidin (100 nmol) veya histaminerjik H3/H4 reseptör antagonisti tiyoperamid (100 nmol) i.c.v olarak 7 gün boyunca enjekte edildi. Bir haftanın sonunda hipotalamus bölgeleri diseke edildi ardından sıçanlardan alınan hipotalamus örnekleri homojenize edilerek total protein ölçümleri yapıldı ve western blot yöntemi ile COX-1, COX-2 ve LOX protein aktivite ölçümleri gerçekleştirildi.

Merkezi kronik histamin tedavisi hipotalamusta COX-1, COX-2 ve LOX miktarında artışa neden oldu. Histaminerjik reseptör antagonistleri ile yapılan tüm merkezi kronik tedaviler, hipotalamik COX-1 seviyelerini düşürürken ve hipotalamik COX-2 ve LOX seviyelerini yükseltti. Sonuç olarak, elde edilen veriler merkezi histaminin merkezi COX ve LOX yolaklarını etkilemede olası bir rolü olduğunu göstermektedir. Bu durum merkezi histaminerjik sistemin, merkezi sinir sistemi fonksiyonlarını düzenlemek için merkezi COX ve LOX yolaklarını aktive etme potansiyeline sahip olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Siklooksijenaz, Lipooksijenaz, Histamin, Histaminerjik reseptör antagonistleri, Merkezi Sinir Sistemi, İntraserebroventriküler, Western Blot

**2023, vi + 44 sayfa.**

## ABSTRACT

MSc Thesis

### INVESTIGATION OF THE EFFECT OF CENTRAL HISTAMINERGIC SYSTEM ON HYPOTHALAMIC CYCLOOXYGENASE AND LIPOOXYGENASE PROTEIN ACTIVITIES

**Ayşenur HALKÇIL**

Bursa Uludağ University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Molecular Biology and Genetics

**Supervisor:** Asst. Prof. Dr. Figen ERSOY

**Second Supervisor:** Prof. Dr. Murat YALÇIN (Bursa Uludag University)

In this study it is aimed to show the hypothalamic cyclooxygenase (COX) and lipoxygenase (LOX) protein activity levels of centrally and chronically administered histamine and histaminergic receptor antagonists administered by the intracerebroventricular (i.c.v) route were demonstrated using western blot method and to reveal the mediation of COX and LOX pathways under the influence of the central histaminergic system.

Studies were performed in Sprague–Dawley rats. Histamine (100 nmol), histaminergic H1 receptor antagonist chlorpheniramine (100 nmol), histaminergic H2 receptor antagonist ranitidine (100 nmol) or histaminergic H3/H4 receptor antagonist thioperamide (100 nmol) was injected i.c.v for 7 days. At the end of one week, hypothalamus regions were dissected and hypothalamus samples taken from rats were homogenized, total protein determinations were made and COX-1, COX-2 and LOX protein activity measurements were performed by western blot method.

Central chronic histamine treatment caused increases in COX-1, COX-2 and LOX enzymes in the hypothalamus. All central chronic treatments with histaminergic receptors antagonists reduced the hypothalamic COX-1 levels and increased the hypothalamic COX-2 and LOX levels. In conclusion, the resulting data suggest that has a possible role of central histamine in influencing the central COX and LOX pathways. This situation can be interpreted as the central histaminergic system may have the potential to activate central COX and LOX pathways to regulate central nervous system functions.

**Key words:** Cyclooxygenase, Lipoxygenase, Histamine, Histaminergic receptor antagonists, Central Nervous System, Intracerebroventricular, Western Blot

**2023, vi + 44 pages.**

## ÖNSÖZ ve/veya TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca ders sürecimde ve tez çalışmamda hem akademik olarak danışmanlık yaparak kendimi geliştirmemi sağlayan, ayrıca bilgisine hayranlık duyduğum, gerek bilimsel, gerek insanlık konusunda yoluma ışık tutan sayın danışmanlarım Doç. Dr. Figen ERSOY ve Prof. Dr. Murat YALÇIN'a ayrıca sabrını ve hoşgörüsünü esirgmeden içten bir şekilde laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan değerli arkadaşım Dr. Öğretim Üyesi Gökçen Güvenç Bayram'a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her anında varlıklarını yürekten hissettiğim canım annem, babam ve ablama; lise eğitimimden bu yana her zaman beni destekleyen sevgili eşim Ali HALKÇIL'a ve tez yazma sürecinde bana ofislerini açan ULUS Hukuk Bürosu'na sonsuz teşekkür ederim.

Ayşenur HALKÇIL  
10/01/2023



## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ ve/veya TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	4
2.1 Histamin Biyolojisi Ve Fizyolojisi.....	4
2.2 Histamin Metabolizması.....	5
2.3. Histaminin Merkezi Ekspresyonu Ve Dağılımı.....	7
2.4. Histamin Sentez Reseptörleri.....	7
2.4.1. H1 reseptörleri.....	8
2.4.2. H2 reseptörleri.....	8
2.4.3. H3 reseptörleri.....	9
2.4.4. H4 reseptörleri.....	9
2.5. Histaminin Organizmadaki Etkileri.....	9
2.6. Araşidonik Asit Metabolizması.....	12
2.6.1 COX yolağı ve prostanoidler.....	14
2.6.2 Prostaglandinlerin Fizyolojik Etkileri.....	17
2.6.3 LOX yolağı ve Eikosanoidler.....	19
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	21
3.1. Genel.....	21
3.2. Genel Hazırlı ve Cerrahi İşlemler.....	21
3.3. Deneysel Protokol.....	22
3.4. Western Blot Yöntemi ile COX-1, COX-2 ve LOX Protein Aktivite Ölçümü.....	23
3.4.1. Örneklerin hazırlanması.....	23
3.4.2. Total protein konsantrasyonu tayini.....	23
3.4.3. Elektroforez sisteminin kurulması.....	23
3.4.4. Yükleme ve elektroforez.....	24
3.4.5. Proteinlerin jel'den membrana transferi.....	24
3.4.6. İlgili proteinin işaretlenmesi ve boyanması.....	25
3.5. İstatistikî değerlendirme.....	26
3.6. İlaçlar.....	26
4. BULGULAR.....	27
4.1. Histamin ve Histaminerjik Reseptör Antagonistlerinin İntraserebroventriküler Enjeksiyonunun Hipotalamik COX-1, COX-2 ve LOX Enzimleri Üzerindeki Etkileri.....	27
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	31
KAYNAKLAR.....	34
ÖZGEÇMİŞ.....	44

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler Açıklama

nmol	Nanomol
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre

### Kısaltmalar Açıklama

AA	Araşidonik asit
BCA	Bisinkoninik asit
COX	Siklooksijenaz
CYP	Sitokrom p-450
DAO	Diamin oksidaz
EET	Epoksieikosatrienoik asit
FLA2	Fosfolipaz A2
FLC	Fosfolipaz C
FSH	Foliküler stimüle edici hormon
FTS	Fizyolojik tuzlu su
GnRH	Gonadotropin releasing hormon
HDC	L-histidin dekarboksilaz
HETE	Hidroksieikosatetraenoik asit
HPETE	Hidroperoksieikosatetraenoik asit
HNMT	Histamine N-metiltransferaz
i.c.v	İntraserebroventriküler
LH	Lüteinize hormon
LOX	Lipooksijenaz
LT	Lökotrien
MSS	Merkezi sinir sistemi
PG	Prostaglandin
TMN	Tuberomammillar nükleus
TX	Tromboksan

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1. Histamin sentezi.....	4
Şekil 2.2. İnsan ve fare histidin dekarboksilaz (HDC) geninin genomik yapıları .....	5
Şekil 2.3. Histamin metabolizması .....	6
Şekil 2.4. AA'nın kimyasal yapısı .....	12
Şekil 2.5. Membran fosfolipidlerinden prostanoidlerin sentezi .....	14
Şekil 2.6. AA'nın COX Yolu .....	16
Şekil 2.7. AA'dan Lökotrienlerin Oluşum Mekanizması .....	20
Şekil 3.1. iBlot 2 Dry Blotting System .....	24
Şekil 4.1. Histamin ve histaminerjik reseptör antagonistlerinin intraserebroventriküler enjeksiyonunun hipotalamik COX-1 miktarı üzerine etkileri.....	27
Şekil 4.2. Histamin ve histaminerjik reseptör antagonistlerinin intraserebroventriküler enjeksiyonunun hipotalamik COX-2 miktarı üzerine etkileri .....	28
Şekil 4.3. Histamin ve histaminerjik reseptör antagonistlerinin intraserebroventriküler enjeksiyonunun hipotalamik LOX miktarı üzerine etkileri .....	29
Şekil 4.4. Western blot ile COX-1, COX-2 ve LOX seviyeleri .....	30

## 1. GİRİŞ

Histamin, histidin aminoasidinden, L-histidin dekarboksilaz (HDC) enzimi tarafından karboksil grubunun ayrılması sonucu oluşan biyogenik bir monoamindir (Vlieg-Boerstra ve ark. 2005). Histamin, hem sinir sisteminde (nöronlar ve mast hücreleri) bir nörotransmitter olarak hem de sinir dışı dokularda (mide-bağırsak-deri) bir sinyal molekülü olarak bulunur (Haas ve ark. 2008). Sinir sisteminde nöronlar ve mast hücreleri olmak üzere iki ana histamin kaynağı vardır (Brown ve ark. 2001). Histaminerjik nöronların hücre gövdeleri yalnızca posterior hipotalamusun tuberomamillar çekirdeğinde (TMN) toplanmıştır (Schwartz ve ark. 1991). Merkezi histaminin histaminerjik reseptörler aracılığıyla bir nörotransmitter olarak hareket ederek, enerji dengesi, yeme-içme, öğrenme ve bellek, ağrı algısı, uyku-uyanıklık ve kardiyovasküler kontrol dahil olmak üzere birçok merkezi sinir sistemi (MSS) fonksiyonunu modüle ettiği gösterilmiştir (Brown ve ark. 2001, Altınbas ve ark. 2016). Şimdiye kadar dağılımları beyinde belirgin modeller gösteren 4 tip histamin reseptörü (H1, H2, H3, H4) tanımlanmıştır (Rosen ve ark. 2013). Merkezi histaminerjik reseptörlerin, özellikle H1 reseptörü yoluyla, histaminle düzenlenen nöroendokrin kontrole katkıda bulunduğu bilinmektedir (Knigge ve Warberg 1991). Histaminin ayrıca hipotalamik-hipofiz-gonadal eksenini düzenlemede önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Niaz ve ark. 2018). Merkezi histaminerjik sistem kardiyovasküler sistemin merkezi kontrolünde de önemli bir role sahiptir. Merkezi olarak enjekte edilen histaminin, merkezi histaminerjik H1 reseptörlerini kullanarak normotansif ve hemorajili hipotansif sıçanlarda presör etkilerine neden olduğu bildirilmiştir (Jochem 2000,2002b,2003).

Araşidonik asit (AA), hücre zarlarının fosfolipitlerinde ve beyinde bol miktarda bulunan çoklu doymamış bir yağ asididir. AA, sırasıyla siklooksijenaz (COX) veya lipoksijenaz (LOX) yoluyla prostaglandinleri (PG), tromboksanları (TX) ve lökotrienleri (LT) oluşturur (Bosetti 2007). AA'dan, COX yolağı ile prostanoidler ve LOX yolağı ile LT'ler sentez edildikten sonra kardiyovasküler sistem, solunum sistemi, periferik sinir sistemi ve MSS'yide içine alan bir dizi sistemde fizyolojik ve farmakolojik olarak rol almaktadır (Tassoni ve ark. 2008). AA'nın oksijenli metabolitleri MSS içinde normal ve patolojik durumları içeren birçok beyin fonksiyonunun kontrolünde nöromodülatör /nörotransmitter olarak görev alır (Akhlaq ve Lloyd 2004). Beyindeki AA aksiyon potansiyel frekansının

arttırılması, nörotransmitter salınımı, nosisepsiyon, nöronal gen ekspresyonu, serebral kan akışı, uyku-uyanıklık döngüsü ve iştah dahil olmak üzere bir çok önemli homeostatik role sahiptir (Bosetti 2007). AA ayrıca iyon kanallarını modüle eder ve protein kinaz A, protein kinaz C ve NADPH oksidaz dahil olmak üzere birçok enzimin aktivitesini düzenler (Katsuki ve Okuda 1995).

Yapılan çalışmalarda Fosfolipaz A2 (FLA2) aktivatörü melittin'in merkezi olarak uygulanmasında ortaya çıkan kardiyovasküler etkilerin, TXA<sub>2</sub> sentez inhibitörü furegrelate ile kısmen, COX inhibitörü indometazin ile tamamen engellendiği bildirilmiştir. Bu sonuç melittinin oluşturduğu etkilerde FLA2'yi aktifleştirip AA salınımına neden olduğunu, AA'nın da TXA<sub>2</sub> ve COX aracılığı ile diğer PG'lerin sentezini artırarak etkisini gösterdiğini açıklamaktadır (Yalcin ve Aydin 2009). Yapılan çalışmalar MSS'de kardiyovasküler sistemi düzenlenmesinde FLA2'nin COX yoluyla kullanarak bir nöromodülatör olarak çalıştığını düşündürmektedir. Bir başka çalışmada merkezi olarak uygulanan AA'nın erkek sıçanlarda testosteron düzeyini ve sperm hareketliliğini, TXA<sub>2</sub> ve COX yollarını kullanarak arttırdığının gösterilmiştir (Erkan ve ark. 2015). Bu çalışmalar AA yolağının birçok merkezi kontrolde bir nöromodülatör olarak çalışabileceğini düşündürmektedir.

Ayrıca sıçanlarda merkezi olarak uygulanan histamin kaynaklı olarak plazma katekolaminlerinin artışının COX-1, TXA<sub>2</sub> gibi PG'lere ve Fosfolipaz C (FLC)'ye bağlı mekanizmalarla düzenlendiği bildirilmiştir (Shimizu ve ark. 2006, 2007). Yapılan bir başka çalışmada AA'nın kardiyovasküler etkilerinde merkezi histaminerjik sistemin aracılığının olduğu AA enjeksiyonu sonrası hem mikrodiyaliz çalışması ile histamin çıkışının gösterilmesi hem de histaminerjik reseptör düzeyinde gösterilmiştir (Altınbas ve ark. 2014).

AA ile daha önce yapılan kardiyovasküler çalışmalara kolinerjik sistemin aracılığının rapor edilmiş olup bir başka çalışmada ise kardiyovasküler düzenlemede merkezi histaminerjik ve kolinerjik sistem etkileşimi rapor edilmiştir (Yalcin ve ark. 2005, 2006). Histaminerjik nöronlar ve reseptörleri özellikle hipotalamus, nükleus traktus solitarius gibi MSS'de birçok sistemin kontrolünde önemli rolleri olan beyin bölgelerinde

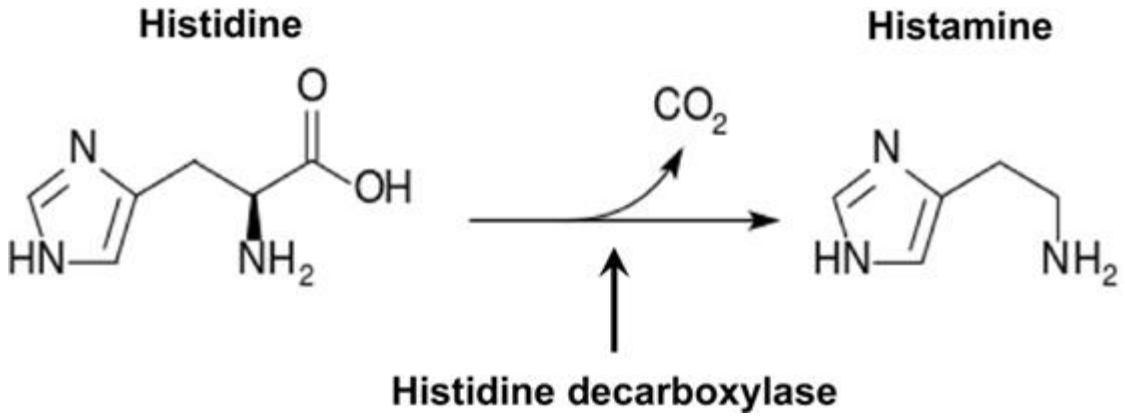
yoğunlaşmıştır. FLA2 enziminin de söz başta hipotalamus olmak üzere birçok beyin bölgesinde varlığının gösterilmesi, MSS'de histaminerjik sistemin, merkezi COX ve LOX yolakları aracılığı ile AA yolağını aktive edebileceğini düşündürmektedir. Daha önceki çalışmalardan elde edilen bulgular, merkezi COX ve LOX yolakları ile merkezi histaminerjik sistemin oluşturduğu etki profilinin hem zamansal hem de etkisel olarak benzerlik içinde olduğunu göstermektedir. Ayrıca her iki sistemin etki profiline merkezi kolinerjik sistemin aracılık etmesi, bu iki sistemin etkileşim içinde olduğu fikrini uyandırmaktadır.

Tüm bu veriler göz önüne alındığında bu çalışmada merkezi ve kronik olarak uygulanan histamin ve histaminerjik reseptör antagonistlerinin hipotalamik COX ve LOX protein aktivitesi üzerine etkisinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

## 2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

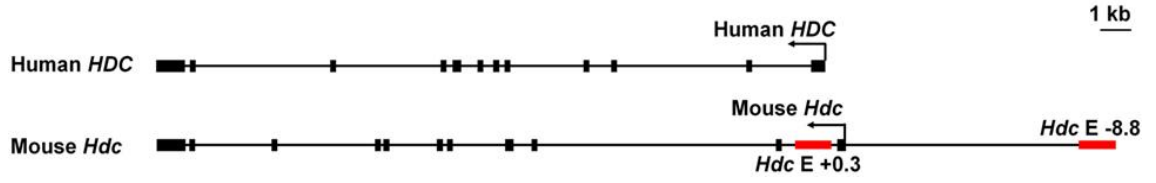
### 2.1 Histamin Biyolojisi Ve Fizyolojisi

Histamin, karboksil grubunu histidinden uzaklaştıran koenzim olan piridoksal fosfat içeren HDC enzimi ile katalize edilen bir reaksiyon sonucu sentezlenen bir monoamindir (Şekil 2.1) (Vlieg-Boerstra ve ark. 2005). Bu biyolojik amin Dale ve Laidlaw tarafından 1910 yılında ergot mantarlarında keşfedilmiş olup (Dale ve Laidlaw 1910), 1927'de insan dokularından saflaştırılmıştır (Best ve ark. 1927). Kimyasal yapısı beta-imidazoletilenamindir.



Şekil 2.1. Histamin sentezi (Huang ve ark. 2018)

Histamin regülasyonu, vücuttaki hücrelerde eksprese edilen HDC enziminin genine bağlıdır. İnsan *HDC* geni, 15. kromozomun 15q21.2 bölgesinde bulunur ve 12 ekzon içerir, farelerde *HDC* geni 2. kromozomda bulunur 12 ekzon içerir (Yatsunami ve ark. 1994). İnsan ve farelerin *HDC* geninin %86 oranında homolog olduğu bildirilmiştir (Şekil 2.2) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/homologene/20490>).



**Şekil 2.2.** İnsan ve fare histidin dekarboksilaz (HDC) geninin genomik yapıları (Huang ve ark. 2018)

*HDC* gen ekspresyonunun transkripsiyonel olarak nasıl düzenlendiğine dair bilgiler sınırlıdır. Çalışmalar daha çok genin promotör bölgesindeki transkripsiyon faktörlerine odaklanmıştır. Birkaç promotör elementin (GC kutusu, GATA dizisi) bu genin ekspresyonunu negatif ve pozitif yönlü olarak düzenlediği bildirilmiştir (Nakagawa ve ark. 1997).

Vücutta histamin çoğunlukla, mast hücrelerinde, bazofillerde, MSS içerisinde histaminerjik nöronlarda ve midedeki enterokromoffin benzeri hücrelerde salgılanır. Biyojenik amin olan histaminin, MSS’de bir nörotransmitter ve nöromodülatör olarak periferik dokularda ise bir sinyal molekülü gibi çeşitli biyolojik fonksiyonlarda yer aldığı bilinmektedir (Haas ve ark. 2008).

## 2.2 Histamin Metabolizması

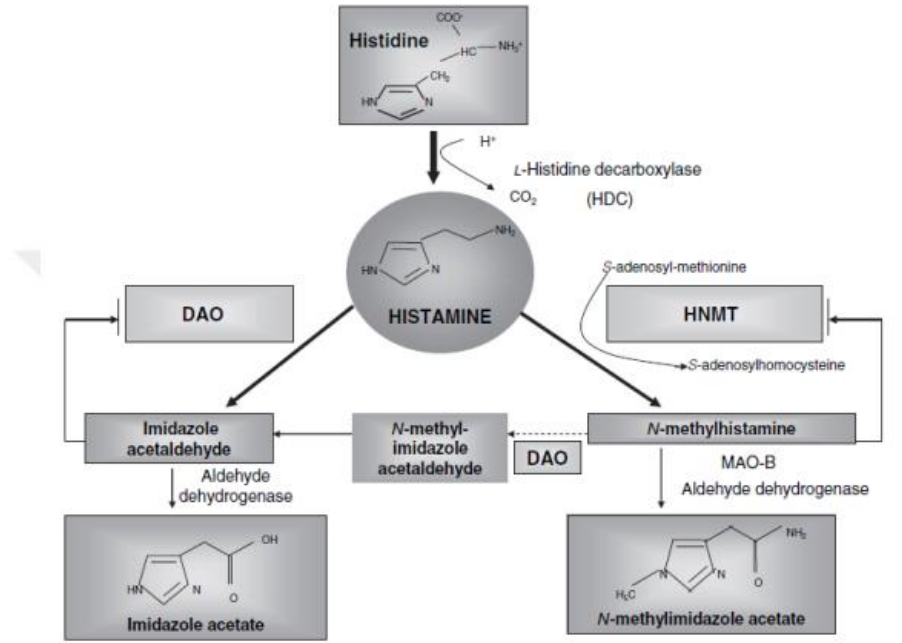
Histamin hücreler arası iletişimi parakrin ve otokrin yollar aracılığı ile yapan bir otakoid (lokal hormon) olarak tanımlanabilir. Bu nedenle histamin biyolojisini anlamak için histaminin sentezi, düzenlemesi ve metabolizması son derece önemlidir. Histamin, organizmada sentezlendikten sonra iki farklı yoldan metabolize olmaktadır. Bu yollardan ilki, diamin oksidaz (DAO) tarafından, histaminin bir amino grubunun hücre dışında kimyasal reaksiyon ile uzaklaştırılmasıdır (Schwelberger, 2004a). İkinci yol ise, histaminin imidazol halkasına, histamine N-metiltransferaz (HNMT) enzimi tarafından hücre içinde metil grubunun eklenmesidir (Schwelberger, 2004b). Histamin'in hangi yol ile katabolize edileceğine histaminin lokalizasyonuna bağlı olarak karar verilir.

DAO proteini, epitel hücrelerinde plazma zarı ile ilişkili yapılarda depo edilir ve buradan dolaşıma salınırlar (Schwelberger ve Bodner, 1997 ve Schwelberger ve ark. 1998).



Bu durum, ekstraselüler histaminin, DAO enzimi tarafından katabolize edilmesinden sorumlu olabileceği bildirilmiştir. Tersine histamini inaktive eden ikinci önemli enzim olan HNMT, histamini sadece intraselüler alan içerisinde dönüştüren sitozolik bir enzimdir (Brown ve ark. 1959). HNMT, insan dokularında başta böbrek ve karaciğer olmak üzere bronş, trake, dalak, prostat, kolon ve spinal kord hücrelerinde yaygın bir ekspresyona sahip olmakla birlikte DAO ekspresyonu ince bağırsak, kolon, plesanta ve böbrek gibi dokularda düşük ekspresyon sınırlıdır (Schwelberger, 2004b).

Bu enzimlerin herhangi bir sebeple inhibisyonu durumunda histamin organizmada birikir. Her iki enzimde kendi reaksiyon ürünleri ile negatif geri bildirim döngüsü içinde, inhibe edilebilirler (Şekil 2.3) (Bieganski ve ark. 1983). Böylece, histamin hücre içi ve hücre dışı alanlarda yok edilmiş olur.



**Şekil 2.3.** Histamin metabolizması (Maintz ve Novak, 2007)

HNMT: histamin-N-metiltransferaz, DAO: diamin oksidaz, MAO-B: monoamin oksidaz B

### **2.3. Histaminin Merkezi Ekspresyonu Ve Dağılımı**

Antihistaminlerin sakinleştirici etkileri ilk ortaya çıktığında uyarıcı bir madde olarak bildirilen histaminin ilerleyen zamanlarda gastrik sekresyon, nöromodülasyon, düz kas kasılması, vazodilatasyon ve epi-endotel bariyer kontrolü gibi birçok fonksiyonda rol aldığı bildirilmiştir. Histamin bu fonksiyonlar aracılığı ile kardiyovasküler sistem, gastrointestinal sistem, bağışıklık sistemi ve üreme sistemi üzerinde önemli rollere sahiptir (Haas ve ark. 2008).

MSS içerisinde histamininin başlıca kaynağını nöronlar ve mast hücreleri oluşturmaktadır (Miklos ve Kovacs 2003). Mast hücreleri hipotalamus, beyin zarları ve gri madde içindeki damarların çevresinde diğer dokularla karşılaştırıldığında nispeten az olarak bulunur ve işlevleri şu anda belirsizdir. Talamus, hipofiz ve diğer birçok bölgede önemli miktarda gözlenen histaminin etkilerinde nöronlardan salınmasının aracılık ettiği düşünülmektedir (Hough 1988).

Histaminerjik nöronlar beyinde hipotalamusun paraventriküler nükleusunda alan TMN'de bulunur (Watanabe ve ark. 1984). TMN'de yerleşim gösteren histaminerjik nöronlar, buradan beynin birçok bölgesine ileti gönderirler. Bu iletiler bilinen histamin reseptörleri aracılığı ile MSS'nin hemen hemen tüm bölümlerine dağılır. MSS içerisinde histamin öğrenme ve hafıza, enerji dengesi, susama, ağrı, beden ısısının düzenlenmesi, kardiyovasküler sistem ve solunum sisteminin kontrolü gibi birçok fizyolojik sürece bir nörotransmitter ve nöromodülatör olarak aracılık etmektedir (Brown ve ark. 2001).

### **2.4. Histamin Sentez Reseptörleri**

Histamin, doku ve organlardaki fizyolojik etkilerini hedef hücrelerdeki spesifik yüzey reseptörleri aracılığıyla oluşturan bir biyojenik amindir. 4 tip histamin reseptörü (H1R, H2R, H3R, H4R) tanımlanmıştır. (Rosen ve ark. 2013). Histamin reseptörleri G-protein bağlı reseptör ailesi içerisinde yer almaktadır (Church 2004) ve hücre dışı sinyallerini çeşitli G proteinlerine bağlanarak sağlamaktadır. G proteinleri, hücre yüzeyine bağlı reseptörleri ile hücre içi sinyal iletim sistemi arasında bir aracı olarak görev yapmaktadır (Amr ve Nigel 2008).

Tanımlanan 4 histamin reseptöründen H1 reseptörleri tüm vücutta yaygın olarak bulunurken ve H2 reseptörleri, gastrik mukozal hücrelerde, kardiyak doku ve MSS içerisinde spesifik hücrelerde belirgin şekilde eksprese edilirken, H3 reseptörleri genellikle MSS içerisinde eksprese edilir (Haas ve Panula 2003). Son zamanlarda keşfedilen H4 reseptörleri ise organizmada ağırlıklı olarak kemik iliği, karaciğer ve dalağın yanı sıra beyinde de spinal kordda bulunmaktadır (Strakhova ve ark. 2009).

#### **2.4.1. H1 reseptörleri**

Histaminerjik H1 reseptörleri, 486-491 amino asit içeren ve intronsuz bir gen tarafından kodlanan bir proteindir (Yamashita ve ark. 1991). H1 reseptörleri MSS dahil olmak üzere tüm vücutta yaygın olarak bulunmaktadır ve histaminin birçok postsinaptik etkisine aracılık etmektedir (Panula ve Nuutinen 2013).

Yapılan deneysel çalışmalarda insanda H1 reseptörlerinin, solunum yolu, düz kas dokuları, kalp dokusu, kan damarları, duyuşal sinirler, gastrointestinal sistem, adrenal bezler, immun hücreler, epitelial ve endotelial hücreler ile MSS içerisinde varlığı gösterilmiştir. (Amr ve Nigel 2008).

#### **2.4.2. H2 reseptörleri**

Histaminerjik H2 reseptörleri 359 aminoasit uzunluğunda bir peptit olup nöronlar üzerinde uyarıcı bir etkiye sahiptir (Haas ve Panula 2003). H1 reseptörlerinininkine benzer şekilde H2 reseptörleri de beyin çoğu bölgesinde ve omurilikte geniş bir alanda bulunmaktadır (Traiffort ve ark. 1992).

H2 reseptörlerinin ayrıca gastrik mukozal hücrelerde, kardiyak dokuda, bağışıklık sistemi hücrelerinde, uterusu ve solunum yolundaki düz kaslarda bildirilmiştir. H2 reseptörleri gastrik mukozada asit salgılayan hücreleri uyarmakta olup solunum yollarında bulunan düz kaslarda gevşemeye sebep olmaktadır. Ayrıca kan basıncında düşme ve refleks taşikardinin oluşmasına neden olmaktadır (Lieberman 2009).

### **2.4.3. H3 reseptörleri**

Histaminerjik H3 reseptörleri 1983 yılında keşfedilmiş olup (Schwartz 2011) H3 reseptörüne ait gen insanda 20. kromozom üzerinde bulunmaktadır (Bakker ve ark. 2006). H3 reseptörleri, çoğunlukla MSS içerisinde hipokampus, bazal ganglia ve kortikal bölgelerde bulunmakta olup çeşitli nörotransmitterlerin salınımının düzenlenmesinde kritik bir role sahiptir. Yapılan çalışmalarda H3 reseptörlerinin periferel kardiyovasküler sistem, solunum sistemi ve gastrointestinal sistemde varlığı rapor edilmiştir (Martinez-Mir ve ark. 1990).

### **2.4.4. H4 reseptörleri**

En son klonlanan H4 reseptörleri ise vücutta genel olarak çeşitli hematopoietik hücreler (Hofstra ve ark. 2003), karaciğer, gastrointestinal sistem, dalak, akciğer gibi dokular (Deiteren ve ark. 2015) ve farklı beyin bölgelerinde rapor edilmiştir. (Lieberman 2009). MSS içerisinde H4 reseptörleri spinal kordda ve duyuusal sinirleri içeren kök ganglia hücrelerinde eksprese olduğu edilmektedir (Connelly ve ark. 2009). Fakat MSS içerisinde H4 reseptörlerinin işlevleri henüz tam olarak bildirilmemiştir.

## **2.5. Histaminin Organizmadaki Etkileri**

### **Uyku ve uyanıklık döngüsü**

Antihistaminlerin güçlü sedatif etkilerinin bulunması ve kan beyin bariyerini geçme yeteneği MSS içerisinde histaminin uyku/uyanıklılık durumunun düzenlenmesinde etkili olduğunu düşündürmektedir (Church ve Church 2013). Yapılan çalışmalar, uyku-uyanıklık sisteminin nöradrenerjik, serotonerjik, kolinerjik, aminerjik, histaminerjik ve GABAerjik sistem ile nöronlar arasında bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Brown ve ark. 2002). Histaminin H1 reseptörlerinin serotonerjik ve kolinerjik nöronları aktive ederek uyanıklığa neden olduğu rapor edilmiştir (Haas ve Panula 2003).

### **Biyolojik saat**

Histaminin, biyolojik saatin düzenlenmesinde görevli bölge olan mekanizmaları nörotransmitterler aracılığı ile düzenlediği rapor edilmiştir. Histaminin sirkadiyen ritmin yanında mevsimsel ritmin de düzenlenmesinde görevli olduğu bildirilmiştir (Jacobs ve ark. 2000).

### **Termoregülasyon**

Histamin MSS içerisinde, termoregülasyondan sorumlu bir nörotransmitter ve nöromodülatör olarak görev yapmaktadır (Brown ve ark. 2001). Yapılan çalışmalarda histamin H1 reseptörlerinin hipotalamustaki sıcaklık noktasının düşürülmesinde görevli olduğu ve H2 reseptörlerinde ısı kaybıyla ilişkili olduğu belirtilmektedir (Green ve ark. 1976).

### **Besin ve sıvı alımının modüle edilmesi**

Histaminin merkezi uygulamasının, besin ve sıvı alımının düzenlenmesinde rol aldığı hatta besin alımını baskıladığı ve sıvı alımını artırdığı gösterilmiştir (Lecklin ve ark. 1995, Leibowitz 1973). Histaminin besin alımı üzerinde oluşturduğu negatif etkilere histamin H1 reseptörlerinin aracılık ettiği rapor edilmektedir (Mercer ve ark. 1994, Haq ve ark. 1996). Histaminin sıvı alımı üzerindeki etkilerini ise H3 reseptörleri üzerinden gerçekleştirdiği belirtilmektedir (Clapham ve Kilpatrick 1993). Sırasıyla histaminin H1 ve H2 reseptör antagonistleri klorfeniramin ve ranitidin ile yapılan tedavilerde besin ve su alımının baskılandığı ve buna bağlı olarak vücut ağırlığının azaldığı görülmektedir. Fakat H3/H4 reseptör antagonisti tiyoperamid ile yapılan tedavi diğer tedavilerin tersine besin ve su alımı ile vücut ağırlığında artışlara yol açmıştır (Altınbas ve ark. 2021).

### **Stres**

Histamin stresle birlikte hipofizden salınımı artan  $\beta$ -endorfin, vazopressin ve adrenokortikotropin releasing hormon gibi nöroendokrin hormonların salınımına aracılık etmektedir (Brown ve ark. 2001). Ayrıca histamin, serotonin, nöradrenalin, dopamin ve asetilkolin gibi strese bağlı aktive olan ve aminojik sistemde yer alan nöronların da düzenlenmesini sağlamaktadır (Kjaer ve ark. 1992, Miklos ve Kovacs 2003).

### **Öğrenme ve hafıza**

MSS içerisine histaminin, öğrenme ve hafızada önemli bir rol oynadığını rapor edilmektedir (Haas ve Panula 2003). H1, H2 ve H3 reseptörlerinin, korteks, hipotalamus, amigdala ve hipokampus gibi hafıza ve öğrenme oluşumunda önemli beyin bölgelerinde dağılım göstermesi histaminin bu rolünü desteklemektedir (Martinez-Mir ve ark. 1990).

### **Üreme sistemi**

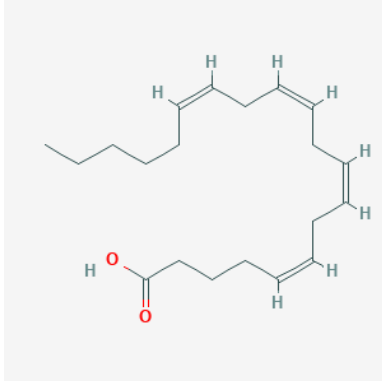
Periferal histaminin erkek üremesinde çok önemli bir role sahip olduğu ve testislerden salınan histaminin steroidojenik aktiviteyi düzenleyerek ve hem periferik H1 hem de H2 reseptörlerinin aracılığı ile Leydig hücre fonksiyonunun düzenlenmesinde rol oynadığı rapor edilmiştir (Khan ve ark. 2007). Beyinde histaminerjik nöronların hücre gövdeleri ile GnRH (Gonadotropin releasing hormon) nöronlarının aynı bölgelerde varlığının bildirilmesi merkezi histaminin, GnRH salınımının nöroendokrin kontrolünde önemli bir role sahip olduğu belirtilmektedir (Knigge ve Warberg 1991) Merkezi histaminin, plazma üreme hormonlarından GnRH, LH (Lüteinize hormon), FSH (Foliküler stimüle edici hormon) ve testosteron seviyelerini artırdığı, bu artışlara merkezi histaminin H1 ve H2 reseptörlerinin aracılık ettiği gösterilmiştir (Niaz ve ark. 2018).

### **Kardiyovasküler sistem**

Merkezi histaminerjik sistem, kardiyovasküler regülasyonda önemli rollere sahip bir düzenleyici olarak uzun yıllardır bilinmektedir. Kardiyovasküler sistemde histamin mast hücrelerinin granüllerinde depo edilmektedir (Genovese ve Spadaro 1997). Merkezi olarak uygulanan histaminin veya histaminin yıkımını sağlayan HNMT enziminin inhibe edilmesinin hem normotansif hem de hipotansif hayvanlarda kan akımını arttırdığı rapor edilmiştir (Klein ve Gertner 1983, Jochem, 2002c). Kardiyovasküler sistem üzerinde merkezi histaminerjik sistemin oluşturduğu etkiler canlının kardiyovasküler sistemine göre değişkenlik göstermektedir. Merkezi histamin enjeksiyonu normotansif hayvanlarda kan basıncında kısa süreli presör ve kalp hızında bradikardik yanıtlara neden olurken, hipotansif hayvanlarda intraserebroventriküler (i.c.v) yol ile enjeksiyonu, kan basıncında presör ve kalp hızında ise taşikardik etkilere yol açtığı bildirilmiştir. Her iki yanıtın oluşmasında histaminin H1 reseptörlerinin görev aldığı bildirilmiştir (Jochem 2000, 2002a, 2002b, Jochem ve Kasperska-Zajac 2012, Altınbas ve ark. 2016).

## 2.6. Araşidonik Asit Metabolizması

AA (5.8.11.14-cis-eikosatetraenoik asit), hücrel membranların fosfolipidlerinin parçalanması sonucunda ortaya çıkan 20 karbonlu poli doymamış bir olan eikosanoik asittir (Şekil 2.4). AA'nın kimyasal formülü  $C_{20}H_{32}O_2$  olup molekül ağırlığı 304,47 g/mol'dür (Attwell ve ark. 1993, Martin ve ark. 2016).



**Şekil 2.4.** AA'nın kimyasal yapısı

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Arachidonic-acid> (Erişim tarihi 24 Nisan 2020)

Eikozanoid sentezinde birincil olarak kullanılan yağ asitlerinin kaynağı, hücre membranındaki fosfolipidlerdir. Bu yağ asitleri, AA ve onun prekürsörü olan linoleik asittir (Takeuchi 2014). Membran fosfolipidlerinden yağ asitlerinin oluşması bilinen iki yolak üzerinden olur. Bunlar; FLA2 ve FLC yolağı (De Jonge ve ark. 1996). Hücre membranındaki serin proteazlar AA ve benzeri yağ asitlerinin oluşması için FLA2 ve FLC enzimlerini aktive ederler.

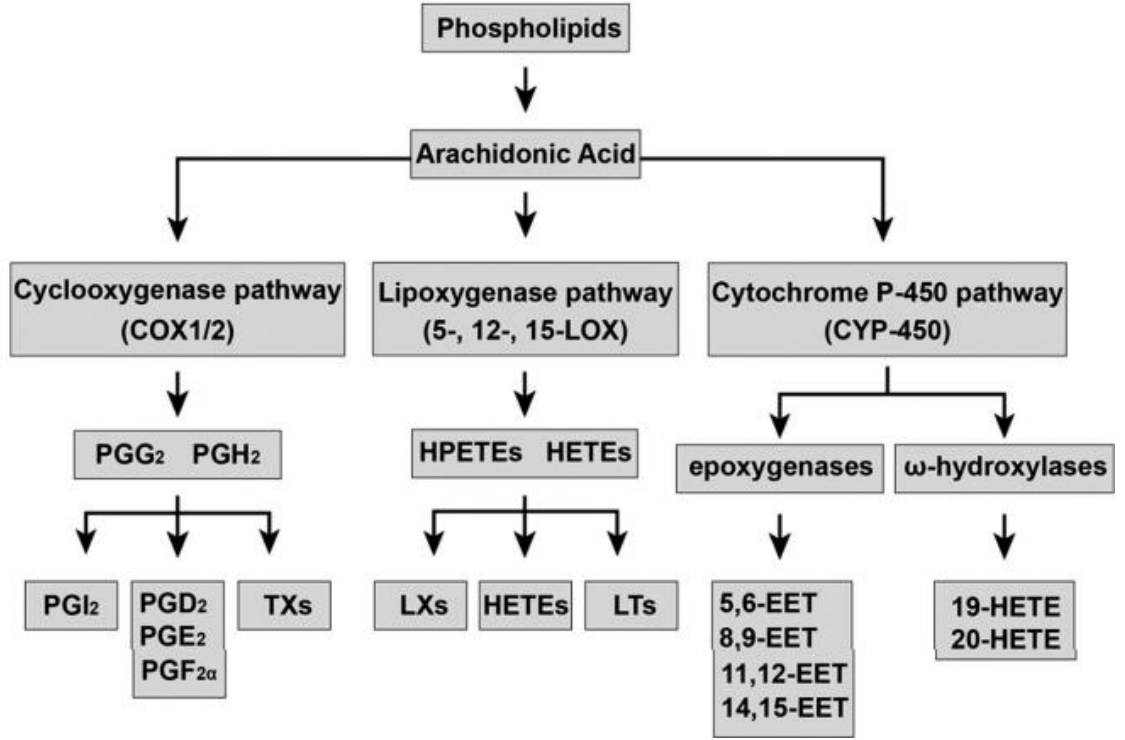
FLA2 yolağı: Eikozanoidlerin sentezinde membran fosfolipidlerinden AA ve benzeri yağ asitlerinin oluşumu, hız sınırlayıcı basamak olarak düşünülmektedir. FLA2'nin sitosolik ve salgılanan olmak üzere iki izoformu vardır. Sitosolik izoformda hücre içi eikozanoid üretimi FLA2 hücrelerin  $Ca^{+2}$  ile aktivasyonu sırasında zarlar arasındaki membrana transfer edilirken gerçekleşirken (Dennis 1994), salgılanan izoformda hücre dışı ortamda membran fosfolipidlerinden AA meydana gelebilir.

FLC yolağı: Fosfoliplerden AA ve benzeri yağ asitlerinin, fosfodiester bağını kırarak aadığa çıkan 1,2- diail gliserolden (DAG, digliserid) digliserid lipaz enzimi aracılığı ile meydana geldiği yoldur (Alberts ve ark. 2002).

AA bu yolaklar aracılığı ile serbestleşerek birçok eikozanoidin biyosentezini başlatır. Eikozanoidler, oklu doymamış yağ asitlerinin oksijenli metabolitleri olup otokrin ve parakrin düzenleyiciler olarak hem MSS hem de dokularda tanımlanmıştır (Kayaalp, 2012). şimdiye kadar yapılan incelemelerle eikozanoidlerin, kardiyovasküler sistemde homeostatik tepkilerin uyarılması, inflamasyonun indüklenmesi gibi farklı temel fizyolojik reaksiyonlara katıldığı ve birçok kanser türünde proliferasyon, apoptoz, metastaz ve anjiyogenez gibi patolojik bozuklukların oluşmasında önemli rolleri olduğu ortaya konulmuştur (Tuncer ve Banerjee 2015, Singh ve Rao 2019). Ayrıca romatoid artrit, astım, sedef hastalığı, gut ve ülseratif kolit gibi hastalıkların patofizyolojisinde de eikozanoidlerin önemli görevleri bulunmaktadır (Chauhan ve ark. 2019, Kopp ve ark. 2019) Eikozanoidler, hücre membranında kendilerine özgül reseptörlerini kullanarak etkilerini gerçekleştirmektedir (Kayaalp, 2012).

Memelilerde AA'den eikozanoid sentezi COX, LOX ve sitokrom p-450 (CYP) yolakları aracılığıyla gerçekleşir. AA, CYP yolağı üzerinde epoksieikosatrienoik asitler (EET) veya hidroksieikosatetraenoik asitlere (HETE) dönüştürülebilir (şekil 2.5) (Yuan ve ark. 2014).





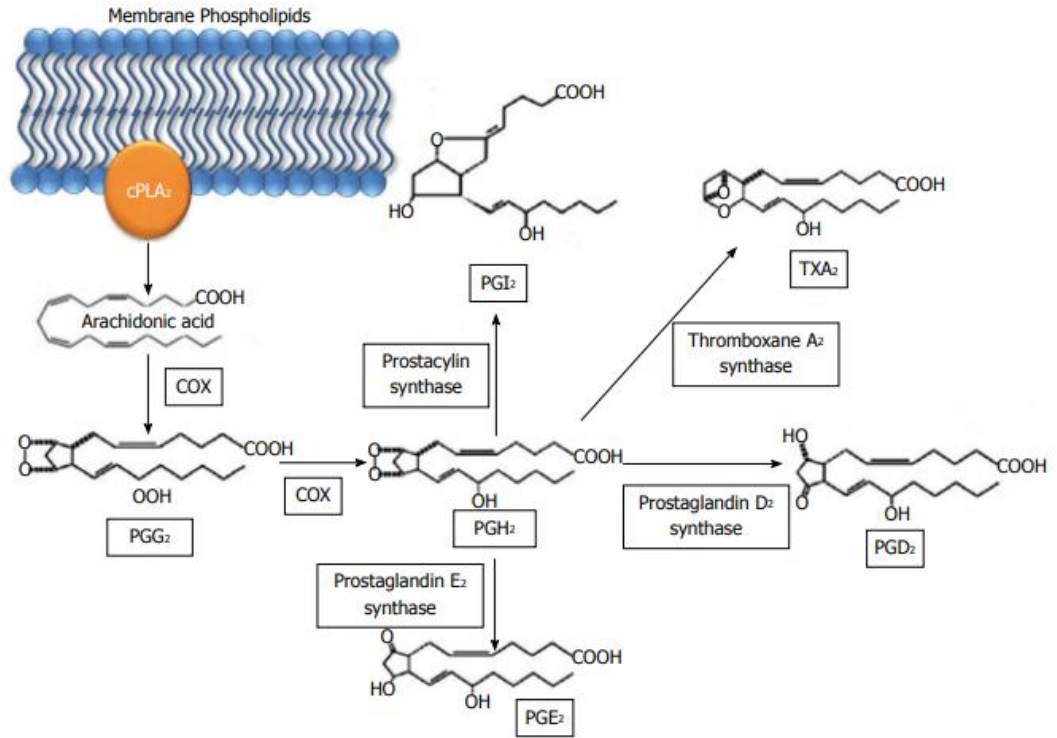
**Şekil 2.5.** Membran fosfolipidlerinden prostanoidlerin sentezi (Yuan ve ark. 2014). PG: Prostaglandin, TX: Tromboksan HPETE: Hidroperoksieikosatetraenoik asit, HETE: Hidroksieikosatetraenoik asit, LT: Lökotrien, LX: Lipoksin, EET: Epoksieikosatrienoik asit

### 2.6.1 COX yolağı ve prostanoidler

AA ve diğer yağ asitlerinden COX yolağı ile prostanoidler diye de adlandırılan çeşitli PG'ler ve TX'lar ve prostosiklinler üretilir. COX enzimi COX-1 ve COX-2 olmak üzere 2 forma sahiptir. İki enzim arasındaki başlıca fark fonksiyonel özelliklerinde yatmaktadır. COX-1 enzimi birçok dokuda hücre membranında yapısal olarak eksprese edilir bu durum COX-1'in üretildiği hücrelerde sürekli sentez edildiği ve bu nedenle daima bulunduğu anlamına gelmektedir. Esas olarak COX-1 enzimi bazı fizyolojik fonksiyonlar ve homeostazı korumak için önemli olan PG'lerin biyosentezine yardımcı olur. COX-2 enzimi ise PG'lerin sentezi için sitokinler gibi proinflamatuvar uyarılar ile (Tolba ve ark. 2014) indüklenmektedir (Rahman ve ark. 2013; Simmons ve ark. 2004). Bu nedenle COX-2, inflamatuvar COX olarak da adlandırılır (Banion 1999). COX enzimleri ilk olarak adı geçen prostanoidlerin oluşması için AA'nın FLA2 ile membrandan serbestleşmesinden sonra PGG<sub>2</sub>'nin ve PGH<sub>2</sub>'ye dönüşümünü katalize eder. PGG<sub>2</sub> ve PGH<sub>2</sub> gibi siklik endoperoksidler kısa yarılanma ömrüne sahiptir (Herschman 1996).

Siklik endoperoksidler bundan sonraki basamakta reaksiyonun gerçekleştiği dokuya göre üretilen sentaz enzimleri aracılığıyla PGE<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub> gibi PG'ler, prostasiklinler (PGI<sub>2</sub>) ve TXA<sub>2</sub>'ye dönüşür. PG'ler, prostasiklinler ve TX'ler grubu belirleyen harfin alt kısmına alifatik yan zincirler içindeki doymamış bağ sayısını gösteren 1 (tek doymamış bağlı), 2 (iki doymamış bağlı) veya 3 (üç doymamış bağlı) sayıları ile simgelenirler. PG'ler, karbon zincirinin ortasında siklopentan halkası bulunan eikozanoidler olup (Molloy ve ark. 1998) siklopentan halkasındaki yerin durumuna göre E, F, D, A, B ve C diye gruplandırılırlar. PG'lerin biyolojik yönden en aktif olanları, E ve F grubu PG'lerdir. PGF'lerin  $\alpha$  ve  $\beta$  olmak üzere iki izomerleri vardır. Vücutta  $\alpha$  izomeri oluşurken  $\beta$  izomeri oluşmaz. Prostrasiklinler, yapıca PG'lere çok benzer olup çoğu kaynakta PG olarak kabul edilirler. PG'lerden farkı, siklopentan halkasına ek olarak, ikinci bir halka daha içermeleridir. Prostrasiklinler endotel hücrelerinde sentezlenmeleri ile de PG'lerden ayrılırlar. Prostrasiklinler trombositlerin agregasyonunu inhibe eder ve vazodilatasyonu uyarır. TX'lar PG'lerden farklı olarak, beşli siklopentan halkasının yerine, bir oksijen bir karbon içeren altı üyeli bir halka içermektedir. TXA<sub>2</sub> diğer PG'lerden trombositler tarafından sentez edilmeleri yönü ile de ayrılırlar. TX'lar trombositlerin agregasyonunu ve vazokonstriksiyonu uyarır. TX'lar ve prostasiklinler belirli hücrelerde oluşur ve stabil olmayan kısa etkili bileşiklerdir (Kayaalp 2002). Prostrasiklinler ve TXA<sub>2</sub> trombositlerin agregasyon ve adezyonunu zıt yönde etkileyerek düzenleyen bir sistem oluşturular.

PG'ler etkilerini, hedef hücrelerin yüzeylerinde bulunan özel reseptörleri aktifleştirerek meydana getirir (Fitzpatrick ve Soberman 2001). Bu reseptörler güçlük sırasına göre PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2 $\alpha$</sub> , prostasiklin ve TXA<sub>2</sub>'dir. Reseptörlerin hepsi hücre yüzeyinde yerleşmiş yedi transmembran geçişli, G protein bağlı reseptörlerdir.



**Şekil 2.6.** AA'nın COX Yolu (Knab ve ark. 2014)

PGG<sub>2</sub> ve PGH<sub>2</sub> gibi yarılanma ömrü çok kısa olan siklik endoperoksitlerden prostanoidler şu enzimatik yollar ile oluşur: Endoperoksit E-izomeraz enzimi hücrelerde yaygın olarak bulunur ve PGH<sub>2</sub>'den PGE<sub>2</sub> oluşturur. PGH<sub>2</sub> ayrıca Endoperoksit redüktaz enzimi ile PGF<sub>2α</sub>'ya indirgenir. PGH<sub>2</sub>'den PGD<sub>2</sub> oluşturan enzim ise Endoperoksit D-izomeraz enzimidir bu reaksiyondan sonra PGD<sub>2</sub>, PGJ<sub>2</sub> olarak adlandırılan aktif bir metabolite dönüştürülür. 9-hidroksiprostaglandin dehidrojenaz enzimi ise karaciğer ve bazı dokularda varlığı gösterirken, PGF'yı PGE'ye dönüştürebilir. PGE'ler ise 9-ketoredüktaz enzimi ile PGF'lere indirgenebilirler (Kayaalp 2002). Prostaniklin sentaz enzimi PGH<sub>2</sub>'yi stabil olmayan PGI<sub>2</sub>'ye çevirir ve PGI<sub>2</sub> enzimatik olmayan hidrolizle hızlı bir şekilde 6-keto-PGF<sub>2α</sub>'ya dönüştürülür. 6-keto-PGF<sub>2α</sub>, PGI<sub>2</sub>'ye kıyasla stabil olan ve etkilerini zayıf olarak gösteren veya hiç göstermeyen bir metabolittir. 6-ketoPGF<sub>1α</sub> ise 9-hidroksiprostaglandin dehidrojenaz enzimi aracılığı ile stabil prostaniklin metaboliti olan 6-keto-PGE<sub>1</sub>'e çevrilir (Nasrallah ve Richard 2005). TX sentaz enzimi ise trombositlerde bulunur ve PGH<sub>2</sub>'nin TXA<sub>2</sub>'ye dönüşümünü sağlar TXA<sub>2</sub>'nin, sulu ortamda yirmi saniye içinde yarılanmaktadır.

TXA<sub>2</sub> genellikle trombositlerde COX-1 aracılığı ile sentezlenirken, makrofajlarda COX-2 aracılığıyla da sentezlenebilir ( Félétou ve ark. 2010).

Prostanoidlerin inhibisyonu şu şekillerde gerçekleşir: PG'ler sentez edildikleri dokularda depolanmaksızın salınırlar. Herhangi bir etken ile PG'lerin sentezinin artması salınmanın artmasına neden olurken sentezin inhibe eden her yol da salınmayı azaltır. Sentezi aspirin, ibuprofen ve diğer antiinflamatuvar analjezik ilaçlar COX enzimini inhibe ederek dokulardan PG salınımını azaltma yoluyla inhibe ederler (Bjorkman, 1998). PGE ve PGF'ler sentez edildikleri dokudaki enzimler aracılığıyla veya dolaşımında akciğerlerden ve böbrek korteksi gibi organlarda bulunan enzimler tarafından inhibe edilirler. PG'ler akciğerler %95'e varan bir oranda inhibe olurlar, bu nedenle dokulardan dolaşıma verildiklerindeki etkileri belirsizdir. Prostaglandinler ise karaciğer ve böbrek gibi yapılarda inaktif metabolitlere dönüşürken akciğerde parçalanmaz. TXA<sub>2</sub>, yarılanma ömrü oldukça kısa olan TXB<sub>2</sub> isimli inaktif metabolite enzimatik olmayan yıkımla dönüşürken TXB<sub>2</sub> ise kısmen, 2,3-dinor-TXB<sub>2</sub>'ye dönüştürülerek böbrekten atılır (L1 ve ark. 1998).

## **2.6.2 Prostaglandinlerin Fizyolojik Etkileri**

PG'ler doku ve organlarda doğal olarak bulunmasının yanında dışarıdan uygulandıklarında da kardiyovasküler sistemin lokal ve sinirsel kontrolü, üremenin kontrolü, kan homeostazisi ve benzeri fizyolojik süreçlerde; hipertansiyon, inflamasyon, tromboz, diyabet, kanser gibi süreçlerde de önemli patolojik görevlerde üstlenmektedir (Greene ve ark. 2011, Lima ve ark. 2012).

### **Kardiyovasküler sistem**

Kardiyovasküler sistemin düzenlenmesinde PG'ler önemli görevlere sahiptir. PGE ve prostosiklinler damar yataklarında güçlü bir vazodilatör olarak etkinlik göstererek kan basıncını düşürmektedir (Swan ve Breyer, 2011). Bunun yanında TXA<sub>2</sub>'nin bütün damar yataklarında daralmaya neden olduğu rapor edilmiştir (Schrör ve Rauch, 2015). FLA2 aktivatörü melittinin merkezi olarak uygulanmasının normotansif ve hipotansif şartlarda oluşturduğu kardiyovasküler etkilere COX-TXA<sub>2</sub> sinyal yolağının aracılık ettiği gösterilmiştir (Yalcin ve ark. 2006).

### **Üreme sistemi**

PG'ler üreme sisteminde çeşitli kısımlarında bol miktarda bulunarak önemli görevler üstlenmiştir. Sperm içinde da bolca bulunan PG'lerin yumurtanın döllenesini kolaylaştırdığı, PGE ve PGF'nin intravenöz olarak verildiğinde gebelik olsun olmasın uterusda oksitosik etkinlik gösterdiği, gebelik esnasında verilmelerinin aborta neden olduğu, gebelik sonunda verilmelerinin doğumun başlamasına neden olduğu rapor edilmiştir. (Malysz-Cymborska ve Andronowska 2015). Bunun yanında serebral yan ventriküle uygulanan AA'nın COX-TXA<sub>2</sub> sinyal yolağı aracılığı ile erkeklerde plazma FSH, LH, GnRH ve testosteron hormon seviyelerini ve spermin hareketliliğini arttırdığı gösterilmiştir (Erkan ve ark. 2015).

### **Gastrointestinal sistem**

Gastrointestinal sistem içerisinde PG'lerin önemli roller üstlendiği bilinmektedir. PGE<sub>1</sub>, PGE<sub>2</sub> ve prostasiklinlerin intravenöz olarak uygulandıklarında midedeki asit salgısını güçlü bir şekilde inhibe ettiği rapor edilmiştir (Ateufack ve ark. 2015). Ayrıca PGE ve prostasiklinlerin midede hücre koruyucu (sitoprotektif) olarak etki gösterdiği bildirilmiştir (Niv ve Banic 2014). PGE<sub>1</sub> ve PGF<sub>2α</sub>'nın bağırsak mukozasında koleraya benzer şekilde sulu diyareye neden olduğu da rapor edilmiştir (Stenson 2014).

### **Boşaltım sistemi**

PGE<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub> ve PGI<sub>2</sub> böbreklerde kan damarlarını genişletici etki yaparak ve kan akımının sağlanmasına ve suyun reabsorbe edilmesine neden olurlar. PGE<sub>2</sub>'nin idrar söktürücü etki yaptığı, PGI<sub>2</sub>'nin böbrekte renin ve eritropoietin salınımını artırdığı, PGF<sub>2α</sub>'nın ise renin salınımını inhibe ettiği de bilinmektedir. Ayrıca böbreklerde PGE<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub> ve PGF<sub>2α</sub>'nın vücuttan tuz atımını arttırdığı bilinmektedir (Hao ve Breyer 2008).

### **Kanın şekilli elemanları ve trombozun kontrolü**

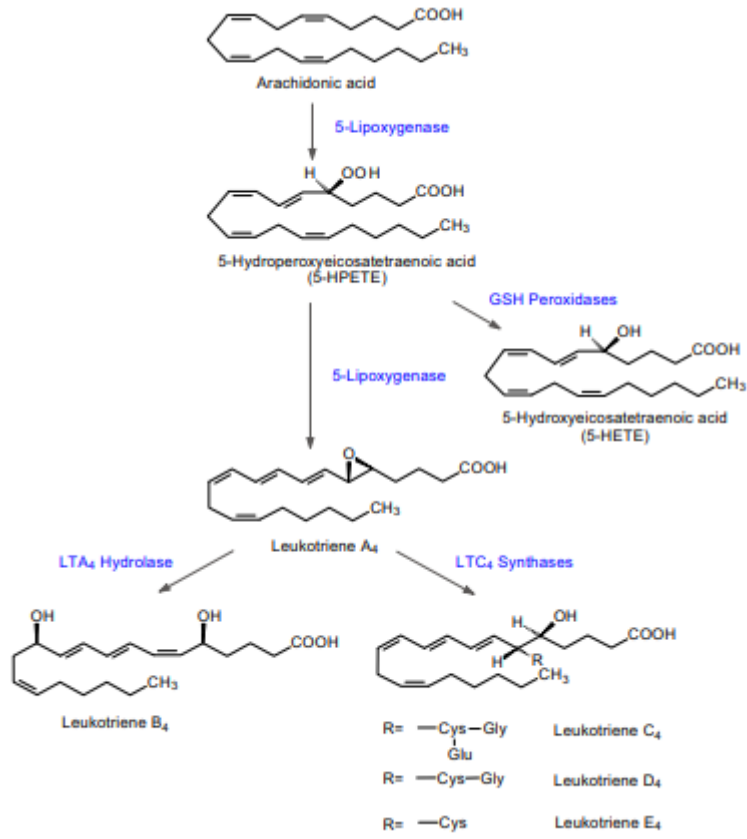
Kanda homeostazisin sağlanmasında PG ve TX'ler görev almaktadır. PGE<sub>1</sub>, PGD<sub>2</sub> ve PGI<sub>2</sub> trombositlerin kanamayı durdurmak için meydana getirdiği kümelenmeyi güçlü şekilde inhibe ederler. Prostaglandinler trombositlerin kümelenmesini önleyen maddelerin en güçlüsüdür. (Khan ve Fraser, 2012). PGI<sub>2</sub>/TXA<sub>2</sub> oranı tromboz oluşumunun kontrolünde önemli rol oynamaktadır (Schrör ve ark. 2010).

### **Solunum sistemi**

Akciğerlerde bulunan temel prostanoidin prostasiklinler, bronşlarda bulunanın ise PG'ler olduğu bilinmektedir. PGE<sub>1</sub> ve PGE<sub>2</sub> bronş düz kaslarını gevşeterek genişlemesine sebep olurken, PGF<sub>2α</sub> bronş düz kaslarında daralma yapmaktadır (Claar ve ark. 2015). Ayrıca, merkezi yolla uygulanmış olan AA'nın COX-TXA<sub>2</sub>-PGE<sub>2</sub> ve PGD<sub>2</sub> yolları aracılığı ile hiperventilasyona yol açtığı rapor edilmiştir (Erkan ve ark. 2016).

### **2.6.3 LOX yolağı ve Eikosanoidler**

LOX enzimleri (5-LOX, 12-LOX ve 15-LOX) AA ve benzeri poli doymamış yağ asitlerinden eikosanoidleri sentezlemektedir. Prekürsör yağ asitlerinden LOX yolağı aracılığı ile meydana gelen eikosanoidler; hidroperoksieikosatetraenoik asit (HPETE)'ler, HETE'ler (12-HETE, 15-HETE) ve LT'ler (LTA<sub>4</sub>, LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> ve LTE<sub>4</sub>) olarak bilinmektedirler (Mochizuki ve Kwon 2008). LOX enzimleri tarafından bu ürünlerinin meydana getirilmesi trombosit ve lökositlerde araştırılmıştır. 5-LOX, lökositlerde bulunarak AA'yı 5-HPETE'ye metabolize etmektedir. 5-LOX enziminin meydana getirdiği eikosanoidler arasında LTA<sub>4</sub> primer LT'dir; diğer beş LT LTA<sub>4</sub>'den oluşur. Trombositlerde ise 12-LOX enzimi bulunur ve AA'yı 12-HPETE'ye dönüştürmektedir. 15-LOX enzimi arteriyel endotel hücrelerinde bulunur ve bu enzimin etkisi ile linoleik asitten 13- hidroksioktedekadienoik asitin (13-HODE) oluşur. 13-HODE endotel yüzeyinde trombosit ve lökositlerin kümelenmesini engeller (Rinaldo-Matthis ve Haeggström 2010). LT'ler hücre yüzeyinde kendilerine özgü reseptörleri aktive ederek hücre içindeki görevlerini gerçekleştirirler. LT'ler için endojen agonistlerinin adlarına göre adlandırılmış üç tür reseptör belirlenmiştir. Bunlar BLT (LTB<sub>4</sub>), sisLT1(LTD<sub>4</sub>- LTD<sub>4</sub>/LTE<sub>4</sub>) ve sisLT2 (LTC<sub>4</sub>) reseptörleridir.



Şekil 2.7. AA'dan Lökotrienlerin Oluşum Mekanizması (Radmark ve ark. 2014)

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Genel

Çalışmada Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiş, toplam 25 adet Sprague–Dawley ırkı, yetişkin (3 aylık, 270–300 g), erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar her grupta 5 adet olacak şekilde 5 gruba ayrıldı.

Sıçanlar, kontrollü sıcaklık (20–22 °C), nem (%60–70), aydınlatma (12 saat aydınlık/karanlık döngüsü) koşullarında ayrı kafeslerde barındırıldı ve *ad libitum* yiyecek ve su ile beslendi. Çalışmadaki tüm cerrahi ve deneysel işlemler, Uludağ Üniversitesi Hayvan Bakım ve Kullanımı Etik Komitesi tarafından onaylanan 2019-06/06 Karar No'lu etik kurul onayı ile gerçekleştirildi.

#### 3.2. Genel Hazırlı ve Cerrahi İşlemler

Sıçanlara, tüm cerrahi işlemler sırasında sevofloran (%2–4/ %100 O<sub>2</sub>) anestezi uygulandı. Anestezi altındaki sıçanların kafatasları stereotaksik alete yerleştirildi ve kafa derisi orta hattın kesilip kemik net bir şekilde ortaya çıkarıldı. i.c.v enjeksiyonlar için kafatasına Paxinos ve Watson'un Sıçan Beyin Atlası'ndan yararlanılarak, (Paxinos ve Watson, 2007) belirtilen koordinatlara göre orta hattın 1,5 mm lateralinden ve bregmanın 1,0 mm posteriorundan kafatasına bir delik açıldı. Sterilize edilmiş 22 G (Gauge)'lık paslanmaz çelik iğneden hazırlanmış kılavuz kanül kafatasından itibaren 4,5 mm vertikale ulaşacak şekilde bu delikten sokularak lateral ventriküle doğru itildi. Kılavuz kanül dışı akriliği ile kafatasına tutturuldu. Sterilize edilmiş 28 G paslanmaz enjeksiyon kanülü, kılavuz kanül içinden geçirilerek dışarıya bakan ucu kapatıldı. Enjeksiyon kanülü uygulaması yapılacak ilaç ve/veya ilacın içerisinde çözündürüldüğü madde ile dolduruldu. İ.c.v ilaç enjeksiyonları toplam 5 µl içinde yapıldı ve bu miktar sıvı 60 saniye boyunca yavaş infüzyon tarzında uygulandı. Daha sonra sıçanlar ayrı kafeslere konularak 1 gün anestezi etkilerinden çıkmaları sağlandı. Deneyden sonra sıçanlar, günlük olarak penisilin (0.3 mg/kg; kas içi) ve buprenorfin (25 ug/kg; deri altı) ile tedavi edildi.

Deney sırasında sıçanlar, herhangi bir ağrı belirtisi olmadan sakin kaldılar ve ayrı bir kafeste serbestçe hareket ettiler.



### 3.3. Deneysel Protokol

Histamin ve histaminerjik reseptörlerin hipotalamik COX ve LOX enzimleri üzerindeki kronik etkisini belirlemek amacıyla hayvanlar 5 gruba ayrıldı. 1. gruptaki hayvanlara, kontrol amaçlı olarak fizyolojik tuzlu su (FTS) (5 µl; i.c.v), (n=5); 2. gruptaki hayvanlara histamin (100 nmol; i.c.v), (n=5); 3. gruptaki hayvanlara histaminerjik H1 reseptör antagonisti klorfeniramin (100 nmol; i.c.v), (n=5); 4. gruptaki hayvanlara histaminerjik H2 reseptör antagonisti ranitidin (100 nmol; i.c.v), (n=5); 5. gruptaki H3/4 reseptör antagonisti tioperamid (100 nmol; i.c.v), (n=5); bir hafta boyunca, aynı saate olacak şekilde (09:00-10:00) kronik olarak uygulandı.

Deneyin sonunda (7. günde), derin anestezi uygulanmış sıçanlar (%2-4/ %100 O<sub>2</sub>) sakrifiye edilerek beyinleri hızla kafatasından çıkarıldı soğuk tabla üzerinde hipotalamus bölge diseke edildi. Sıçanların hipotalamusunu incelemek için kavisli pens kullanıldı. Pensin kıvrımlı kısmı, ventral tarafı yukarı gelecek şekilde yerleştirilmiş olan beyinden hipotalamusun çevresine doğru itildi ve pens ile aşağı bastırırken hipotalamus sıkıştırılarak nazikçe dışarı çıkardı. Bunu takiben, doku hemen 15 ml'lik bir falcon tüpünün tabanına yerleştirildi ve tüp hemen kuru buz üzerinde donduruldu -80°C'de saklandı. Analiz yapılacağı gün sıçanlardan alınan hipotalamus örnekleri homojenize edilerek total protein tayinleri yapıldı ve western blot yöntemi kullanılarak COX -1, -2 ve LOX protein aktivite ölçümleri gerçekleştirildi. Deney esnasında tüm gruptaki hayvanlara günlük operasyon bölgesine lokal olarak, antiseptikli pomad uygulaması yapıldı.

### **3.4. Western Blot Yöntemi ile COX-1, COX-2 ve LOX Protein Aktivite Ölçümü**

#### **3.4.1. Örneklerin hazırlanması**

Analiz yapılacağı gün tüm dokular  $-80^{\circ}\text{C}$ 'den çıkarılarak, falkon içindeki hipotalamus örnekleri tartıldı, 10 katı kadar hacimde RIPA buffer (Radioimmunoprecipitation assay buffer) eklendi. Ardından bıçaklı homojenizatör ile buz içinde homejenizasyon yapıldı. Homojenizasyonu takiben dokunun proteinli kısmını ayırtmak amacıyla 14000 RPM'de,  $+4^{\circ}\text{C}$  derecede, 15 dakika santrifüj yapıldı. Süpernatant mikropipet yardımıyla peleti karıştırmadan yeni bir mikrofüj tüpüne alındı ve total protein konsantrasyonları ölçüldü.

#### **3.4.2. Total protein konsantrasyonu tayini**

Total protein konsantrasyonu belirleme basamağının amacı Western jelinin her bir kuyucuğuna eşit miktarda protein yükleyebilmektir. Deneyde toplam protein konsantrasyonunu kalorimetrik olarak belirlemek için, üreticinin talimatlarına göre bisikoninik asit (BCA) protein ekstraksiyon kiti (BioVision, BCA protein tahlil kiti Cat: K813-2500) kullanıldı. Ölçümler için 96'lık platelerde yapıldı. Her bir örnek için 196  $\mu\text{L}$  BCA ve 4  $\mu\text{L}$   $\text{CuSO}_4$  hazırlandı ve hazırlanan BCA-  $\text{CuSO}_4$  her bir kuyucuğa dağıtılarak üzerine 10  $\mu\text{L}$  protein örnekleri eklendi. 30 dakika bekletildikten sonra ölçüm yapıldı ve protein konsantrasyonları hesaplandı.

#### **3.4.3. Elektroforez sisteminin kurulması**

Her örnekte eşit miktarda protein (50  $\mu\text{g}$ ), olacak şekilde yükleme hacimleri hesaplandı ve yüklemek için %8 SDS poliakrilamid jeller (Invitrogen, NuPAGE™ Bis-Tris Mini Gels) kullanıldı. Elektroforez ve transfer için 800 ml 1X MES-SDS Running Buffer hazırlandı. Ticari olarak satın alınan jeller bant ve tarak kısımları çıkarılarak tanka yerleştirildi. Kuyucukların polimerleşmemiş poliakrilamid jelle dolu olma ihtimaline karşı mikropipet ya da pastör pipeti yardımıyla iyice temizleninceye kadar birkaç sefer

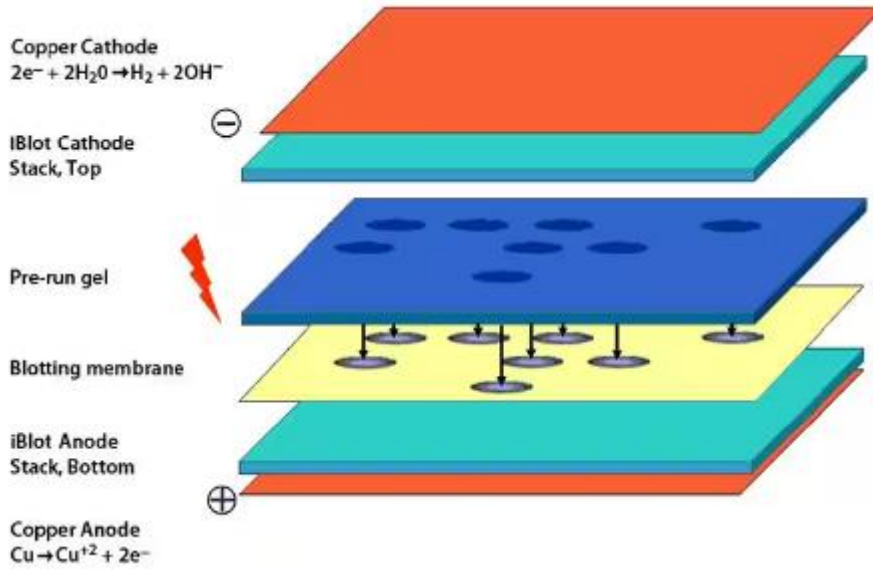
bas-çek şeklinde yıkandı. Bu şekilde kuyular arındırılıp, örneğin düzgün bir şekilde kuyucuğa oturması ve yürütme sırasında jele düzgün bir şekilde girebilmesini sağlandı.

#### **3.4.4. Yükleme ve elektroforez**

Protein örnekleri ependorf içerisinde NuPAGE™ Reducing Agent (10X), NuPAGE™ LDS Sample Buffer (4X) ve dH<sub>2</sub>O ile hazırlandı ve hazırlanan ependorflar 70°C derecede 10 dakika bekletildikten sonra mikropipetle her bir kuyuya, yavaşça ve sızdırmadan konuldu. Moleküler standart, ilk kuyucuğa 7-10 µl konuldu. Diğer kuyulara hazırlanan 20 µl yükleme örnekleri konuldu. Yükleme yapıldıktan sonra “Invitrogen™ Mini Gel Tank” elektroforez sistemi kullanılarak elektrotların doğru kutuplarda olduğuna emin olunduktan sonra kapak ile kapatılıp güç kaynağı 200V akımla çalıştırıldı. Yaklaşık 22 dakika boyunca örnekler jelde yürütüldü. Moleküler ağırlığına bağlı olarak araştırılan protein poliakrilamid jel üzerinde istenen düzeye ulaşıncaya kadar güç kaynağı kapatıldı, yürütme tamamlandı. Belirlenen yürütme süresi bittikten sonra jel kalıpları gevşetilerek ortaya çıkarılan jelin üst kenarındaki kuyucuklar düzgün bir şekilde bistüri ile kesildikten sonra, jel parçalanmamasına özen gösterilerek çıkartıldı ve içinde dH<sub>2</sub>O olan kaba alındı.

#### **3.4.5. Proteinlerin jel'den membrana transferi**

Transfer işlemi için “iBlot 2 Dry Blotting System” düzeneği şekil 3.1.'deki gibi hazırlanarak yerleştirildi. Transfer düzeneğini kurduktan sonra cihaz 3 numaralı programda, 20V akımda, 7 dakikada membrana transfer gerçekleştirildi. Transfer tamamlandığında güç kaynağı kapatıldı ve membran jelden ayrılarak alındı.



**Şekil 3.1.** iBlot 2 Dry Blotting System  
Jelden membrana transferin şematik olarak gösterilmesi

### 3.4.6. İlgili proteinin işaretlenmesi ve boyanması

**Blokaj:** Membranla antikorlar arasındaki nonspesifik etkileşim alanının blokajı için, membranlar %5 yağsız süt tozu (w/v) içeren Tris tamponu (TBS) ve %0.1 Tween 20 (TBS-T) çözeltisi ile 1 saat bloke edildi. Membranlar bloke edildikten sonra TBS-T ile yıkandı.

**Membrana birincil antikor ekleme:** Primer antikor %5 yağsız süt tozu (w/v) içeren TBS-T içinde 10 µL antikor olacak şekilde hazırlandı. Primer antikor olarak anti-tavşan-COX-1 (1:1000, Cell Signaling, Leiden, Hollanda), COX-2 (1:1000, Abcam, Burlingame, California, ABD), LOX (1:1000, Cell Signaling, Leiden, Hollanda), pozitif kontrol olarak β-Actin (1:5000, Sigma-Aldrich, ABD) kullanıldı. Membran, birincil antikor çözeltisinde gece boyu +4°C bekletildi. İşlemin sonunda membran üstündeki birincil antikor çözeltisi yeniden kullanılmak üzere ayrılarak, membran yıkamaya alındı.

**Membranın birincil antikor fazlasından kurtarılması:** Membran üstüne TBS-T eklenerek 3 kez 10 dakika sallayıcıya konup sallanarak yıkama yapılır.

**Membrana ikincil antikor ekleme:** Sekonder antikor %5 yağsız süt tozu (w/v) içeren TBS-T çözeltisi içinde 10 µL antikor olacak şekilde hazırlandı. Gece boyu inkübasyondan sonra, membranlar HRP (Horse radish peroksidaz) ile bağlanmış tavşan anti IgG ve/veya fare anti IgG ikinci antikorlar (1:2000, Cell Signaling, Leiden, Hollanda) ile 1 saat inkübe edildi.

**Membranın ikincil antikor fazlasından kurtarılması:** Membran üstündeki ikincil antikor dökülerek üstüne TBS-T eklendi ve 3 kez 10 dakika sallayıcıya konup sallanarak yıkama yapıldı.

**Chemiluminescent ile görüntü elde edilmesi:** Membran TBS-T ile yıkandıktan sonra 5 dakika boyunca 2 mL Clarity Western ECL Substrate (Bio-Rad, ABD) kullanılarak inkübe edildi ve protein bantları, Fusion FX-7 görüntüleme cihazında (Vilber Lourmat, Torcy, Fransa) dijital olarak görsel hale getirildi. Görüntülerdeki protein bantlarının optik yoğunlukları, Image J yazılımı ile kantitatif olarak analiz edildi.

### 3.5. İstatistiki değerlendirme

Çalışmamızdaki tüm sonuçlar ortalama  $\pm$  standart hata olarak verildi. Elde edilen sonuçların değerlendirilmesi iki yönlü tekrarlanan RM-ANOVA'yı takiben Bonferroni ile yapıldı. *p*'nin 0,05 den küçük olduğu değerler istatistiki olarak anlamlı sayıldı.

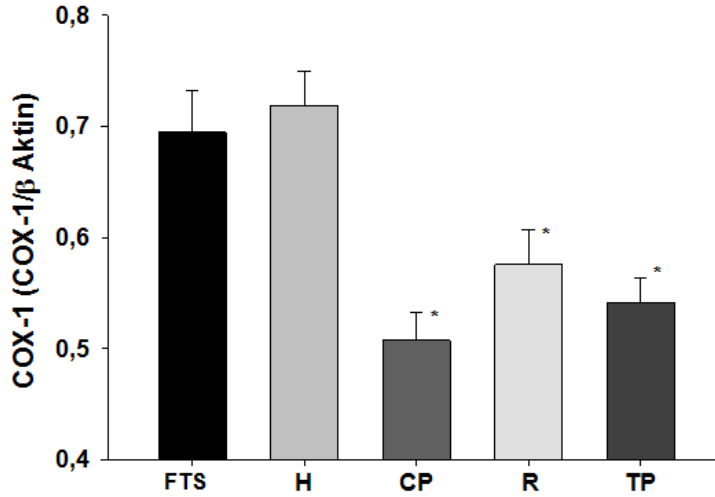
### 3.6. İlaçlar

Çalışmada kullanılan histamin, klorfeniramin, ranitidin ve tiyoperamid (Sigma-Aldrich Co. Deisenhofen, Almanya) ticari olarak satın alındı. Kullanılan ilaçlar deney günü FTS içinde taze olarak hazırlandı. İ.c.v enjeksiyonlar el yapımı enjeksiyon kanülü kullanılarak yapıldı. Enjeksiyon kanülü, 10 µL'lik bir mikro şırıngada salin veya incelenen ajanın FTS solüsyonu ile doldurulmuş polietilen katatere bağlandı. İ.c.v enjeksiyon için, 60 saniye içinde 5 µL solüsyon hacmi infüze edildi. Enjeksiyon sırasında, polietilen katater içinde hareket eden bir hava kabarcığı, ilacın bütünüyle iletildiğinden emin olmak için yakından izlendi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Histamin ve Histaminerjik Reseptör Antagonistlerinin İntraserebroventriküler Enjeksiyonunun Hipotalamik COX-1, COX-2 ve LOX Enzimleri Üzerindeki Etkileri

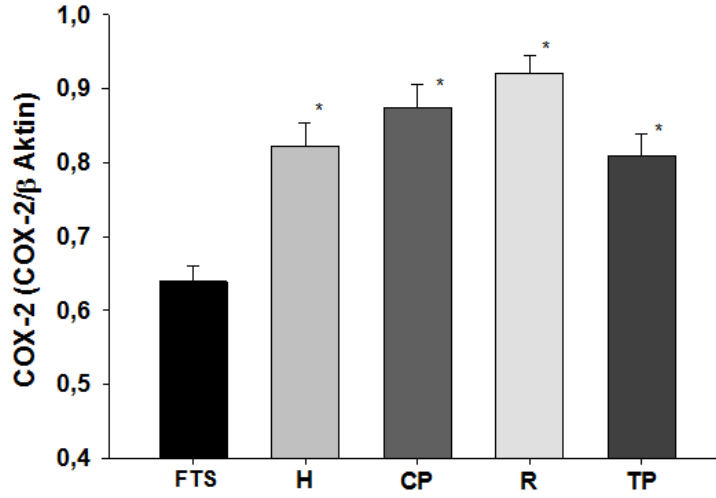
Histamin ve histaminerjik reseptörlerin hipotalamik COX ve LOX enzimleri üzerindeki kronik etkisini belirlemek amacıyla sıçanlara kronik olarak 7 gün boyunca FTS (n=5), i.c.v yolla 5 µl; histamin (n=5), i.c.v yol ile 100 nmol; klorfeniramin (n=5) i.c.v yol ile 100 nmol; ranitidin (n=5), i.c.v yol ile 100 nmol; tioperamid (n=5), i.c.v yol ile 100 nmol tedavisi uygulanmıştır. Hipotalamik COX-1, COX-2 ve LOX'un ekspresyon seviyesinde meydana gelen değişimler Image J programı ile analiz edilmiştir. Elde edilen verilerin beta actine göre normalizasyonları yapılmış ve sonuçlar yüzdesel olarak hesaplanmıştır. Hipotalamik COX-1 miktarı histamin tedavisi ile %4 artarken, histaminerjik H1 reseptör antagonisti klorfeniramin, histaminerjik H2 reseptör antagonisti ranitidin ve histaminerjik H3/H4 reseptör antagonisti tioperamid ile yapılan tedavilerde sırasıyla %27, %17 ve %22 azalma gözlemlendi (Şekil 4.1, Şekil 4.4).



**Şekil 4.1.** Histamin ve histaminerjik reseptör antagonistlerinin intraserebroventriküler enjeksiyonunun hipotalamik COX-1 miktarı üzerine etkileri

Sıçanlara kronik olarak fizyolojik tuzlu su (FTS; 5 µL; i.c.v; n=5), histamin (H; 100 nmol; i.c.v; n=5), klorfeniramin (CP; 100 nmol; i.c.v n=5), ranitidin (R; 100 nmol; i.c.v; n=5) ve tioperamid (TP; 100 nmol; i.c.v; n=5) 7 gün boyunca enjekte edildi. Sonuçlar Image J programı ile kantitatif olarak analiz edilmiştir. Veriler, beş ölçümün ortalama ± SEM'si olarak verilmiştir. İstatistiksel analiz, post hoc Bonferroni testi ile iki yönlü RM-ANOVA kullanılarak yapıldı. \*p<0.05, FTS tedavi edilen grubun değerinden önemli ölçüde farklılığı göstermektedir.

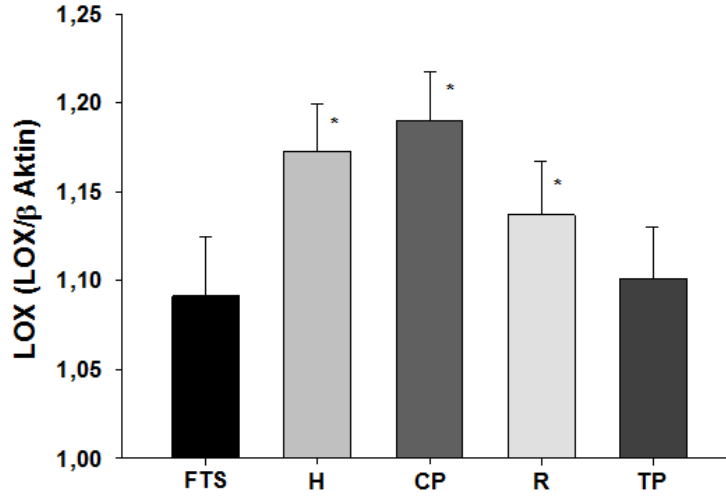
Histamin, histaminerjik H1 reseptör antagonisti klorfeniramin, histaminerjik H2 reseptör antagonisti ranitidin ve histaminerjik H3/H4 reseptör antagonisti tiyoperamid ile merkezi kronik tedavi sonrası, hipotalamik COX-2 miktarı sırasıyla %29, %37, %45 ve %27 artmasına neden oldu (Şekil 4.2, Şekil 4.4).



**Şekil 4.2.** Histamin ve histaminerjik reseptör antagonistlerinin intraserebroventriküler enjeksiyonunun hipotalamik COX-2 miktarı üzerine etkileri

Sıçanlara kronik olarak fizyolojik tuzlu su (FTS; 5 µL; i.c.v; n=5), histamin (H; 100 nmol; i.c.v; n=5), klorfeniramin (CP; 100 nmol; i.c.v n=5), ranitidin (R; 100 nmol; i.c.v; n=5) ve tiyoperamid (TP; 100 nmol; i.c.v; n=5) 7 gün boyunca enjekte edildi. Sonuçlar Image J programı ile kantitatif olarak analiz edilmiştir. Veriler, beş ölçümün ortalama ± SEM'si olarak verilmiştir. İstatistiksel analiz, post hoc Bonferroni testi ile iki yönlü RM-ANOVA kullanılarak yapıldı. \*p<0.05, FTS tedavi edilen grubun değerinden önemli ölçüde farklılığı göstermektedir.

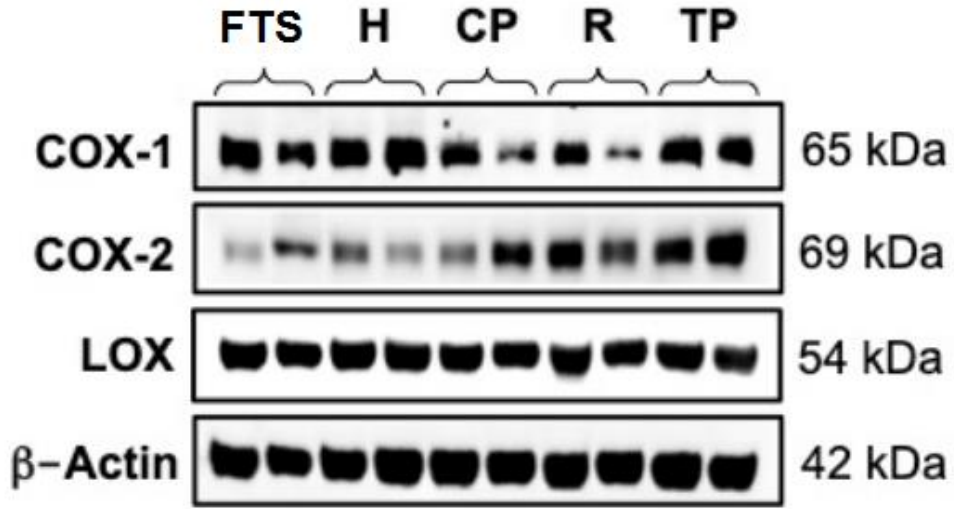
Ayrıca hipotalamik LOX miktarı histamin, histaminerjik H1 reseptör antagonisti klorfeniramin, histaminerjik H2 reseptör antagonisti ranitidin ve histaminerjik H3/H4 reseptör antagonisti tioperamid ile sırasıyla %8, %9, %4 ve %1 artış göstermiştir (Şekil 4.3, Şekil 4.4).



**Şekil 4.3.** Histamin ve histaminerjik reseptör antagonistlerinin intraserebroventriküler enjeksiyonunun hipotalamik LOX miktarı üzerine etkileri

Sıçanlara kronik olarak fizyolojik tuzlu su (FTS; 5  $\mu$ L; i.c.v; n=5), histamin (H; 100 nmol; i.c.v; n=5), klorfeniramin (CP; 100 nmol; i.c.v n=5), ranitidin (R; 100 nmol; i.c.v; n=5) ve tiyoperamid (TP; 100 nmol; i.c.v; n=5) 7 gün boyunca enjekte edildi. Sonuçlar Image J programı ile kantitatif olarak analiz edilmiştir. Veriler, beş ölçümün ortalama  $\pm$  SEM'si olarak verilmiştir. İstatistiksel analiz, post hoc Bonferroni testi ile iki yönlü RM-ANOVA kullanılarak yapıldı. \*p<0.05, FTS tedavi edilen grubun değerinden önemli ölçüde farklılığı göstermektedir.





**Şekil 4.4.** Western blot ile COX-1, COX-2 ve LOX ekspresyon seviyelerindeki değişiklikler

Sıçanlara kronik olarak fizyolojik tuzlu su (FTS; 5 µL; i.c.v; n=5), histamin (H; 100 nmol; i.c.v; n=5), klorfeniramin (CP; 100 nmol; i.c.v n=5), ranitidin (R; 100 nmol; i.c.v; n=5) ve tiyoperamid (TP; 100 nmol; i.c.v; n=5) 7 gün boyunca enjekte edildi. Çalışma sonunda Western blot kullanılarak COX-1, COX-2 ve LOX ekspresyon seviyeleri ölçüldü. Şekilde her enjeksiyon için iki numune gösterilmiştir.

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışmanın sonuçları i.c.v ve kronik olarak uygulanan histaminin hipotalamik COX-1, COX-2 ve LOX düzeylerinde artış meydana getirdiğini göstermektedir. Ayrıca, klorfeniramin, ranitidin ve tiyoperamid ile merkezi ve kronik olarak uygulanan tedaviler hipotalamik COX-1 seviyesinde azalmaya yol açarken hipotalamik COX-2 ve LOX seviyelerinde artışa neden olmuştur.

COX ve LOX metabolitleri, merkezi sinir sisteminde nörotransmitterlerin salınımı, sinaptik sinyalleşme, nöronal ateşleme, nosisepsiyon, nöronal gen ekspresyonu, serebral kan akışı, uyku-uyanıklık döngüsü, iştah gibi birçok fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerde rol oynar (Bosetti 2007). Ayrıca iyon kanallarının modülasyonu ve protein kinaz A, protein kinaz C ve NADPH oksidaz dahil olmak üzere birçok enzimin aktivitesinin düzenlenmesinde görev yapar (Katsuki ve Okuda 1995). Yapılan çalışmalar AA'nın COX ve LOX metabolitlerinin beyinde merkezi sempato adrenomedüller aktivasyona dahil olduğunu göstermiştir (Yokotani ve ark. 2000). Ayrıca i.c.v olarak enjekte edilen AA'nın kardiyovasküler etkilerinde, AA'nın sempatoadrenerjik, vazopressinerjik ve renin anjiyotensin sistemlerini aktive etme üzerindeki merkezi ve periferik etkileri de yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Aydın ve Yalcin 2008, Yalcin, 2011). FLA2 aktivatörü melittinin i.c.v olarak uygulanması TXA, PGE<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub> ve PGF<sub>2</sub> dahil PG aktivasyonunu ve ortalama kan basıncını arttırdığı bildirilmiştir (Yalcin ve ark. 2006). AA'nın COX ürünlerinden biri olan TXA<sub>2</sub>'nin merkezi olarak enjekte edilmesi normatansif koşullarda ortalama kan basıncını arttırdığı ve hipotansif koşullarda hipotansiyonu tersine çevirdiği gösterilmiştir (Yalcin ve ark. 2005, 2006).

TXA<sub>2</sub>'ye verilen bu kardiyovasküler yanıtlara katekolaminerjik, vazopressinerjik ve renin-anjiyotensinerjik sistemlerin aktivasyonu da aracılık etmektedir (Yalcin ve Savci, 2004). Ayrıca i.c.v uygulanan FLA2 aktivatörü olan melittin'in normatansif ve hipotansif koşullarda FLA2 aktivasyonu yoluyla kardiyovasküler sistemi etkilediği ve ortalama kan basıncını arttırdığı gösterilmiştir (Yalcin ve ark. 2006, Altınbas ve ark. 2012).

Histamin, MSS'de nörotransmitter olarak önemli bir işlevlere sahiptir. Histaminerjik nöronlar, arka hipotalamusta TMN'de yer alırlar ve buradan beyin çoğu bölgesine

projeksiyonlar gönderirler. Merkezi histamin sistemi, hipofiz hormonu salgılanmasının kontrolü, termoregülasyon, sirkadiyen ritmin düzenlenmesi, besin ve su alımının kontrolü ve bilişsel işlevlerin baskılanması gibi birçok beyin işlevlerinin regülasyonunda yer alır. Nöronal histaminin etkilerine G-protein-bağlı H1-H4 reseptörleri aracılık eder. Beyindeki histaminerjik sistemin ayrıca, merkezi histaminerjik H1, H2 ve H3 reseptörü aktivasyonu ve merkezi COX-1 sinyal yolu yoluyla hipotalamik-hipofiz-adrenal eksenini uyardığı, ancak COX-2'yi uyarmadığı bilinmektedir (Van der Goot ve Timmerman, 2000, Bugajski ve ark. 2003). H1 reseptörleri, hipotalamusun birçok çekirdeği dahil olmak üzere limbik sistemde yüksek yoğunlukta bulunur. Histamin H1 reseptörüne benzer şekilde, H2 reseptörü beyinde yaygın olarak ifade edilir (Karlstedt ve ark. 2001).

Daha önce sıçanlarda merkezi olarak uygulanan histamin kaynaklı plazma katekolamin artışının, COX-1 inhibitörü ketorprofen ve TXA<sub>2</sub> inhibitörü furegrelate aracılığıyla zayıflatılmış olduğu raporlanmıştır. Bu çalışma adrenal medulladan hem noradrenalin hem de adrenalin salgılanmasına beyin COX-1 ve TXA<sub>2</sub> aracılı mekanizmaların etki ettiği göstermiştir (Shimizu ve ark. 2006). Ayrıca merkezi olarak uygulanan histaminin, plazma katekolaminlerinin artışına beyin fosfatidilinositol'e özgü PLC ve diasilgliserol lipaza bağlı mekanizmalar ile merkezi adrenomedüller çıkışı aktive ettiğini ve böylelikle sıçanlarda noradrenalin ve adrenalinin plazma seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir (Shimizu T. ve ark. 2007).

Histaminerjik H1 reseptör salınımı, inositol fosfatı serbest bırakarak FLA2'nin aktivasyonu ve cGMP oluşumu yoluyla AA oluşumunu destekleyebilir (Arrang, 1994). Ek olarak tavşan serebral arterlerinde histamin H1 reseptör aracılı dilatasyonun, kısmen PG'lerin salınmasıyla da oluştuğu bildirilmiştir (Ea Kim ve ark. 1988). Ayrıca FLA2 aktivatörü melittin aracılı presör yanıtta histamin H2 reseptörü aktivasyonunun tepkisini tamamen bloke ettiğini rapor edilmiştir (Altınbaş ve ark. 2012). Histamin H2 reseptörü, kardiyovasküler sistemin merkezi regülasyonunda histamine eşdeğer veya ondan biraz daha aktif olan tam bir agonist gibi davranır (Van der Goot ve Timmerman 2000). Altınbaş ve ark. tarafından yapılan çalışmada (2014) sıçanlarda merkezi olarak enjekte edilen AA'nın merkezi uygulaması normotansif sıçanlarda presör ve bradikardik tepkilere neden olduğu; AA'nın ayrıca, posterior hipotalamik hücre dışı histamin seviyesini

arttırdığı ve posterior hipotalamusunda güçlü bir COX-1 immünoreaksiyonuna neden olduğu bildirilmiştir. AA kaynaklı kardiyovasküler etkilerin ve COX-1 aktivasyonunun, histamin H2 reseptörü antagonisti ranitidin ile önemli ölçüde bloke edilmesi, histamin H1 reseptörü antagonisti klorfeniramin ve histamin H3-H4 reseptörü antagonisti tioperamid ile kısmen bloke edilmesi beyindeki AA kaskadı ve histaminerjik sistemler arasındaki etkileşimlerin varlığını göstermektedir. Bu çalışmalar, merkezi histaminerjik sistem ile merkezi COX ve/veya LOX yolları arasında bir etkileşim olduğunu açıkça göstermektedir. Sonuç olarak, mevcut veriler merkezi histaminerjik sistemin merkezi COX ve LOX yolları üzerinde potansiyel bir rolü olduğunu göstermektedir. Bu durum merkezi histaminerjik ve merkezi COX ve LOX yollarının birçok merkezi sinir sistemi fonksiyonunu düzenlemek için etkileşim içinde olduğu şeklinde yorumlanabilir. Bu sonuçlar merkezi prostaglandinerjik ve histaminerjik sistemler ile ilgili hastalıkların nörofizyopatolojisini ve bu durumların tedavisi için yeni yaklaşımların olabileceğini göstermektedir.

## KAYNAKLAR

- Akhlaq, A.F., Lloyd, A.H. (2004). Brain phospholipase A2: perspective on the history. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 71: 161-169.
- Alberts, B., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. (2002). *Molecular biology of the cell* (4th ed.), New York, Garland Science, 1616.
- Altinbas, B., Topuz, B.B., Yilmaz, M.S., et al. (2012). The mediation of the central histaminergic system in the pressor effect of intracerebroventricularly injected melittin, a phospholipase A2 activator, in normotensive rats. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 87:153-158.
- Altinbas, B., Topuz, B.B., Ilhan, T. et al. (2014). Activation of the central histaminergic system mediates arachidonic-acid-induced cardiovascular effects. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 92: 645-654.
- Altinbas, B., Guvenc, G., Erkan, L.G. et al. (2016). Histamine restores hemorrhage induced hypotension by activating cholinergic neurons in nucleus tractus solitarius. *Brain Research*, 1649: 132–140.
- Altinbas, B., Güvenç Bayram, G., Yalçın, M. (2021). Merkezi Yolla Enjekte Edilen Histamin ve Reseptör Antagonistlerinin, Sıçanların Yem, Su Alımı ve Vücut Ağırlıkları Üzerine Etkileri. *Türkiye Diyabet ve Obezite Dergisi* 5: 210-216.
- Amr, M.M., Nigal, R.W. (2008). Histamine and antihistamines. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 9:324-328.
- Ateufack, G., Domgnim-Mokam, E.C., Mbiantcha, M. et al. (2015). Gastroprotective and ulcer healing effects of piptadeniastrum Africanum on experimentally induced gastric ulcers in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15: 214.
- Attwell, D., Miller, B., Sarantis, M. (1993). Arachidonic acid as a messenger in the central nervous system. *Semin. Neurosci.*, 5:159–169.
- Arrang, J.M. (1994). Pharmacological properties of histamine receptor subtypes. *Cell Mol Biol*, 40:273–279.
- Aydin, C., Yalcin, M. (2008). Peripheral mechanisms involved in the pressor and bradycardic effects of centrally administered arachidonic acid. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 78:361-368.
- Bakker, R.A., Lozada, A.F., van Marle, A. et al. (2006). Discovery of Naturally Occurring Splice Variants of the Rat Histamine H3 Receptor That Act as Dominant-Negative Isoforms. *Molecular Pharmacology*, 69: 1194–1206.

- Banion, M.K.O., Olschowka, J.A. (1999). Localization and distribution of cyclooxygenase-2 in brain tissue by immunohistochemistry. *Methods Mol Biol*, 120: 55-66.
- Best, C.H., Dale, H.H., Dudley, H.W., Thorpe, W.V. (1927). The nature of the vasodilator constituents of certain tissue extracts. *J Physiol* 62(4):397–417.
- Bieganski, T., Kusche, J., Lorenz, W. et al. (1983). Distribution and properties of human intestinal diamine oxidase and its relevance for the histamine catabolism. *Biochimica et Biophysica Acta*, 756: 196-203.
- Bjorkman, D.J. (1998). The effect of aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs on prostaglandins, *The American Journal of Medicine*, 27;105(1B):8-12.
- Bosetti, F. (2007). Arachidonic acid metabolism in brain physiology and pathology: lessons from genetically altered mouse models. *J Neurochem*, 102:577-586.
- Brown, D.D., Tomchick, R., Axelrod, J. (1959). The distribution and properties of a histamine-methylating enzyme. *J Biol Chem*, 234:2948 –50.
- Brown, R.E., Sergeeva, O.A., Eriksson, K.S. et al. (2002). Convergent excitation of dorsal raphe serotonin neurons by multiple arousal systems (orexin/hypocretin, histamine and noradrenaline). *The Journal of Neuroscience*, 22: 8850-8859.
- Brown, R.E., Stevens, D.R., Haas, H.L. (2001). The physiology of brain histamine. *Progress in Neurobiology* 63: 637-672.
- Bugajski, J. Janusz, Z. (1983). Central histaminergic stimulation of pituitary-adrenocortical response in the rat. *Life Sci*, 33:1179–1189.
- Bugajski, J., Thor, P., Glod, R. et al. (2003). Influence of cyclooxygenase inhibitors on the central histaminergic stimulations of hypothalamic–pituitary–adrenal axis. *J Physiol Pharmacol*, 54:643–652.
- Chauhan, G., Roy, K., Kumar, G. et al. (2019). Distinct influence of COX-1 and COX-2 on neuroinflammatory response and associated cognitive deficits during high altitude hypoxia. *Neuropharmacology*, 146: 138-148.
- Church, M.K. (2004). Histamine receptors, inverse agonism, and allergy. *World Allergy Organization Journal* 16: 112-116.
- Church, M.K., Church, D.S. (2013). Pharmacology of antihistamines. *Indian journal of dermatology*, 58: 219–224.
- Claar, D., Hartert, T.V., Peebles, R.S.Jr. (2015). The role of prostaglandins in allergic lung inflammation and asthma. *Expert Review of Respiratory Medicine*, 9: 55-72.

- Clapham, J., Kilpatrick, G.J. (1993). Histamine H3 receptor-mediated modulation of water consumption in the rat. *Eur J Pharmacol*, 232:99-103.
- Connelly, W., Shenton, F., Lethbridge, N. et al. (2009). The histamine H4 receptor is functionally expressed on neurons in the mammalian CNS. *British Journal of Pharmacology*, 157: 55–63.
- Dale, H.H., Laidlaw, P.P., (1910). The physiological action of beta-iminazolyethylamine. *J Physiol*, 41(5):318–44.
- Deiteren, A., De Man, J.G., Pelckmans, P.A. et al. (2015). Histamine H4 receptors in the gastrointestinal tract. *British journal of pharmacology*, 172: 1165–1178.
- Dennis, E.A. (1994). Diversity of group types, regulation, and function of phospholipase A2. *The Journal of Biological Chemistry*, 269 (18): 13057–60.
- De Jonge, H.W., Dekkers, D.H., Lamers, J.M. (1996). Polyunsaturated fatty acids and signalling via phospholipase C-beta and A2 in myocardium. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 157: 199-210.
- Erkan, L.G., Altinbas, B., Guvenc, G. et al. (2015). Brain thromboxane A2 via arachidonic acid cascade induces the hypothalamic-pituitary-gonadal axis activation in rats. *Autonomic Neuroscience*, 189: 50-55.
- Erkan, L.G., Guvenc, G., Altinbas, B. et al. (2016). The effects of centrally injected arachidonic acid on respiratory system: Involvement of cyclooxygenase to thromboxane signaling pathway. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 225: 1- 7.
- Félétou, M., Vanhoutte, P.M., Verbeuren, T.J. (2010). The thromboxane/endoperoxide receptor (TP): the common villain. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 55(4):317-32.
- Fitzpatrick, F.A. And Soberman, R. (2001). Regulated formation of eicosanoids. *The Journal of Clinical Investigation*, 107: 1347–1351.
- Fogel, W.A., Stasiak, A., Lewinski, A., Maksymowicz, M., Jochem, J. (2008). Satiety signalling histaminergic system system and brain-gut peptides in regulation of food intake in rats with portocaval anastomosis. *J Physiol Pharmacol*, 59,135-44.
- Genovese, A., Spadaro, G. (1997). Highlights in cardiovascular effects of histamine and H1-receptor antagonists. *Allergy*, 52: 67–78.
- Green, M.D., Cox, B., Lomax, P. (1976). Sites and mechanisms of action of histamine in the central thermoregulatory pathways of the rat. *Neuropharmacology*, 15: 321–324.
- Greene, E.R., Huang, S., Serhan, N. et al. (2011). Regulation of inflammation in cancer by eicosanoids. *Prostaglandins Other Lipid Mediators*, 96: 27-36.

- Haas, H., Panula, P. (2003). The role of histamine and the tuberomamillary nucleus in the nervous system. *Nature reviews Neuroscience* 4:121–130.
- Haas, H.L., Sergeeva, O.A., Selbach, O. (2008). Histamine in the Nervous System. *Physiol Rev* 88:1183–241.
- Hao, C.M., Breyer, M.D. (2008). Physiological regulation of prostaglandins in the kidney. *Annual Review of Physiology*, 70: 357-377.
- Haq, A.U., Bundrant, H.M., Mercer, L.P. (1996). Food intake is inversely correlated with central nervous system histamine receptor (H1) concentrations in male Sprague-Dawley rats fed normal, low protein, low energy or poor quality protein diets. *J Nutr*, 126:3083-3089.
- Herschman, H.R. (1996). Prostaglandin synthase 2. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1299: 125–140.
- Hofstra, C.L., Desai, P.J., Thurmond, R.L. et al. (2003). Histamine H4 Receptor Mediates Chemotaxis and Calcium Mobilization of Mast Cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 305:1212–1221.
- Hough, L.B. (1988). Cellular localization and possible functions for brain histamine: recent progress. *Progress in neurobiology*, 30: 469–505.
- Huang, H., Li, Y., Liang, J. and Finkelman, F.D. (2018). Molecular Regulation of Histamine Synthesis. *Front. Immunol.* 9:1392.
- Jacobs, E.H., Yamatodani, A., Timmerman, H. (2000). Is histamine the final neurotransmitter in the entrainment of circadian rhythms in mammals? *Trends in Pharmacological Sciences*, 21: 293-298.
- Jochem, J. (2000). Cardiovascular effects of histamine administered intracerebroventricularly in critical haemorrhagic hypotension in rats. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 51: 229-239.
- Jochem, J. (2002a). Central histamine-induced reversal of critical haemorrhagic hypotension in rats-haemodynamic studies. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 53: 75-84.
- Jochem, J. (2002b). Central histamine-induced reversal of haemorrhagic shock versus volume resuscitation in rats. *Inflammation Research*, 51: 57-58.
- Jochem, J. (2002c). Endogenous central histamine-induced reversal of critical haemorrhagic hypotension in rats studies with histamine N-methyltransferase inhibitor SKF 91488. *Inflammation Research*, 51: 551-556.
- Jochem, J. (2003). Endogenous central histamine-induced reversal of critical hemorrhagic hypotension in rats: studies with L-histidine. *Shock*, 20:332–337.



- Jochem, J., Kasperska-Zajac, A. (2012). The role of the histaminergic system in the central cardiovascular regulation in haemorrhagic hypotension. *Folia Medica Cracoviensia*, 52: 31-41.
- Karlstedt, K., Senkas, A., Ahman, M. et al. (2001). Regional expression of the histamine H2 receptor in adult and developing rat brain. *Neuroscience*, 102:201–208.
- Katsuki, H., Okuda, S. (1995). Arachidonic acid as a neurotoxic and neurotrophic substance. *Prog Neurobiol* 46:607-636.
- Kayaalp, O. (2002). Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 10. Baskı, s: 41-42.
- Kayaalp, O. (2012). Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 3. Baskı, Ankara, s:1-2.
- Khan, U.W., Rai, U. (2007). Differential effects of histamine on Leydig cell and testicular macrophage activities in wall lizards: precise role of H1/H2 receptor subtypes. *J Endocrinol*, 194,441-8.
- Khan, M., Fraser, A. (2012). Cox-2 inhibitors and the risk of cardiovascular thrombotic events. *Irish Medical Journal*, 105: 119-121.
- Kim, L.E., Sercombe, R., Oudart, N. (1988). Relaxation of rabbit middle cerebral arteries in vitro by H1 histaminergic agonists is inhibited by indomethacin and tranlylcypromine. *Fundam Clin Pharmacol*, 2:463–475.
- Kjaer, A., Knigge, U., Bach, F.W. et al. (1992). Histamine- and stress-induced secretion of ACTH and beta-endorphin: involvement of corticotropin-releasing hormone and vasopressin. *Neuroendocrinology*, 56: 419–428.
- Kjaer, A., Larsen, P.J., Knigge, U. et al. (1994). Histaminergic activation of the hypothalamicpituitary-adrenal axis. *Endocrinology*, 135:1171-1177.
- Klein, M.C., Gertner, S.B. (1983). Studies on the mechanism of the cardiovascular action of central injections of histamine. *Neuropharmacology*, 22: 1109-1115.
- Knab, L.M., Grippo, P.J., and Bentrem, D.J., (2014) Involvement of eicosanoids in the pathogenesis of pancreatic cancer: the roles of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase. *World Journal of Gastroenterology*, 20(31): 10729-10739.
- Knigge, U., Warberg, J. (1991). Neuroendocrine functions of histamine. *Agents Actions Suppl*, 33,29-53.
- Kopp, B.T., Thompson, R., Kim, J. et al. (2019). Secondhand smoke alters arachidonic acid metabolism and inflammation in infants and children with cystic fibrosis. *Thorax*, 74: 237-246.

- Lecklin, A., Tuomisto, L., MacDonald, E. (1995). Metoprine, an inhibitor of histamine N- methyltransferase but not catechol-Omethyltransferase, suppresses feeding in sated and food deprived rats. *Methods Find Clin Exp Pharmacol*, 17:47- 52.
- Leibowitz, S.F. (1973). Histamine: A stimulatory effect on drinking behavior in the rat, *Brain Res*, 63:440-444.
- Li, Y., Maher, P., Schubert, D. (1998). Neurobiology Phosphatidylcholine-specific phospholipase C regulates glutamate-induced nerve cell death. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(13): 7748–7753.
- Lieberman, P. (2009). Histamine, antihistamines, and the central nervous system. *Allergy and Asthma Proceedings*, 30: 482-486.
- Lima, I.V., Bastos, L.F., Limborço-Filho, M. et al. (2012). Role of prostaglandins in neuroinflammatory and neurodegenerative diseases. *Mediators of Inflammation*, 2012: 946813.
- MacGlashan, D. (2003). Histamine: A mediator of inflammation. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 112:53-9.
- Maintz, L., Novak, N. (2007). Histamine and histamine intolerance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 85: 1185–1196.
- Malysz-Cymborska, I.C., Andronowska, A. (2015). Ovarian stimulation with human chorionic gonadotropin and equine chorionic gonadotropin affects prostacyclin and its receptor expression in the porcine oviduct. *Domestic Animal Endocrinology*, 53: 17-25.
- Martin, S. A., Brash, A. R. and Murphy, R. C. (2016). The discovery and early structural studies of arachidonic acid. *J. Lipid Res*, 57: 1126–1132.
- Martinez-Mir, M.I., Pollard, H., Moreau, J. et al. (1990). Three histamine receptors (H1, H2 and H3) visualized in the brain of human and non-human primates. *Brain Research*, 526: 322–327.
- Mercer, L.P., Kelley, D.S., Humphries, L.L., Dunn, J.D. (1994). Manipulation of central nervous system histamine or histaminergic receptors (H1) affects food intake in rats. *J Nutr*, 7:1029-1036.
- Miklos, I.H., Kovacs, K.J. (2003). Functional heterogeneity of the responses of histaminergic neuron subpopulations to various stress challenges. *European Journal of Neuroscience*, 18: 3069-3079.
- Mochizuki, N., Kwon, Y.G. (2008). 15-lipoxygenase-1 in the vasculature: expanding roles in angiogenesis. *Circulation Research*, 102: 143-145.
- Molloy, G.Y., Rattray, M., Williams, R.J. (1998). Genes encoding multiple forms of phospholipase A2 are expressed in rat brain, *Neuroscience Letters*, 258:139-142.

- Monnier, M., Fallert, M., Battacharya, IC. (1967). The waking action of histamine. *Experientia*, 23: 21–22.
- Nakagawa, S., Okaya, Y., Yatsunami, K. et al. (1997). Identification of multiple regulatory elements of human L-Histidine decarboxylase gene. *J Biochem* 121:935–940.
- Nasrallah, R. and Richard, L.H. (2005). Prostacyclin signaling in the kidney: implications for health and disease, *American Journal of Physiology - Renal Physiology Published* 289(2): 235-246.
- Nguyen, T., Shapiro, D.A., George, S.R., Setola, V., Lee, D.K., Cheng, R., O'Dowd, B.F. (2001). Discovery of a novel member of the histamine receptor family. *Mol. Pharmacol.* 59:427–433.
- Niaz, N., Guvenc, G., Altinbas, B., Toker, M.B., Aydin, B., UdumKucuksen, D., et al. (2018). Intracerebroventricular injection of histamine induces the hypothalamic-pituitary-gonadal axis activation in male rats. *Brain Res*, 1699,150-7.
- Niv, Y., Banic, M. (2014). Gastric barrier function and toxic damage. *Digestive Diseases* 32: 235-242.
- Panula, P., Nuutinen, S. (2013). The histaminergic network in the brain: basic organization and role in disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 14: 472–487.
- Paxinos, G., Watson, C. (2007). The rat brain in stereotaxic coordinates. 7 th Edition, Amsterdam, 126.
- Radmark, O., Werz, O., Steinhilber, D., & Samuelsson, B. (2014). 5-Lipoxygenase, a key enzyme for leukotriene biosynthesis in health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 9, 4C: 2, 3, 5
- Rahman, M.S., Syeda, P.K., Khan, F. et al. (2013). Cultured preadipocytes undergo stable transfection with cyclooxygenase- 1 in the antisense direction accelerate adipogenesis during the maturation phase of adipocytes. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 171: 128-144
- Rinaldo-Matthis, A., Haeggström, J.Z. (2010). Structures and mechanisms of enzymes in the leukotriene cascade. *Biochimie*, 92: 676-681.
- Rosen, A., Itenberg, S., Friedman, A. (2013). Histamine-Mediated Emergencies. *Buka's Emergencies in Dermatology*, 57-82.
- Schrör, K., Bretschneider, E., Fischer, K. et al. (2010). Thrombin receptors in vascular smooth muscle cells - function and regulation by vasodilatory prostaglandins. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 103: 884-890.
- Schrör, K., Rauch, B.H. (2015). Aspirin and lipid mediators in the cardiovascular system. *Prostaglandins Other Lipid Mediators*, 121:17-23.

- Schwartz, J.C., Arrang, J.M., Garbarg, M., et al. (1991)..Histaminergic transmission in the mammalian brain. *Physiol Rev.* 71:1–51.
- Schwartz, J.C. (2011). The histamine H3 receptor: from discovery to clinical trials with pitolisant. *British journal of pharmacology*, 163: 713–721.
- Schwelberger, H.G., Bodner, E. (1997). Purification and characterization of diamine oxidase from porcine kidney and intestine. *Biochim Biophys Acta*, 1340:152– 164.
- Schwelberger, H.G., Hittmair, A., Kohlwein, S.D. (1998). Analysis of tissue and subcellular localization of mammalian diamine oxidase by confocal laser scanning fluorescence microscopy. *Inflamm Res*, 47: S60 –61.
- Schwelberger, H.G. (2004a). Diamine oxidase (DAO) enzyme and gene. Histamine: biology and medical aspects. Hungary, Budapest, 43-52.
- Schwelberger, H.G. (2004b). Histamine N-methyltransferase (HNMT) enzyme and gene. Histamine: biology and medical aspects. Hungary, Budapest, 53-59.
- Shimizu, T., Okada, S., Yamaguchi, N., et al. (2006). Centrally administered histamine evokes the adrenal secretion of noradrenaline and adrenaline by brain cyclooxygenase-1- and thromboxane A2-mediated mechanisms in rats. *Eur J Pharmacol*, 541:152–157.
- Shimizu T., Yamaguchi, N., Okada, S., et al. (2007). Roles of brain phosphatidylinositol-specific phospholipase C and diacylglycerol lipase in centrally administered histamine-induced adrenomedullary outflow in rats. *Eur J Pharmacol*, 571:138-44.
- Simmons, D.L., Botting, R.M., Hla, T. (2004). Cyclooxygenase isozymes: The biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacological Reviews*, 56: 387-437.
- Singh, N.K., Rao, G.N. (2019). Emerging role of 12/15-Lipoxygenase (ALOX15) in human pathologies. *Progress in Lipid Research*, 73: 28-45.
- Siren, A.L. (1982a). Central cardiovascular and thermal effects of prostaglandin E2 in rats. *Acta Physiol Scand*, 116:229-234.
- Siren, A.L. (1982b). Central cardiovascular and thermal effects of prostaglandin D2 in rats. *Prostaglandins Leukot Med*, 8:349-359.
- Siren, A.L. (1982c). Differences in the central actions of arachidonic acid and prostaglandin F2 $\alpha$  between spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Life Sci*, 30:503-513.
- Stenson, W.F. (2014). The universe of arachidonic acid metabolites in inflammatory bowel disease: can we tell the good from the bad? *Current Opinion in Gastroenterology*, 30: 347-351.

Strakhova, M., Cuff, C., Manelli, A. et al. (2009). In vitro and in vivo characterization of A-940894: a potent histamine H4 receptor antagonist with anti-inflammatory properties. *British Journal of Pharmacology*, 157: 44–54.

Swan, C.E., Breyer, R.M. (2011). Prostaglandin E2 modulation of blood pressure homeostasis: studies in rodent models. *Prostaglandins Other Lipid Mediators*, 96: 10-13.

Takeuchi, K. (2014). Gastric cytoprotection by prostaglandin E<sub>2</sub> and prostacyclin: relationship to EP1 and IP receptors, *Journal of Physiology and Pharmacology*, 65, 3-14.  
Tassoni, D., Kaur, G., Weisinger, R.S. et al. 2008 The role of eicosanoids in the brain. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 1: 220-228.

Tolba, R.H., Fet, N., Yonezawa, K., Taura, K., Nakajima, K., Hata, K., et al. (2014). Role of Preferential Cyclooxygenase-2 Inhibition by Meloxicam in Ischemia/ Reperfusion Injury of the Rat Liver. *European Surgical Research*, 53:11–24.

Traiffort, E., Pollard, H., Moreau, J. et al. (1992). Pharmacological characterization and autoradiographic localization of histamine H2 receptors in human brain identified with [125I]iodoaminopotentidine. *Journal of neurochemistry*, 59: 290–299.

Tuncer, S., Banerjee, S. (2015). Eicosanoid pathway in colorectal cancer: *Recent updates*. *World Journal of Gastroenterology*, 21: 11748-11766.

Van der Goot, H., Timmerman, H. (2000). Selective ligands as tools to study histamine receptors. *Eur J Med Chem*, 35:5–20.

Vlieg-Boerstra, B.J., Van Der, H.S., Oude Elberink, J.N. et al. (2005). Mastocytosis and adverse reactions to biogenic amines and histamine-releasing foods: what is the evidence?. *Netherlands Journal of Medicine*, 63:244-9.

Yalcin, M., Savci, V. (2004). Restoration of blood pressure by centrally injected U-46619, a thromboxane A2 analog, in haemorrhaged hypotensive rats: investigation of different brain areas. *Pharmacology*, 70:177-187.

Yalcin, M., Cavun, S., Yilmaz, M.S., et al. (2005). Involvement of brain thromboxane A2 in hypotension induced by haemorrhage in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 32:960- 967.

Yalcin, M., Ak, F., Ertürk, M. (2006). The role of central thromboxane A2 in cardiovascular effects of a phospholipase A2 activator melittin administered intracerebroventricularly in normotensive conscious rats. *Neuropeptides*, 40: 207- 212.

Yalcin, M., Aydin, C. (2009). Cardiovascular effects of centrally administered arachidonic acid in haemorrhage-induced hypotensive rats: investigation of a peripheral mechanism. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 36:447-45.

Yalcin, M. (2011). Central mechanism underlying pressor and bradycardic effect of intracerebroventricularly injected arachidonic acid. *Can J Physiol Pharmacol*, 89:127-133.

Yamashita, M. et al. (1991). Expression cloning of a cDNA encoding the bovine histamine H1 receptor. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 88:11515–11519.

Yatsunami, K., Ohtsu, H., Tsuchikawa, M. et al. (1994). Structure of the L histidine decarboxylase gene. *J Biol Chem* 269:1554–1559

Yokotani, K., Wang, M., Murakami, Y., et al. (2000). Brain phospholipase A2-arachidonic acid cascade is involved in the activation of central sympatho-adrenomedullary outflow in rats. *Eur J Pharmacol*, 398:341-347.

Yuan, D., Zou, Q., Yu, Z., Song, C., Huang, S., Chen, S. et al. (2014). Ancestral genetic complexity of arachidonic acid metabolism in Metazoa. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1841: 1272–1284.

Watanabe T., Taguchi, Y., Shiosaka, S. et al. (1984). Distribution of the histaminergic neuron system in the central nervous system of rats; a fluorescent immunohistochemical analysis with histidine decarboxylase as a marker. *Brain Research*, 295: 13-25.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ayşenur HALKÇIL  
Doğum Yeri ve Tarihi : Bursa/ Osmangazi  
Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu  
Lise : Ali Karasu Lisesi  
Lisans : İstanbul Üniversitesi- Moleküler Biyoloji ve Genetik  
Yüksek Lisans : Bursa Uludağ Üniversitesi- Moleküler Biyoloji ve Genetik

Çalıştığı Kurum/Kurumlar : Özel Medicana Bursa Hastanesi- Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi

İletişim (e-posta) : aysenurbas16@gmail.com

Yayımları : Bas A., Guvenc Bayram G., Altınbas B., Özyurt E., Yalcin E., Erbaykent Tepedelen B., Ersoy F., Yalcin M., 2019, Effect of Long-Term Centrally Injected Histamine and Its Receptors Antagonist on The Hypothalamic Cyclooxygenase and Lipoxygenase Enzymes in Rats, J Res Vet Med. 2019: 38 (2) 10-16  
DOI:10.30782/jrv.m.606895