



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI



**NESFATİN-1'İN OLUŞTURDUĞU
KARDİYOVASKÜLER ETKİLERDE MERKEZİ
KOLİNERJİK SİSTEMİN ARACILIĞININ
İNCELENMESİ**

Begüm AYDIN

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

BURSA-2017



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI



**NESFATİN-1'İN OLUŞTURDUĞU
KARDİYOVASKÜLER ETKİLERDE MERKEZİ
KOLİNERJİK SİSTEMİN ARACILIĞININ
İNCELENMESİ**

Begüm AYDIN

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

DANIŞMAN:

Prof. Dr. Murat Yalçın

TÜBİTAK - 215S872

BURSA-2017

T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum
“Nesfatin-1'in oluşturduğu kardiyovasküler etkilerde merkezi kolinerjik
sistemin aracılığının araştırılması” adlı çalışmanın, proje safhasından
sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir
şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde
gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Adı ve Soyadı

Tarih/İmza

Begüm AYDIN

13.09.2017

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Veteriner Fizyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans öğrencisi Begüm AYDIN tarafından hazırlanan Nesfatin-1'in oluşturduğu kardiyovasküler etkilerde merkezi kollinerjik sistemin aracılığının araştırılması konulu Yüksek Lisans tezi 13/ 09/ 2017 günü, 09:00 - 10:00 saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

	<u>Adı-Soyadı</u>
Tez Danışmanı	Prof. Dr. Murat YALÇIN
Üye	Prof. Dr. Erdal MATUR
Üye	Yrd. Doç. Dr. Füsun AK SONAT

İmza




Bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun
tarih ve sayılı toplantısında alınan
numaralı karar ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Gülşah ÇEÇENER

Enstitü Müdürü

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

13.09.2017

Adı Soyadı: Begüm AYDIN

Anabilim Dalı: Veteriner-Fizyoloji

Tez Konusu: Nesfatin-1'in oluşturduğu kardiyovasküler etkilerde merkezi kolinerjik sistemin aracılığının araştırılması

<u>ÖZELLİKLER</u>	<u>UYGUNDUR</u>	<u>UYGUN DEĞİLDİR</u>	<u>ACIKLAMA</u>
Tezin Boyutları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

DANIŞMAN ONAYI

Unvanı Adı Soyadı: Prof. Dr. Murat YALÇIN

İmza:

İÇİNDEKİLER

Dış Kapak	
İç Kapak	
ETİK BEYANI.....	II
KABUL ONAY	III
TEZ KONTROL BEYAN FORMU	IV
İÇİNDEKİLER	V
TÜRKÇE ÖZET	VII
İNGİLİZCE ÖZET	VIII
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. Nesfatin-1'in Genel Özellikleri	3
2.1.1. Nesfatin-1'in Yapısı.....	3
2.1.2. Nesfatin-1'in Sentezi ve Salınımı	4
2.2. Nesfatin-1'in Fizyolojik Etkileri	6
2.2.1. Nesfatin-1 ve Gıda Alımı	6
2.2.2. Nesfatin-1 ve Obezite İlişkisi	7
2.2.3. Nesfatin-1 ve Gastrik İşlemleri	8
2.2.4. Nesfatin-1'in Stres, Kaygı ve Korku Yanıtları	9
2.2.5. Nesfatin-1 ve Uyku	10
2.2.6. Nesfatin-1 ve Üreme Fonksiyonu	10
2.2.7. Nesfatin-1'in Endotel Dokular Üzerindeki Etkileri	10
2.2.8. Nesfatin-1'in Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkileri	11
2.2.8.1 Nesfatin-1'in Kalp Dokusu Üzerindeki Etkileri	11
2.2.8.2 Nesfatin-1'in Merkezi Sinir Sistemindeki Kardiyovasküler Etkileri	13
2.3. Kolinerjik Sistem	16
2.3.1 Kolinerjik Reseptörler	18
2.3.1.1 Muskarinik Reseptörler	18
2.3.1.2 Nikotinik Reseptörler	19
2.3.2. Kolinerjik Sistemin Kardiyovasküler Etkileri.....	20
2.4. Posterior Hipotalamusun Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkilerinde Kolinerjik Sistemin Aracılığı	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Hayvanlar	23

3.2. Cerrahi İşlemler.....	23
3.3. Kan Basıncı ve Kalp Atım Sayısının Kaydedilmesi	24
3.4. Mikrodiyaliz Çalışması	24
3.5. İlaçların S.Y.V. Yol ile Enjeksiyonu	26
3.6. Deneysel Protokol	26
3.7. Asetilkolin ve Kolin Analizi	27
3.8. İlaçlar.....	28
3.9. İstatistiksel Değerlendirme	28
4. BULGULAR.....	29
4.1 Merkezi Olarak Uygulanan Nesfatin-1'in Kardiyovasküler Etkileri	29
4.2. Merkezi Olarak Uygulanan Nesfatin-1'in Kardiyovasküler Etkileri	30
4.3. Kolinerjik Muskarinik ve Nikotinik Reseptör Antagonisti Ön Tedavisinin Nesfatin-1'in Oluşturmuş Olduğu Kardiyovasküler Etkilerdeki Aracılığı	32
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	35
6. KAYNAKLAR	40
7. SİMGELER VE KISALTMALAR	49
8. TEŞEKKÜR	50
9. ÖZGEÇMİŞ	51

TÜRKÇE ÖZET

Bu çalışmada, merkezi yolla enjekte edilen nesfatin-1'in normotansif sıçanlarda kardiyovasküler etkilerini belirlemek ve nesfatin-1'in kardiyovasküler etkilerinde merkezi kolinerjik sistemin aracılığını göstermek amaçlandı. Çalışmada, 70 adet erkek Sprague Dawley ırkı, normal kan basıncına sahip sıçanlar kullanıldı. Sevoflurane (% 2-4 / % 100 O₂) anestezisi altında, kardiyovasküler parametreleri kayıt altına alabilmek için sıçanların sol femoral arterlerine heparinli % 0,9 tuzlu su (100 Ü/ml) ile doldurulmuş katater, merkezi yolla ilaç enjeksiyonlarını gerçekleştirebilmek için ise sıçanların serebral yan ventriküllerine (s.y.v.) 22 G paslanmaz çelik iğneden elde hazırlanmış olan kılavuz kanül yerleştirildi. Mikrodiyaliz çalışması için sıçanların posterior hipotalamusuna (PH), 18 kDa molekül ağırlığına kadar moleküllerin geçişine izin veren zar ve 2 mm diyaliz yüzeyine sahip olan mikrodiyaliz problemleri yerleştirildi. Çalışmanın ilk aşamasında merkezi olarak uygulanan nesfatin-1'in kardiyovasküler etkileri araştırıldı. Nesfatin-1 (200 pmol; s.y.v.) kısa süreli olarak normotansif hayvanlarda pressör ve bradikardik/taşikardik fazlar içeren bir yanıt oluşturdu. Nesfatin-1'in kardiyovasküler etkilerinde merkezi kolinerjik sistemin aracılığını göstermek için merkezi kolinerjik nikotinik ve muskarinik reseptörlerin etkide aracılıkları ve nesfatin-1'in PH'den asetilkolin (ACh) ve kolin (Ch) salınımına etkisi araştırıldı. Muskarinik reseptör antagonisti atropin (10 µg; s.y.v.) ve nikotinik reseptör antagonisti mekamilamin (50 µg; s.y.v.) nesfatin-1 tarafından uyarılan kardiyovasküler etkileri bloke etti. Yine PH'den yapılan mikrodiyaliz çalışmasına göre, nesfatin-1 posterior hipotalamik ekstraselüler ACh ve Ch seviyesini arttırdı.

Sonuç olarak, bulgular merkezi olarak uygulanan nesfatin-1'in normotansif sıçanlarda pressör ve bradikardik/taşikardik fazlar içeren bir yanıt oluşturduğunu göstermektedir. Nesfatin-1'in oluşturduğu kardiyovasküler etkilere PH'den salınan ACh ve Ch, merkezi kolinerjik muskarinik ve nikotinik reseptörler üzerinden aracılık etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Nesfatin-1, Kan Basıncı, Kalp Atım Sayısı, Kolin/Asetilkolin, Mikrodiyaliz

İNGİLİZCE ÖZET

The investigation of the mediation of central cholinergic system in nesfatin-1 evoked cardiovascular effects.

In the current study, it was aimed to determine the cardiovascular effect of centrally administrated nesfatin-1 and to demonstrate an involvement of the central cholinergic system in nesfatin-1-induced cardiovascular effect in normotensive rats. In the present study normotensive 70 male Sprague Dawley rats were used. Under sevoflurane (2–4% / 100% O₂) anesthesia, the left femoral artery of rats was cannulated with PE 50 tubing filled with heparinized saline (100 U/mL) to record cardiovascular parameters. For central treatment, A 22-gauge stainless steel cannula was palced to the lateral ventricle of rats. Handmade microdialysis probes with 18 kDa molecular weight cut-off dialysis membrane having 2 mm long dialysis area were placed to posterior hypothalamus of rats which used for microdialysis study. In the present study, at the first place, the effects of centrally injected nesfatin-1 on cardiovascular parameters were investigated. Nesfatin-1 (200 pmol; i.c.v.) caused to short-lasting increases in mean arterial pressure and to heart rate responses including bradycardic/tachycardic phases in normotensive animals. In order to show mediation of the central cholinergic system in nesfatin-1-induced cardiovascular effects, the mediation of central cholinergic nicotinic and muscarinic receptors on nesfatin-1 evoked cardiovascular response and the effect of nesfatin-1 on posterior hypothalamic extracelular acetylcholine and choline releases were determined. Muscarinic receptor antagonist atropine (10 µg; i.c.v.) and nicotinic receptor antagonist mecamylamine (50 µg; i.c.v.) blocked nesfatin-1 induced cardiovascular effects. Also centrally injected nesfatin-1 increased the acetylcholine and choline level in posterior hypothalamus, as shown in microdialysis studies.

In conclusion, results show that centrally administered nesfatin-1 produce pressor effect on blood pressure and to heart rate responses including bradycardic/tachycardic phases in normotensive rats. Moreover, according to our findings, there is an involvement of the central cholinergic system in nesfatin-1-induced cardiovascular effects.

Key words: Nesfatin-1, Blood Pressure, Heart Rate, Choline/Acetylcholine, Microdialysis

1.GİRİŞ

Nesfatin-1, Oh-I ve arkadaşları tarafından 2006 yılında keşfedilmiş, yaklaşık 9,8 kDa molekül ağırlığında ve yarılanma ömrü 23,5 dakika olan, prekürsör proteini nükleobindin 2'den (NUCB2) türeyen, 82 amino asite sahip, beslenmenin kontrolünde rol oynayan anoreksijenik bir peptittir (Aydın, 2013; Oh-I ve ark., 2006). Nesfatin-1, merkezi sinir sistemi içerisinde gıda alımının düzenlenmesi, nöroendokrin ve kardiyovasküler fonksiyonların düzenlenmesinden sorumlu otonomik merkezlerden, hipotalamusta, arkuat nükleus, supraoptik nükleus, paraventriküler nükleus (Maejima ve ark., 2009) ve lateral hipotalamik bölgede (Foo ve ark., 2008; Oh-I ve ark., 2006) ayrıca hipotalamus dışında beyinin birçok bölgesinde ve yine kardiyovasküler kontrol açısından önemli beyin kökü bölgelerinde ve özellikle de nükleus traktus solitaryusta (NTS) (Foo ve ark., 2008; Goebel ve ark., 2009; Goebel-Stengel ve ark., 2011; Goebel-Stengel ve Wang, 2013; Kuksis ve Ferguson, 2014; Moreau ve Ciriello, 2013) ve spinal kordda ise özellikle preganglionik sempatik ve parasempatik hücre gruplarında (Goebel ve ark., 2009) yer aldığı immunreaktif ve moleküler düzeyde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Merkezi sinir sistemi içerisinde geniş bir dağılım gösteren ve nörotransmitter/nöromodülatör etkilere sahip olduğu belirtilen nesfatin-1'in merkezi ve periferik olarak kardiyovasküler sistem üzerinde de düzenleyici bir etkiye sahip olduğu birçok çalışmada belirtilmektedir. Merkezi olarak enjekte edilen nesfatin-1'in hipotalamusta oksitosinerjik sistemi aktive ettiği, buna bağlı olarak NTS'de pro-opiomelanokotinin uyarıldığı ve sonrasında bu yolak üzerinden hipotalamusta melanokortin $\frac{3}{4}$ reseptörlerinin (MCR $\frac{3}{4}$) uyarılması sonucu sempatik sinir aktivitesinin ve kan basıncının arttığı gösterilmiştir (Yosten ve Samson, 2009; 2010). Yine yakın zamanda sıçanlarda nesfatin-1'in merkezi enjeksiyonlarının, hem normotansif hem de hipotansif koşullarda kan basıncında pressör yanıtlar oluşturduğunu ve oluşan bu pressör yanıtların, kalp atımı üzerinde normotansif sıçanlarda bradikardik, hipotansif sıçanlarda ise taşikardik yanıtlara neden olduğunu rapor ettik (Yılmaz ve ark., 2015). Yine aynı çalışmada, merkezi nesfatin-1

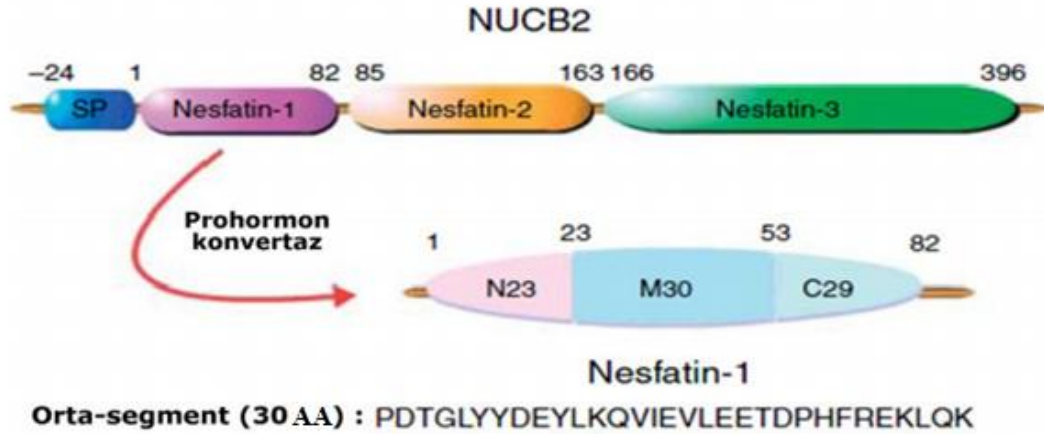
enjeksiyonu sonrası, plazma katekolamin ve vazopressin miktarlarında ve renin aktivitesinde artışların olduğunu da gösterdik (Yılmaz ve ark., 2015). Deneysel çalışmalar, nesfatin-1'in kardiyovasküler sistem üzerindeki merkezi kontrollerinde, hipotalamus içerisinde yer alan oksitosin ve MCR^{3/4} reseptörleri ile NTS'de yer alan pro-opiomelanokortin reseptörlerinin aracılık ettiği gösterilmiştir (Yosten ve Samson, 2009; 2010). Bu bahsedilen reseptörler dışında, nesfatin-1'in kan basıncı üzerindeki pressör etkilerine aracılık eden herhangi bir merkezi mekanizmadan söz edilmemektedir. Yapılan diğer bir çalışmada gastrik distansiyon oluşturulmuş sıçanların mideye projeksiyon gönderen kolinerjik sinirler olan vagusun dorsal motor nöronlarında NUCB2/nesfatin-1 ekspresyonlarının arttığının gösterilmesi (Bonnet ve ark., 2013) nesfatin-1'in etkilerinde kolinerjik sistemin aracılığının olabileceğini düşündürmekle birlikte merkezi nesfatin-1'in kardiyovasküler etkilerinde merkezi kolinerjik sistemin aracılığını gösteren bir delil bulunmamaktadır. Ayrıca, nesfatin-1'in kardiyovasküler sistem üzerinde pressör etkileri olduğu bilinen histamin ile merkezi sinir sistemi içerisinde kolokalize olması (Gotoh ve ark., 2013) ve özellikle bir Ch donörü olan CDP-kolin ile oluşturulan kardiyovasküler etkilerde histaminerjik reseptörlerin aracılığını ortaya koymuş olmamız da (Jochem ve ark., 2010) nesfatin-1'in kan basıncı üzerindeki oluşturduğu merkezi etkilerinde kolinerjik sistemin etkin bir rol alabileceğini düşündürmektedir. Yine hem kolinerjik sistemin hem de nesfatin-1'in oluşturduğu kardiyovasküler etkilere, normal ve hipotansif koşullarda periferik katekolamin, vazopressin ve renin anjiotensin sisteminin aracılık etmesi bu iki nöromodülatör veya nörotransmitter sistemin etki profili bazında benzerliklerini göstermektedir. Bu deliller en azından kardiyovasküler sistemin kontrolü açısından merkezi kolinerjik sistem ve nesfatin-1 arasında bir etkileşim olabileceğini düşündürmekle birlikte bu etkileşimi şimdiye kadar açıklayan bir rapora rastlanmamaktadır. Bu bilgiler ışığında sunulan çalışmada merkezi olarak uygulanan nesfatin-1'in kardiyovasküler etkilerinde merkezi kolinerjik sistemin aracılığının hemodinamik ve mikrodializ çalışmaları kullanılarak gösterilmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Nesfatin-1'in Genel Özellikleri

2.1.1 Nesfatin-1'in Yapısı

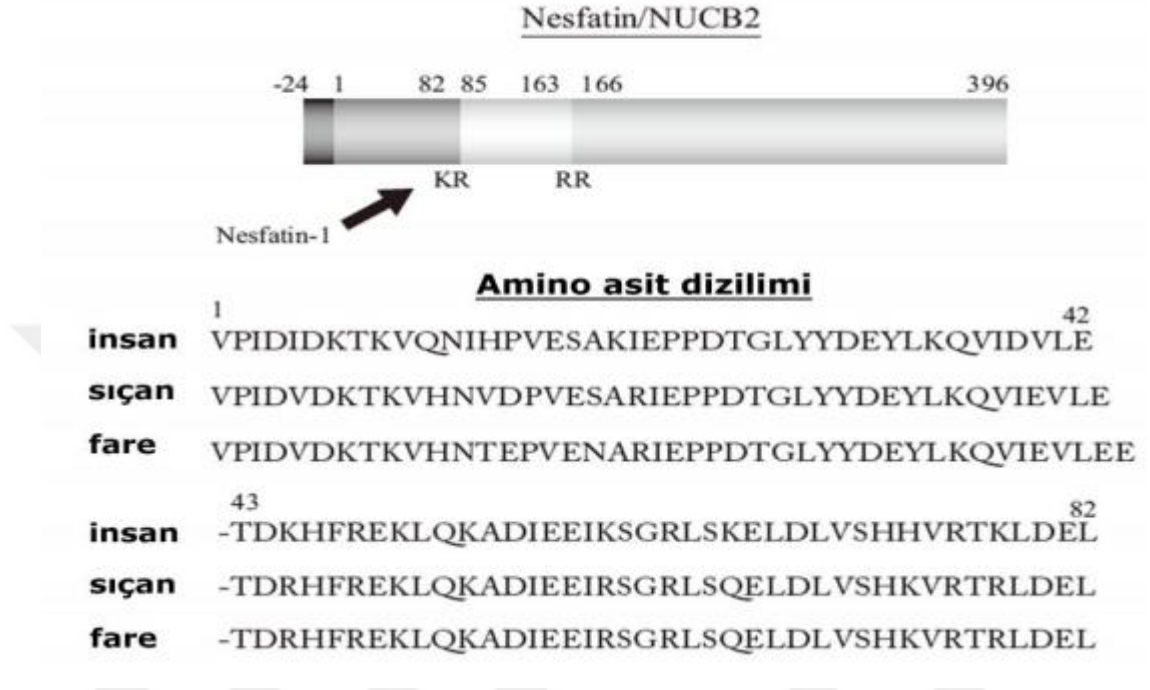
Nesfatin-1, ilk kez 2006 yılında Oh-I ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Yeni keşfedilmiş bu molekül, yarılanma ömrü 23,5 dakika olan, kalsiyum ve DNA bağlama proteini olan NUCB2 öncül proteininden türemiş, yaklaşık 9,8 kDa molekül ağırlığına sahip 82 amino asit (AA) uzunluğunda bir polipeptittir (Aydın, 2013; Stengel ve Tache, 2011).



Şekil 1. NUCB2 proteininin yapısı ve Nesfatin-1'in oluşumu (Garcia Galiano, 2010A)

NUCB2, posttranslasyonel değişiklikler için birçok parçaya sahiptir. PC3 / 1 ve PC2 gibi özel prohormon dönüştürücü enzimler NUCB2'yi nesfatin-1, nesfatin-2 ve nesfatin-3 oluşturmak üzere dönüştürürler; N-terminal parçası, nesfatin-1'i (AA. 1-82) oluştururken, C-terminal parçası ise nesfatin-2 (AA. 85-163) ve nesfatin-3'e (AA. 166-396) öncüllük eder (Oh-I ve ark., 2006) (Şekil 1). Ancak şimdiye kadar yapılan çalışmalarda sadece nesfatin-1 molekülünün fizyolojik etkileri ortaya konabilmiştir (Aydın, 2013). Nesfatin-2 ve nesfatin-3'ün biyolojik aktiviteleri hakkında herhangi bir bilgi bulunmamaktadır.

NUCB2, plazma zarında ve nevroplazmada bulunur. İnsanlar ve diğer memeli türleri arasında % 85'den fazla bir benzerlik taşır ve hatta alt organizmalarla da benzerlik sergiler (Gonzalez ve ark., 2009), (Şekil-2).



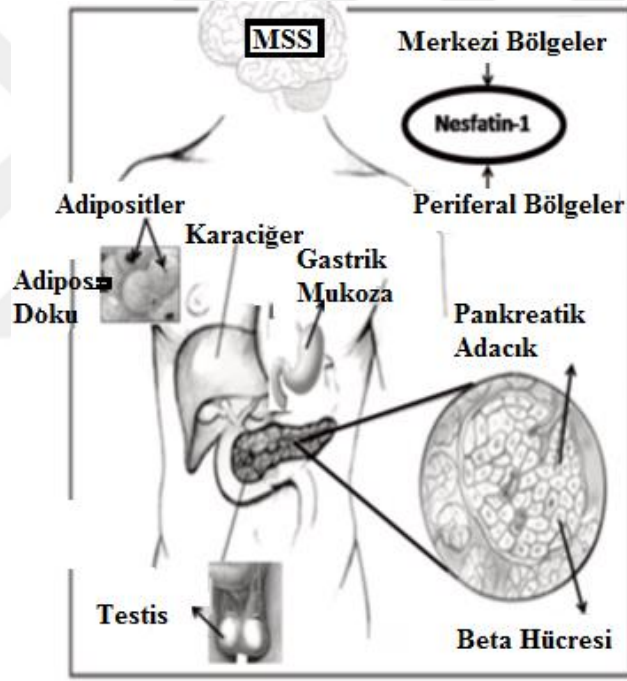
Şekil 2. İnsan, siçan ve farelerde nesfatin-1 aminoasit dizilimlerinin karşılaştırılması (Oh-I ve ark., 2006).

2.1.2 Nesfatin-1'in Sentezi ve Salınımı

Siçanlar ve fareler üzerinde yapılan RNA ve protein düzeyindeki çeşitli çalışmalarla nesfatin-1'in beyindeki dağılımı belirlenerek, bunun leptinden-bağımsız mekanizmalar aracılığıyla (melanokortin-bağımlı) çalışan yeni bir tokluk molekülü olduğu vurgulanmıştır (Oh ve ark., 2006), ancak yapılan son çalışmalarda paraventriküler nükleusta yer alan nesfatin-1'in leptin tarafından direkt olarak uyarıldığı ve leptinin nesfatin-1'in anoreksijenik etkilerine aracılık ettiği de rapor edilmektedir (Darambazar ve ark., 2015).

Nesfatin-1, merkezi sinir sistemi içinde geniş bir dağılım göstermektedir. İştahın kontrolü, nöroendokrin ve kardiyovasküler fonksiyonların düzenlenmesinden sorumlu otonomik merkezlerden hipotalamusta, arkuat nükleus, paraventriküler nükleus, supraoptik nükleus (Maejima ve ark., 2009) ve lateral hipotalamik bölgede (Foo ve ark., 2008; Oh-I ve ark., 2006), ayrıca hipotalamus dışında subfornikal organda (Moreau ve Ciriello, 2013), piriform ve insular kortekste, endopiriform

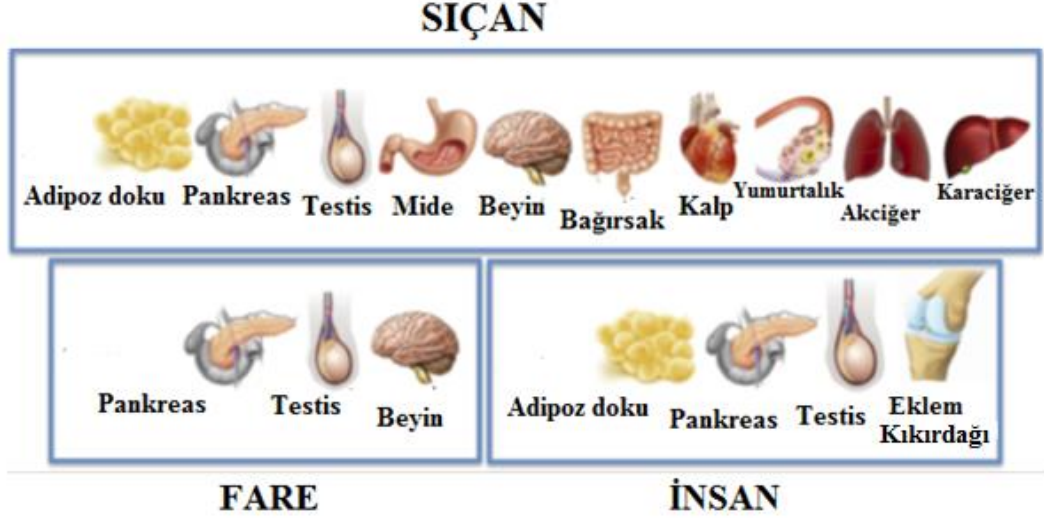
nükleusta, nükleus akkumbenste, lateral septumda, stria terminalisin bed nüklusunda, sentral amigdaloid nükleusta, medial preoptik bölgede, dorsal raphe nükleusta, nükleus ambiguusta, ventrolateral medulla ile gigantosellular retiküler nükleusta, bunun yanısıra serebellumda purkinje hücrelerinde (Goebel ve ark., 2009; Kuksis ve Ferguson, 2014), talamik parafasiküler nükleusta, Edinger-Westphal nükleusta, dorsal vagal komplekste, lokus seruleusta, ventral raphede, NTS'de, periventriküler nükleusta, dorsamedial hipotalamusta (Foo ve ark., 2008; Goebel-Stengel ve ark., 2011; Goebel-Stengel ve Wang, 2013), spinal kordda ise preganglionik sempatik ve parasempatik hücre gruplarında (Goebel ve ark., 2009) yer aldığı yapılan immunreaktif ve PCR çalışmalarıyla gösterilmiştir.



Şekil 3. Nesfatin-1'in organizmada dağılımı.

Merkezi sinir sistemi haricinde nesfatin-1'in vücut sıvılarında da varlığı gösterilmiştir. İnsanlarda, sıçanlarda ve farelerde yapılan çalışmalarda, nesfatin-1'in merkezi sinir sisteminin dışında, mide ve bağırsak mukozasında (Chung ve ark., 2013; Zhang ve ark., 2010; Stengel ve ark., 2009), kalpte, böbrekte, karaciğer ve dalakta, timusta, üreme organlarında (Chung ve ark., 2013; Kim ve ark., 2014), adipoz dokularda (Ramanjaneya ve ark., 2010), testis (Garcia-Galiano ve ark., 2012)

ve pankreas β hücrelerinde (Zhang ve ark., 2010; Stengel ve ark., 2009; Nakata ve ark., 2011) de bulunduğu rapor edilmiştir. (Şekil-3), (Şekil-4).



Şekil 4. Sıçan, fare ve insan periferik dokuları tarafından Nesfatin-1 üretimi.

2.2 Nesfatin-1'in Fizyolojik Etkileri

2.2.1 Nesfatin-1 ve Gıda Alımı

396 aminoasitten oluşan NUCB2 proteini 24 aminoasitlik bir sinyal peptidini oluşturur ve iştahın kontrolünde görev alır (Oh-I ve ark., 2006). Sıçan beyin-omurlik sıvısı NUCB2'den türeyen nesfatin-1'i içermekte ve bunun miktarı açlık koşulları altında hipotalamik çekirdekte azalmaktadır. NUCB2'nin nesfatin-1'e dönüşümü yiyecek alınımının baskılanmasında gereklidir (Oh-I ve ark., 2006). Bu molekülün C terminal fragmenti besin düzenlenmesinde rol oynamamaktadır. Buna karşılık N terminali ise besin alınımında önemli rol oynamaktadır ve nesfatin-1'de NUCB2'nin N terminal bölgesinden kaynaklanan bir fragmenttir (Maejima ve ark., 2009). Nesfatin 1; N23 (1-23), M30 (24-53), C29 (54-82) olmak üzere 3 alt segment içermektedir. Bu 3 alt segmentten M30; nesfatin-1'in besin alınımı üzerinde etkili olan kısmıdır. İmmun boyama çalışmalarında; sıçanların NUCB2/nesfatin-1 içeren proteinlerinin, iştah ve metabolizmanın düzenlenmesinde önemli rol oynayan hipotalamusun paraventriküler, arkuat, supraoptik ve trakt solitaryus çekirdeklerinde, lateral hipotalamik alanda, dorsomediyal hipotalamik çekirdekte, zona insertada, spinal kordun hücre gövdelerinde (akson terminalinde bulunmamaktadır), vagusun

dorsal çekirdeğinde ve hipofiz bezinde bulunduğu gösterilmiştir (Darambazar ve ark., 2015; Foo ve ark., 2008; Maejima ve ark., 2009; Oh-I ve ark., 2006). Nesfatin-1'in biyolojik aktivitesi ilk olarak sıçanlarda belirlenmiş, gıda alımını azaltarak kilo kaybını sağladığı saptanmıştır (Stengel ve Tache, 2010; 2011).

Farelerde nesfatin-1'in anoreksijenik etkisini; beyin ventrikül enjeksiyonunun ilk 4 saatinde yeme miktarını azaltarak doymayı kolaylaştırma yoluyla ve yeme aralıklarını arttırıp yeme sıklığını azaltarak gerçekleştirdiği; uzun süre nesfatin-1'in uygulanmasının da kilo kaybına sebep olduğu belirlenmiştir (Aydın, 2013; Stengel ve ark., 2009).

Ayrıca nesfatin-1 enjeksiyonunun sıçanlarda daha az su tüketimine neden olduğu da saptanmıştır, bu da nesfatin-1'in sıvı ve elektrolit dengesinde rol oynayabileceği düşüncesine yol açmıştır (Yosten ve ark., 2012).

Bunun dışında, nesfatin-1'in, gıda alımıyla ilgili beyinde yer alan çoğu peptit gibi, gastrointestinal motor fonksiyonlar üzerine de etkin olduğu belirlenmiştir (Stengel ve ark., 2009). Ratlarda gastrik boşalmayı geciktirdiği, farelerde ise gastroduodenal hareketi baskıladığı belirlenmiştir, bunun da doyunluk hissinin sağlanmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Stengel ve ark., 2009). Böylece, gecikmiş mide boşalmasına neden olan mekanizmaların, merkezi nesfatin-1 tarafından uyarıldığına odaklanılmıştır (Stengel, 2010).

2.2.2 Nesfatin-1 ve Obezite İlişkisi

Obezite; besinlerle alınan enerjinin (kalori) harcanan enerjiden fazla olması ve fazla enerjinin vücutta yağ olarak depolanması (% 20 veya daha fazla) sonucu ortaya çıkan, yaşam kalitesini ve süresini olumsuz yönde etkileyen bir hastalık olarak kabul edilmektedir (Billington ve ark., 2000). Obezite; tüm toplum sağlığını etkileyen, tedavisi zorunlu bir endokrin- metabolizma bozukluğudur (Visscher ve ark., 2001). Obezite gelişiminde rolü olan tüm faktörler enerji dengesinin alım yönüne kaymasına neden olur (Swinburn, 2004). Obezite de enerji alımı ve tüketimi arasındaki denge ile ilgili yapılan tüm çalışmalardan elde edilen sonuçlara rağmen besin-enerji dengesi hala açıklanamamıştır. Yeni keşfedilmiş, enerji metabolizması ile yakından ilişkili olduğu gösterilen, hipotalamustaki nöronlarda iştah sinyali ile

ilgili olduğu tanımlanmış olan nesfatin-1'in enerji dengesinde aktif olabileceği düşünülmektedir (Stengel ve Tache, 2010).

Sıçanlara merkezi olarak uygulanan nesfatin-1 enjeksiyonu iştahı önemli oranda baskımlarken, nesfatin-2 ve nesfatin-3'ün yerini tutan fragmentlerin ise iştahı etkilemediği belirtilmiştir (Oh-I ve ark., 2006). Nesfatin-1 merkezi olarak verildikten sonra besin alımı azaltıcı etkinin 6 saat boyunca devam ettiği gösterilmiştir (Oh-I ve ark., 2006; Shimizu ve ark., 2009a). Yapılan başka bir çalışmada ise nesfatin-1'in osmotik pompa ile serebral ventriküllere düzenli olarak infüzyonu besin alınımında, vücut ağırlığında, mezenterik, subkutan ve epididimal yağ kitlesinde önemli oranlarda azalmaya neden olurken iskelet kaslarında herhangi bir değişikliğe neden olmadığı gösterilmiştir (Oh-I ve ark., 2006; Colmers, 2007).

Tok durumdaki farelere intraperitoneal nesfatin-1 enjeksiyonunun (doza bağımlı) 3 saat boyunca yemek alınımını baskıladığı belirtilmekle birlikte subkutan verilmesinin besin alınımını 14 saat boyunca durdurduğu gözlenmiştir. Böylece nesfatin-1'in subkutan enjeksiyonunun; intraperitoneal ve merkezi enjeksiyonlarına göre daha uzun süre etkili olduğu gösterilmiştir (Oh-I ve ark., 2006; Shimizu ve ark., 2009a). Bunun yanında, Wistar ırkı sıçanlarda yapılan nesfatin-1'in nazal uygulanmasının da 6 saat boyunca gıda alınımını baskıladığı gösterilmiştir (Oh-I ve ark., 2006; Shimizu ve ark., 2009b).

Ayrıca nesfatin-1'in yağ dokusu tarafından eksprese edilip salındığı da bilindiği için yağ dokusu birikimi ile kardiyovasküler risk arasındaki ilişki göz önüne alındığında, vücut yağ kütlesi değişiklikleri nedeniyle nesfatin-1 düzeylerindeki değişikliklerin kardiyovasküler fonksiyon için büyük önemi olabileceği düşünülmektedir (Bastien ve ark., 2013).

2.2.3 Nesfatin-1 ve Gastrik İşlemleri

Nesfatin- 1'in midede yüksek ekspresyonu olduğu gösterilmiştir. Merkezi yolla enjekte edildiğinde vagus siniri vasıtasıyla gastrik asit salgısını inhibe etmekte; stres ve indometazin kaynaklı zarardan gastrik mukozayı korumaktadır (Stengel ve ark., 2009). Nesfatin-1'in arkuat nükleusa merkezi enjeksiyonu, greline duyarlı ve mideyi genişleten eksitator nöronları inhibe ederken aynı zamanda greline duyarlı ve mideyi genişleten inhibitör nöronları stimüle eder. Yapılan bu çalışmalarla nesfatin-

1'in gastrik hareketliliğin azaltılmasından sorumlu olduğu da gösterilmiştir (Kolgazi ve ark., 2015; Stengel ve ark., 2009).

2.2.4 Nesfatin-1'in Stres, Kaygı ve Korku Yanıtları

Ana gıda alım düzenleyici peptidlerin çoğu, enerji homeostazının ve çevreye adaptasyon için gerekli stres tepkisinin düzenlenmesinde hipotalamik seviyede yer alır. Nesfatin-1, ön beyin, arka beyin ve omurilik boyunca bulunan otonomik düzenleyici çekirdekler tarafından salgılanır (Foo ve ark., 2008; Goebel-Stengel ve ark., 2011; Goebel-Stengel ve Wang, 2013). Sınırlama stresine maruz kalındığında nesfatin-1 üreten nöronlar aktifleşir. Böylece nesfatin-1, otonomik çıkışın merkezi modülasyonu ile bağırsak hareketlerini kontrol eder (Tache ve Bonaz, 2007).

Nesfatin-1'in periferik enjeksiyonunun; sınırlama stresinden kaynaklanan stres yanıtlarına karşı gastrik mukozayı, mide salgısını azaltarak koruduğu bildirilmiştir (Tache ve Bonaz, 2007). Ayrıca siklooksijenaz - prostaglandin ve nitrik oksit sentaz- nitrik asit sistem yolları ile ve bunun yanı sıra vagal, duyu sinirleri ve vallenoid reseptörlerinin aktivasyonunu içeren bir mekanizma ile de gastrik salgıyı ve gastrik zararları engellediği rapor edilmiştir (Stengel ve Tache, 2011).

Sıçanlarda merkezi olarak enjekte edilen nesfatin-1'in kaygı ve korkuya ilişkin davranışlarda da rol aldığı ve cinsiyete bağlı olarak kaygı ve korku yanıtlarında farklılıklar gösterebileceği bildirilmektedir (Merali ve ark., 2008). Yapılan bir çalışmada obezite (Hofmann ve ark., 2013) ve anoreksiya nevroz (Hofmann ve ark., 2015) teşhisi konulmuş kadınlarda nesfatin-1'in plazma düzeylerinin kaygı durumunun şiddetiyle paralel olarak yükseldiği gösterilmekle birlikte obez erkeklerde bu durumun ters korelasyona sahip olduğu belirtilmiştir (Hofmann ve ark., 2013).

Nesfatin-1'in merkezi seviyesi akut stresle arttırılabilirken nesfatin-1'in plazma seviyesi akut stresten etkilenmez (Goebel ve ark., 2009, Yoshida ve Maejima, 2010). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda kronik stresin nesfatin-1'in plazma seviyesini artırabileceği rapor edilmiştir.(Yoshida ve Maejima, 2010)

2.2.5 Nesfatin-1 ve Uyku

Nesfatin-1 ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda bu molekülün uyku durumunun düzenlenmesinde de değişik etkiler ortaya koyduğu farklı çalışmalarda gösterilmektedir. Yapılan bir çalışmada, sıçanlara nesfatin-1'in merkezi olarak enjeksiyonunun hızlı göz hareketleri uykusunda (REM) geçirilen toplam süreyi ve REM uyku periyoduna girme sıklığını arttırdığı gösterilmekle birlikte nesfatin-1'in bloke edilmesinde ise bu etkilerin tersi etkilerin ortaya çıktığı rapor edilmektedir (Jego ve ark., 2012). Diğer bir çalışmada ise REM uyku periyodunun engellenmesinin dorsolateral hipotalamusta nesfatin-1/NUCB2 protein ve mRNA seviyelerinde azalmalara yol açtığı belirtilmektedir. Ayrıca nesfatin-1'in merkezi enjeksiyonunun uykuda geçirilen toplam süreyi azalttığıda gösterilmektedir (Vas ve ark., 2013). Araştırmacılar bu farklılığı, nesfatin-1'in farklı dozlarda ve merkezi enjeksiyonun farklı zamanlarda uygulanması ile açıklamaktadır.

2.2.6 Nesfatin-1 ve Üreme Fonksiyonu

Farklı araştırmalar nesfatin-1 sinyalinin normal ergenlik gelişiminde ve çeşitli türlerde yeterli üreme işlemleri için gerekli olduğunu göstermektedir (Boutsikou ve ark., 2013; Garcia-Galiano ve ark., 2010b). Obez olmayan çocuklar ve ergenlerde nesfatin-1'in dolaşımdaki seviyesinin ergenliğin ilerlemesiyle birlikte artışlar gösterdiği belirtilmektedir. Ayrıca ergen dişi sıçanlarda merkezi olarak enjekte edilen nesfatin-1'in hem *Ad libitum* beslenenlerde hem de aç bırakılan gruplarda dolaşımdaki LH ve FSH hormon seviyelerini arttırdığı gösterilmesinin yanında bu etkinin yetişkin dişi sıçanlarda ise gözlenmediği rapor edilmektedir (Garcia-Galiano ve ark., 2010b). Başka bir çalışmada ise yüksek miktarda nesfatin-1 enjeksiyonunun yetişkin erkek sıçanlarda LH ve FSH seviyelerini arttırdığı da rapor edilmiştir (Garcia-Galiano ve ark., 2010a). Böylece nesfatin-1'in hem ergen hem de yetişkin hayvanlarda gonadotropik aksisi modüle ettiği gösterilmiştir.

2.2.7 Nesfatin-1'in Endotel Dokular Üzerindeki Etkileri

Endotel disfonksiyonu, yüksek kan basıncının gelişiminde rol oynayan mekanizmalardan biridir. Çalışmaların birçoğunda nesfatin-1'in sıçanlarda endotel fonksiyon modülasyonu yoluyla kan basıncını arttırması üzerine olası etkiler

araştırılmıştır. Araştırmacılar, izole mezenterik artere uygulanan nesfatin-1 tedavisinin sodyum nitroprusid tarafından indüklenen gevşemeyi, siklik guanozin monofosfat üretiminin bozulması yoluyla engellediği gösterilmiştir. Sodyum nitroprusid'in intravenöz yolla uygulanmasının, konsantrasyona bağlı olarak kan basıncında düşüslere neden olduğu ve kan basıncındaki bu düşüslerin de nesfatin-1 tarafından geri döndürüldüğü gösterilmiştir (Bernatova, 2014; Yamawaki ve ark., 2012). Bu gözlemler, nesfatin-1'in, periferik damarın kontraktilitesini doğrudan bir şekilde modüle ederek kan basıncının kontrolüne katılabileceğini düşündürmektedir (Yamawaki ve ark., 2012).

2.2.8 Nesfatin-1'in Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkileri

2.2.8.1 Nesfatin-1'in Kalp Dokusu Üzerindeki Etkileri

Nesfatin-1'in, sıçan ve insan kalp dokusunda ve kardiyomiyositlerde ana kaynak olan mide veya beyne benzer konsantrasyonlarda hem mRNA hem de protein seviyelerinde eksprese edildiği gösterilmiştir (Angelone ve ark., 2013). Dahası, kültüre edilmiş sıçan kardiyomiyositlerinin, nesfatin-1 salgıladığı gösterilmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda kalbin nesfatin-1'in başlıca kaynaklarından biri olabileceği ve yalnızca endokrin / otokrin / parakrin nesfatin-1 sinyalizasyonuna değil dolaşımdaki nesfatin-1 konsantrasyonlarına da katkıda bulunabileceği ifade edilmektedir (Feijo'o-Bandi'n ve ark., 2013).

Kardiyak ve dolaşımdaki nesfatin-1 seviyeleri, sıçanlarda ve farelerdeki yağ dokusunda olduğu gibi, direkt olarak diyetten etkilenebilir. Yüksek yağlı diyetle beslenmenin nesfatin-1'in atriyumundaki mRNA ve protein seviyelerini arttırdığı belirtilmiştir. Bununla birlikte yüksek yağlı diyetle beslenmenin ventriküllerde mRNA ve protein seviyelerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı da gösterilmiştir (Ramanjaneya, 2010).

Atriyumunun, önemli kan basıncı regülatörleri olarak tanımlanan natriüretik peptitler gibi peptitlerin salgı dokusu olduğu bilinmektedir. Ancak son zamanlarda enerji metabolizması regülasyonu da ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle atriyumun, patofizyolojik koşullar altında kalp nesfatin-1 üretimini düzenleyebileceği ve nesfatin-1 dolaşım konsantrasyonlarına katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (Collins ve ark., 2014; Lumsden ve ark., 2010).

Perfüze edilmiş sıçan kalbinde, nesfatin-1 infüzyonunun, negatif inotropizm indüksiyon ile bazal kardiyak performansını doza bağımlı bir şekilde etkilediği ve sol ventrikül basıncında bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Mazza ve ark., 2015).

Öte yandan, iskemi / reperfüzyon hasarına bağılı olarak kalp dokusunda nesfatin-1 seviyelerinin azaldığı da bildirilmektedir. (Angelone ve ark., 2013). Farklı kardiyolojik depresif peptidlerde olduğu gibi, nesfatin-1'in iskemi / reperfüzyon hasarında kardiyoprotektif etkilere sahip olduğu yani iskemi / reperfüzyon sonucu oluşan enfarkt boyutunun belirgin olarak azaltılmasında ve iskemi sonrası kasılma fonksiyonunun iyileştirilmesinde önemli bir rol üstlendiği gösterilmiştir. Bu koruyucu etkiye ise, mitokondrial potasyuma bağılı ATP kanalları ve sağkalım öncesi protein kinazı C'nin (PKC) aracılık ettiği bildirilmiştir (Cappello ve ark., 2007; Mazza ve ark., 2015). Özellikle, PKC-ε'nin, iskemi / reperfüzyon hasarı sonrası mitokondriyum üzerinden etki göstererek hem nekrozu hem de apoptozu azaltarak hücrel sağkalımı etkilediği rapor edilmektedir (Angelone ve ark., 2013).

Kalpdeki L tipi Ca^{+2} kanalları (LTCC) yoluyla Ca^{+2} akışı, kas kontraksiyonunu tetikleyen ve eylem potansiyel süresini kontrol eden çok işlevli bir sinyaldir. Kısıtlama stresine ve kronik periferik nesfatin-1 infüzyonuna maruz bırakılan sıçanların kardiyak özütlerinde, LTCC proteini ekspresyonu önemli ölçüde artmıştır (Ayada ve ark., 2015a). Bununla birlikte, kültüre edilmiş yetişkin ventriküler miyositlerde nesfatin-1'in, LTCC akımlarını MCR4 ve PKC-θ aktivasyonu ile azalttığı bildirilmektedir (Ying ve ark., 2015). Bu da nesfatin-1'in, farklı patofizyolojik koşullar altında LTCC aktivitesini modüle edebildiğini düşündürmektedir. Nesfatin-1'in kalpten başka, vagal afferent nodoz ganglion nöronları içinde N-tipi Ca^{+2} -kanallarının aktivasyonu ve farelerde pankreatik adacıkların β-hücrelerindeki LTCC'ler yoluyla Ca^{+2} akımını uyardığı gösterilmiştir (Nakata ve ark., 2011). Ayrıca, nesfatin-1'in bir fare nöroblastoma hücre hattındaki cAMP yanıt elementinin uyarım aktivitesini arttırdığı ve LTCC Ca^{+2} -kanallarının bağımlı bir mekanizma yoluyla paraventriküler nükleusta oksitosinerjik sinyalleme aktif ettiğini gösterilmiştir (Maejima ve ark., 2009). Bu veriler, nesfatin-1'in merkezi ve periferik etkilerine kısmen Ca^{+2} kanallarının aktivasyonunun aracılık edilebileceğini gösterir niteliktedir.

2.2.8.2 Nesfatin-1'in Merkezi Sinir Sistemindeki Kardiyovasküler Etkileri

Canlı, gelişiminin ilk evrelerinde besin ihtiyacını difüzyon yoluyla giderirken, hızla büyüme sebebiyle oksijen ve besin ihtiyacını karşılayacak ve atık ürünleri uzaklaştıracak yeni bir sistem oluşturmaktadır. Bu nedenle embriyoda gelişimini ilk tamamlayan sistem kardiyovasküler sistemdir.

Nesfatin-1 kardiyovasküler sistemin düzenlemesinde yer alan hipotalamus bölgelerinde örneğin arkuat nükleus (Maejima ve ark., 2009), paraventriküler nükleus (Darambazar ve ark., 2015), lateral hipotalamik bölge, supra optik nükleus (Foo ve ark., 2008; Oh-I ve ark., 2006) ve dorsal motor vagus çekirdeği (Foo ve ark., 2008), amigdalanın merkez çekirdeği (Kukkis ve Ferguson, 2014), insular korteks, nükleus ambiguus ve NTS'de (Bundzikova-Osacka ve ark., 2015; Foo ve ark., 2008) yaygın şekilde eksprese olmaktadır. Merkezi düzeydeki nesfatin-1 dağılımı bize nesfatin-1'in kardiyovasküler fonksiyonun düzenlenmesinde önemli bir rol üstlenebileceğini gösterdiği için birçok araştırmacı bu mekanizma üzerinde çalışmaktadır.

Merkezi sinir sistemi içerisinde nörotransmitter ve nöromodülatör etkilere sahip olduğu belirtilen nesfatin-1'in merkezi ve periferik olarak kardiyovasküler sistem üzerinde de düzenleyici bir etkiye sahip olduğu birçok çalışmada belirtilmektedir. Merkezi olarak enjekte edilen nesfatin-1'in hipotalamusta oksitosinerjik sistemi aktive ettiği, buna bağlı olarak NTS'de pro-opiomelanokortinin uyarıldığı ve sonrasında bu yolak üzerinden hipotalamusta MCR^{3/4} reseptörlerinin uyarılması sonucu sempatik sinir aktivitesinin ve kan basıncının arttığı gösterilmiştir. Oksitosin reseptör antagonisti ornitin vazotosin ve MCR^{3/4} reseptör antagonisti SHU9119'un merkezi olarak enjekte edilmesiyle nesfatin-1'in kan basıncını artırıcı etkisinin ve sempatik sinir aktivitesinin engellendiği rapor edilmiştir (Yosten ve Samson, 2009; 2010). Bahsedilen reseptörler dışında, nesfatin-1'in kan basıncı üzerindeki pressör etkilerine aracılık eden herhangi bir merkezi mekanizmadan söz edilmemektedir. Merkezi sinir sistemi içerisindeki etkinliğini, hipotalamusta G-coupled protein reseptörleri üzerinden (Brailoiu ve ark., 2007), paraventriküler nükleusta melanokortin sistem aracılığıyla (Maejima ve ark., 2009) ve arkuat nükleusta ise nöropeptid Y (NPY) reseptörlerini hiperpolarize ederek (Price ve ark., 2008) gösterdiği rapor edilmiştir.

Sıçanlarda lateral ventriküle nesfatin-1 uygulamasının diğer gıda alımını düzenleyici peptidler gibi aynı aralıkta kan basıncını arttırdığı gösterilmiştir. Beslenmenin düzenlenmesinde rol alan NPY'nin, paraventriküler nükleus nesfatin-1 nöronlarını inhibe ettiği, α -MSH'nin ve hipofiz adenilat siklaz-aktif polipeptid'in (PACAP) ise paraventriküler nükleus nesfatin-1 nöronları üzerinde uyarıcı etkiler oluşturduğu rapor edilmektedir (Maejima ve ark., 2013; Sedbazar ve ark., 2014). Nesfatin-1'in kronik kısıtlamaya bağlı stres şartlarında ve obeziteye bağlı oluşan hipertansiyonda da önemli rolleri olduğu bildirilmektedir (Ayada ve ark., 2015b; Zhao ve ark., 2015).

Sıçanlarda nesfatin-1 immunreaktivitesi nükleus ambiguusda da gösterilmiş ve premotor kardiyak vagal nöronların kalp frekansının düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı rapor edilmiştir (Sharp ve ark., 2014). Nükleus ambiguosa uygulanan nesfatin-1 enjeksiyonunun, kardiyak preganglionik nöronlarda hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonlarında artışa yol açtığı ve bu sinyalleme zinciriyle G-protein-bağlı reseptör aktivasyonunu ve P / Q tipi Ca^{+2} kanallarını aktive ettiği bildirilmiştir. Ayrıca, nesfatin-1'in nükleus ambiguosa mikro enjeksiyonunun, kan basıncında herhangi bir değişiklik olmaksızın kalp atış hızını düşürdüğü de rapor edilmiştir (Brailoiu ve ark., 2013). Bunun yanı sıra NTS'ye yapılan nesfatin-1 enjeksiyonu sonrası kan basıncının ve kalp atım sayısının arttığı da rapor edilmektedir (Mimee ve ark., 2012).

Böbrekleri innerve eden sempatik sinir sisteminin renin-anjiyotensin sistemi vasıtasıyla kan basıncının düzenlenmesine katıldığı belirtilmektedir (Brailoiu ve ark., 2013). Oreksin (Tanida ve ark., 2006), NPY (Tanida ve ark., 2009) veya PACAP (Tanida ve ark., 2010) gibi bazı anoreksijenik peptitlerin merkezi enjeksiyonunun, renal sempatik sinir aktivitesini ve sonuç olarak kan basıncını da değiştirdiği rapor edilmektedir. Benzer şekilde, sıçanlarda nesfatin-1'in merkezi yolla enjekte edilmesi MCR $\frac{3}{4}$ fonksiyonel reseptörlere bağlı bir mekanizma yoluyla renal sempatik sinir aktivitesini artırıp ve kalp atış hızında herhangi bir değişiklik yapmadan kan basıncını arttırdığı da gösterilmiştir (Tanida ve ark., 2011). Yakın zamanda laboratuvarımızda yapılmış bir çalışmada, sıçanlarda nesfatin-1'in merkezi enjeksiyonlarının, hem normotansif hem de hipotansif koşullarda kan basıncında pressör yanıtlar oluşturduğunu ve oluşan bu pressör yanıtların, kalp atımı üzerinde

normotansif sıçanlarda bradikardik, hipotansif sıçanlarda ise taşikardik yanıtlara neden olduğunu rapor ettik. Yine aynı çalışmada, merkezi nesfatin-1 enjeksiyonu sonrası, plazma katekolamin ve vazopressin miktarlarında ve renin aktivitesinde artışların olduğunu da gösterdik (Yılmaz ve ark., 2015). Bu bulgular merkezi olarak uygulanan nesfatin-1'in renal sempatik aktivitesinde artışa yol açtığını ve kardiyovasküler etkilere aracılık etmek için plazma katekolamin, vazopressin ve renin konsantrasyonlarını arttırdığını ortaya koymaktadır. Bütün bu sonuçlar, nesfatin-1'in merkezi etkisinin otonom sinir sisteminin kardiyovasküler fonksiyonunu korumak için düzenlediğini göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda, periferal olarak verilen nonspesifik α -adrenerjik sistem antagonisti fentolaminin nesfatin-1'in kan basıncını artırıcı etkisini bloke etmesi nesfatin-1'in kardiyovasküler sistem üzerindeki regülatör etkilerine adrenerjik sisteminde aracılık ettiğini göstermektedir (Yosten ve Samson, 2009; 2010). Bir başka çalışma ise nesfatin-1'in farelere subkutan enjeksiyonunun, α -adrenerjik bağımsız fakat β -adrenerjik bağımlı mekanizma yoluyla kalp atış hızını etkilemeden ortalama kan basıncını önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir (Osaki, 2014).

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada gastrik distansiyon oluşturulmuş sıçanların mideye projeksiyon gönderen kolinerjik sinirler olan vagusun dorsal motor nöronlarında NUCB2/nesfatin-1 ekspresyonlarının arttığını gösterilmesi (Bonnet ve ark., 2013) nesfatin-1'in etkilerinde kolinerjik sistemin aracılığının olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, nesfatin-1'in kardiyovasküler sistem üzerinde pressör etkileri olduğu histamin ile ko-lokalize olması (Gotoh ve ark., 2013) ve özellikle laboratuvarımızda yapmış olduğumuz çalışmalarda bir kolin (Ch) donörü olan CDP-kolin ile oluşturulan kardiyovasküler etkilerde histaminerjik reseptörlerin aracılığını ortaya koymuş olmamız da (Jochem ve ark., 2010) nesfatin-1'in kan basıncı üzerindeki oluşturduğu merkezi etkilerinde kolinerjik sistemin etkin bir rol alabileceğini düşündürmektedir. Yine hem kolinerjik sistemin hem de nesfatin-1'in oluşturduğu kardiyovasküler etkilere, normal ve hipotansif koşullarda periferik katekolamin, vazopressin ve renin anjiotensin sisteminin aracılık etmesi bu iki nöromodülatör veya nörotransmitter sistemin etki profili bazında benzerliklerini göstermektedir. Bu bulgular, kardiyovasküler sistemin kontrolü açısından merkezi kolinerjik sistem ve nesfatin-1 arasında bir etkileşim olabileceğini düşündürmektedir.

2.3 Kolinerjik Sistem

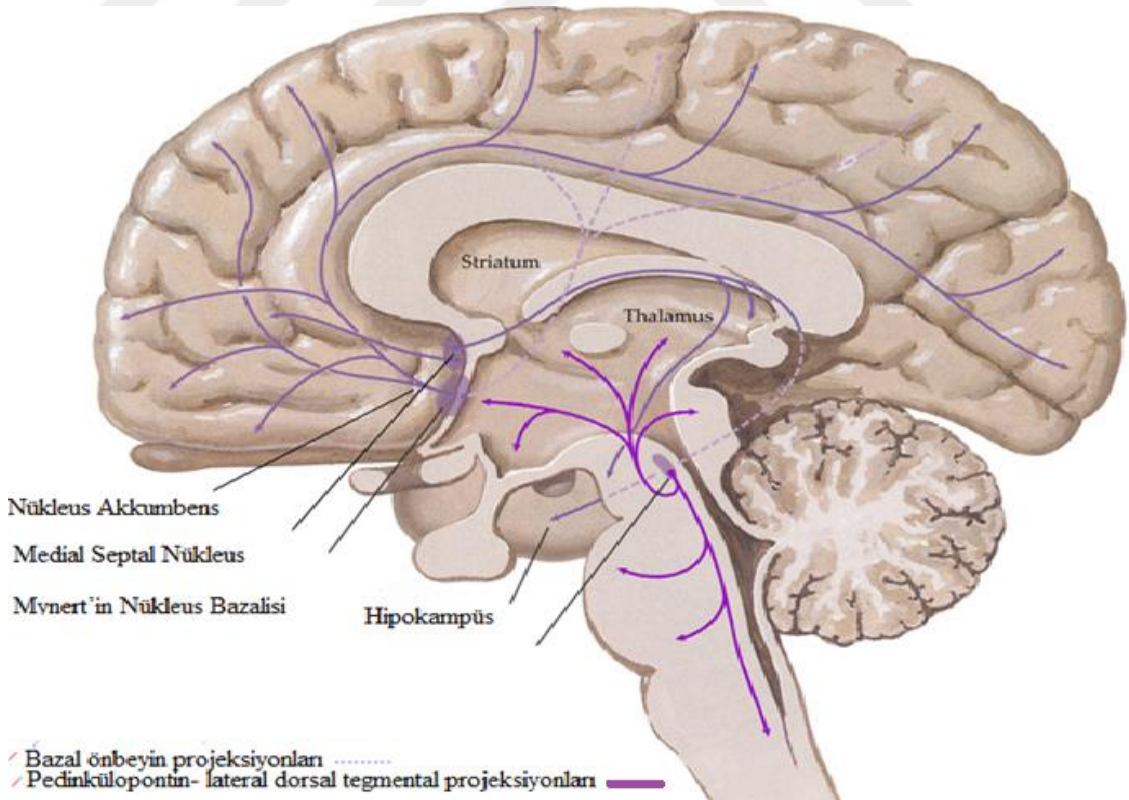
Canlılarda kolinerjik sistem, periferik ve santral sinir sistemine ait hücreler arası uyarımların taşınması ve iletiminde rol oynar (Sulak ve Malas, 2002). Kolinerjik sistem, merkezi sinir sistemi içerisinde birçok hayati öneme sahip sistemin merkezi kontrolünde nörotransmitter ve nöromodülatör olarak çalışan önemli bir sistemdir (Perry ve ark., 1999).

Kolinerjik sistem, beyin içerisinde 3 farklı dağılım göstermektedir.

1) Medial septal nükleus, Mynert'in nükleus bazalisi, diagonal band'ın vertikal nükleusu ve hipokampüsün innervasyonunda görevli diagonal band nükleusun horizontal kısmı, kortikal bölgeler ve subkortikal çekirdekler bazal ön beyin kısmından iletim almaktadır.

2) Beyin sapından talamusa uzanan pedunkulopontin'in lateral dorsal tegmental iletimlerini, orta beyni ve diğer medulla oblongata bölümlerini içermektedir.

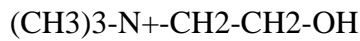
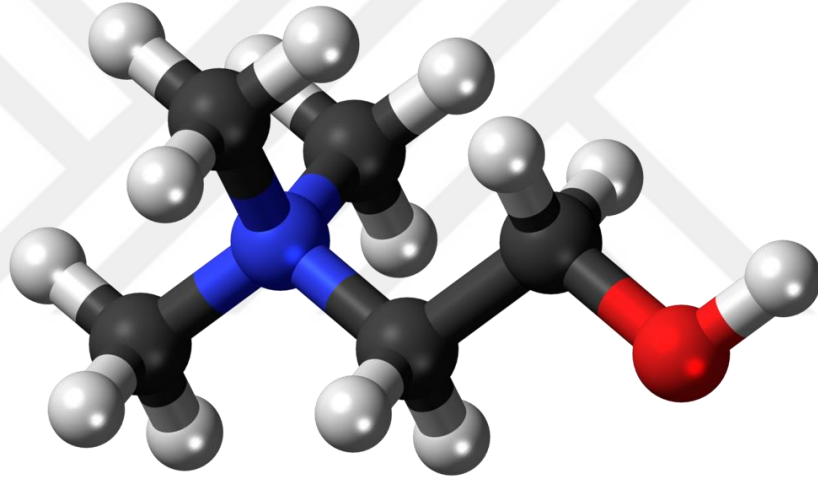
3) Striatum ve nükleus akkumbens internöronlarında yer almaktadır (Scarr ve ark., 2013), (Şekil 5).



Şekil 5. Beyinde kolinerjik sistemin dağılımı (Scarr ve ark., 2013)

İnsan merkezi sinir sistemindeki kolinerjik sistemin karmaşık yapısı göz önüne alındığında, uyku, biliş ve duyuşal işlemler gibi kritik, çeşitli fonksiyonları kontrol etmesi şaşırtıcı değildir. Kolinerjik sistemin tüm fonksiyonları asetilkolin (ACh) ile iki reseptör ailesi arasındaki etkileşim tarafından kontrol edilir. Bunlar; nikotinik ve muskarinik reseptörlerdir (Dale, 1914).

Kolinerjik sistemin sinyal taşıyıcısı olan ACh molekülü, Ch ve asetilkoenzim A'dan sentezlenir. 19. Yüzyılda Strecker tarafından keşfedilen, 2 karbon zinciri içeren Ch'in (2-hidroksietil-N,N,N-trimetil amonyum, beta-hidroksietil-N,N,N-trimetil amonyum, Ch) bir karbon zincirine hidroksil (OH) grubu, diğer karbon zincirine ise aminli azot eklenmiştir ve Ch kısmı artı yük taşımaktadır (Strecker, 1862) (Şekil 6).



Şekil 6. Ch'in kimyasal yapısı (Mavi: Azot, Kırmızı: Oksijen, Siyah: Karbon, Beyaz: Hidrojen)

Ch, ACh sentezinde öncü molekül olmanın yanı sıra vücutta metil verici molekül olarak görev alır ve hücre zarının temel yapı taşı bazı temel fosfolipidlerinin sentezinde de öncül madde olarak görev alır. Bununla bağlantılı olarak Ch zardaki fosfolipidlerden kaynaklanan bazı ikincil habercilerin [lizofosfotidilkolin, platelet aktive edici faktör gibi] yapısında yer alır (Ulus ve Cansev, 2010). Bu bilgiler ışığında Ch' in, vücutta pek çok düzenleyici etkiye sahip olduğu görülmektedir.

ACh; kolinasetiltransferaz enzimi aracılığı ile serbest Ch' in asetile edilmesiyle tek basamaklı bir reaksiyonla gerçekleşir ve sentezde kullanılan asetilkoenzim A, asetil grubu vericisi olarak ikinci substrat görevi görür (Ulus ve Cansev, 2010). Sentezlenen ACh, sinaptik veziküllerde depalanır ve ACh transporter

enzimleri ile taşınarak oluşan uyarılar ile birlikte bir nörotransmitter madde olarak sinaptik boşluğa salınır. Buradan kolinerjik sistem reseptörlerine (muskarinik veya nikotonik reseptörlere) bağlanarak etkisini gösterir. ACh etkisini gösterdikten sonra, asetilkolinesteraz (AChE) diğer bir adıyla spesifik kolinesteraz tarafından inaktive edilip, asetik asit ve Ch' e hidrolize olur (Sulak ve Malas., 2002). Memelilerde 2 çeşit kolinesteraz olduğu gösterilmiştir. Birincisi; AChE, ACh'i inaktive eden, ikincisi ise kolinerjik sinirlerde, glia hücrelerinde, karaciğerde ve plazmada bulunan Butirilkolinesteraz (BChE)'dir (Sulak ve Malas., 2002).

2.3.1 Kolinerjik Reseptörler

Kolinerjik sistem reseptörleri, 1914 yılında Sir Henry Dale (Dale, 1914) tarafından muskarinik ve nikotinik reseptörler olarak sınıflandırılmıştır. Reseptörler aynı zamanda yapısal, fizyolojik ve fonksiyonel farklılıklar da gösterirler.

2.3.1.1 Muskarinik Reseptörler

Muskarinik reseptörler hem merkezi hem de periferel sinir sisteminin nöronlarında ve otonom sinir sisteminin kontrolünde olan kalpte, solunum yollarında, gastrointestinal sistemde, üriner yollarda, göz ve ekzokrin bezlerde bulunur ve birçok önemli temel fizyolojik işlevi içeren düzenlemeye aracılık eder (Caulfield ve Birdsall, 1998; Nathanson, 2001).

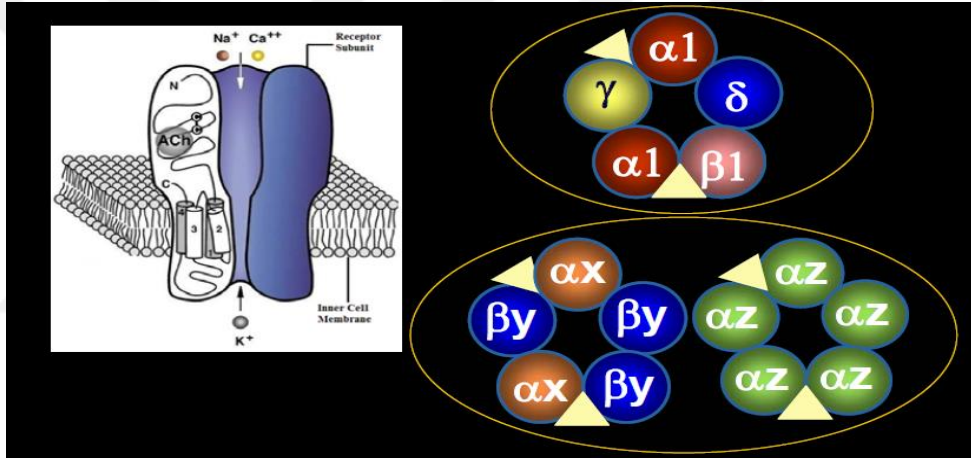
Muskarinik reseptörler, G-protein ile bağlantılı reseptör ailesine üyedir. İnsanlarda ve diğer memelilerde muskarinik reseptör alt tiplerini şifreleyen 5 farklı intronsuz genin varlığı rapor edilmiştir (Bonner ve ark., 1988; Caulfield ve Birdsall, 1998; Krejci ve ark., 2004). M1, M2, M3, M4, M5 (Cabadak, 2006) reseptör alt tiplerinden; M1, beyin korteksinde ve striatumda; M2, kalp ve beyincikte; M3, düz kas ve ekzokrin salgı bezlerinde; M4, beynin striatumunda; M5, substantia nigrada yer almaktadır (Nathanson, 2001).

Muskarinik ACh reseptörleri, kalp atışının, kan basıncının düzenlenmesinde, damarların gevşemesinde, hava yolundaki düz kasların kasılmasında, vücut ısısının ayarlanmasında, gastrointestinal bölgede bulunan organların deviniminde, ekzokrin ve endokrin bezlerden salgıda, ayrıca motor ve duyu kontrolünde, hafıza, öğrenme

gibi karmaşık olayların düzenlenmesinde rol alır (Messer ve ark., 1990; Nathanson, 2001). Muskarinik reseptör etkileri nikotinik reseptörlere göre daha yavaş başlayıp daha uzun sürer. Muskarinik reseptörlerin etkilerini ise atropin ve skopolamin bloke eder (Uğur, 2008).

2.3.1.2 Nikotinik Reseptörler

Kolinerjik sistemde $\alpha 2$ - $\alpha 10$ ve $\beta 2$ - $\beta 4$ alt tiplerine ayrılan nikotinik reseptörler; otonomik ganglionlarda, nöromüsküler kavşak sonrası çizgili kasta ve adrenal medullanın kromofin hücrelerinde bulunur (Gotti ve ark., 2006). Nikotinik reseptörler, ligand kapılı iyon kanallarından oluşmuştur (Şekil 7).



Şekil 7. Nikotinik reseptörler.

Nikotinik reseptörler, merkezi sinir sistemi içerisinde nörotransmitter salınımının düzenlenmesinde, post sinaptik etkilere aracılık etme gibi görevleri üstlenmektedir (Gotti ve ark., 2006).

Nikotinik kolinerjik reseptörler daha çok eksitator özelliklidirler ve çok çabuk etki gösterirler. Süratle sonlanıp, duyarsızlaşırlar. Bu nikotinik reseptörler d-tubokurarin ve mekamilamin ile bloke olurlar (Uğur, 2008).

2.3.2 Kolinerjik Sistemin Kardiyovasküler Etkileri

Kolinerjik sistemi aydınlatmak amacıyla yapılan araştırmalarda, Ch ve türevi moleküllerin insan ve deney hayvanları üzerinde çeşitli fizyolojik, biyokimyasal ve davranış üzerine etkileri olabildiğine işaret edilmiştir (Ulus ve Cansev, 2010). Bir kolinerjik sistem nörotransmitteri olan ACh'in kedilere intravenöz enjeksiyonu ile taşikardik ve pressör etkiler gözlenmiş ve bu etkilere aracılık eden reseptörlerin muskarinik ACh reseptörleri olduğu gösterilmiştir (Bhargava ve ark., 1978).

İnsanlarda ve sıçanlarda; intravenöz veya intraperitoneal Ch enjeksiyonu ile kan basıncının düştüğu (Cansev ve ark., 2007) ve merkezi enjeksiyonunun da pressör etkiler doğurduğu (Arslan ve ark., 1991) ve oral yolla verildiğinde sıçanlarda kan basıncına etki etmezken (Ulus ve Wurtman, 1979), Alzheimer hastalarında hipotansif etkiler yarattığı gösterilmiştir (Boyd ve ark., 1977). Ch, anestezi altındaki köpeklere serebroventriküler yolla enjekte edildiğinde kan basıncında önce kısa süreli bir yükselmeye, sonra da yaklaşık bir saat süren bir düşmeye neden olduğu belirtilmiştir (Srimal ve ark., 1969). Yapılan bir başka çalışmada sıçanlara sisterna içine ya da dorsal medullaya Ch verildiğinde kan basıncını düşürdüğu (Kubo ve Misu, 1981), serebral yan ventriküle Ch verilmesiyle ise kan basıncını kısa süreliğine yükselttiği ve kalp hızını da 10 ile 60 dakika arası yavaşlattığı bildirilmiştir (Arslan ve ark., 1991). Merkezi yolla verilen Ch' in kan basıncı üzerine etkilerinde hem muskarinik hem de nikotinik ACh reseptörlerin aracılığı bulunduğu belirtilmiştir (Arslan ve ark., 1991; Li ve Buccafusco, 2004). Ch' in merkezi enjeksiyonlarının kan basıncında yarattığı pressör etkilerin yanı sıra kalp üzerinde bradikardik yanıtla neden olduğu da belirtilmektedir (Arslan ve ark., 1991). Ayrıca Ch' in, normotansif sıçanlarda, merkezi enjeksiyonunun oluşturduğu pressör etkilere periferde aracılık eden sistemlerin; sempato- adrenal sistem ve renin- anjiyotensin sistem olduğu gösterilmiştir (Arslan ve ark., 1991; İşbil- Büyükcoşkun ve ark., 2001). Hemorajik çok oluşturulmuş sıçanlarda, merkezi ve periferik yolla verilen Ch kan basıncını tamamen ya da kısmen geri döndürür (İşbil- Büyükcoşkun ve ark., 2008). Merkezi yolla enjekte edilen Ch, hemorajik çokta kan basıncını düzeltici etkilerini merkezi nikotinik ACh reseptörlerinin ACh sentez ve salınımını uyarması ile vasopressin ve

katekolamin salınımının arttırılmasına bağlı olduğu belirtilmektedir (Ulus ve Cansev, 2010).

Özetle; yıllardır kan basıncının kontrolünde ACh'in önemli bir rol oynadığına dair kanıtlar biriktirilmiştir. Doğrudan etki eden agonistler ya da dolaylı olarak etki eden kolinerjik ajanlar tarafından merkezi kolinerjik uyarım; sıçanlar, kediler ve köpekler de dahil olmak üzere çeşitli türlerin uyanık ya da anestezi altında düzenli olarak kan basıncını arttırır.

2.4 Posterior Hipotalamusun Kardiyovasküler Sistem Üzerindeki Etkilerinde Kolinerjik Sistemin Aracılığı

Hipotalamusta, ACh sentezinde görevli olan Ch asetiltransferazın geniş bir yayılıma sahip olduğu gerçekleştirilen immünohistokimyasal boyamalar sonucu gösterilmiştir. Gerçekleştirilen immünohistokimyasal boyamalarda hipotalamusun özellikle posterior bölümünde, Ch asetiltransferazın ve kolinerjik sinirlerin yoğun olarak bulunduğu belirtilmektedir (Rao ve ark., 1987; Ruggiero ve ark., 1990). ACh'in PH'de varlığını kanıtlamak için push-pull tekniği ile çalışmalar yapılmış ve ACh'in bu bölgedeki varlığı kanıtlanmıştır (Prast ve Philippu, 1992). Kardiyovasküler sistemin merkezi kontrolünde düzenleyici bir etkiye sahip olan PH, bu etkilerde merkezi sinir sisteminde bulunan çeşitli nörotransmitter ve nöromodülatör madde ile işbirliği içindeyken bir kolinerjik sistem elemanı olan ACh'in de aracılığı belirtilmiştir (Kang ve Koh, 2007). Tüm bu verilere ek olarak, PH'de yer alan ACh'in kardiyovasküler düzenlemede baroreseptör refleksin modülasyonunda ve spontan hipertansif sıçanların hipertansiyonunda rol aldığı da belirtilmiştir (Brezennoff ve ark., 1982; Brezennoff ve Xiao, 1989; Criscione ve ark., 1983).

Karbakol (kolinerjik agonist) ve Ch esteraz inhibitörleri olan fizostigmin ve neostigminin PH'ye mikroenjeksiyonlarının kardiyovasküler sistem üzerinde pressör etkiler yarattığının belirtilmesinin yanında (Buccafusco ve Brezennoff, 1979; Martin, 1996) oluşan bu pressör etkilerde ganglionik nikotinik ve muskarinik reseptörlerin aracılığının olduğu gösterilmiştir (Martin, 1992; Methvin ve Martin, 1998; Xiao ve Brezennoff, 1988).

PH'de kolinerjik sistemin kardiyovasküler sistem üzerindeki etkinliğinin gösterilmesi amaçlanan pek çok çalışma yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalarda, kolinerjik sistem agonisti olan karbakolün daha önce de belirtildiği üzere PH'ye

enjeksiyonunun kan basıncı üzerinde pressör ve kalp atımı üzerinde taşikardik yanıtlar oluşturmasının yanında oluşan bu yanıtlarda sempatik sinir sisteminin ve anterior hipotalamusta anjiotensin-II nöronlarının aktive olduğu ve ayrıca vazopressin salınımının da arttığı rapor edilmiştir (Hagiwara ve ark., 2005; Martin, 1996; Methvin ve Martin, 1998).



3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Hayvanlar

Çalışmada, 300-350 gr ağırlığında, Spraque Dawley ırkı 70 adet erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar, Uludağ Üniversitesi, Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezinden satın alındı. Hayvanlar, dört hayvan bir arada olacak şekilde su ve yem alımları serbest bırakılarak bakıldılar. Hayvanların bulunduğu odanın ısısı 20 – 24 °C olacak şekilde sabit tutuldu. Oda, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık (08.00 – 20.00 saatleri arası aydınlık) olacak şekilde aydınlatıldı.

Çalışmadaki tüm cerrahi ve deneysel işlemler Uludağ Üniversitesi, Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (U.Ü. HAYDYEK Karar No: 2016-10/04, Tarih: 09.08.2016).

3.2 Cerrahi İşlemler

Sevoflurane (% 2–4 / %100 O₂) anestezisi altında, kardiyovasküler parametreleri kayıt edilebilmek için sıçanların sol femoral arterlerine heparinli % 0,9 tuzlu su (100 Ü/ml) ile doldurulmuş katater (PE 50 ve 60) yerleştirildi. Katater cilt altından geçirilerek boynunun arkasından çıkarıldı ve kullanılıncaya kadar sabitlendi. Böylece sıçanların anesteziden çıktıktan sonraki bekleme süresinde katatere ulaşarak kemirmeleri engellenmiş oldu. Serebral yan ventrikül (s.y.v.) yolla ilaç enjeksiyonları için ise, yine sevoflurane (% 2–4 / %100 O₂) anestezisi altında sıçanların kafatasına Paxinos ve Watson'ın sıçan stereotaksik koordinatlarını gösteren atlası (Paxinos ve Watson, 2005) göre bregmanın 1,0 mm posterioruna ve 1,5 mm laterale bir delik açıldı ve 22 G paslanmaz çelik iğneden elde hazırlanmış kılavuz kanül yerleştirildi. Kanül kafatasının 4,2 mm altına gelecek şekilde itildi. Kanülün kafatasının üzerindeki kısmı dişi akriliği ile sabitlendi. Mikrodiyaliz çalışması yapılacak olan sıçanlar s.y.v.'e kılavuz kanül yerleştirildikten sonra stereotaksik alete yerleştirildi. Mikrodiyaliz çalışması için 18 kDa molekül ağırlığına kadar moleküllerin geçişine izin veren zar ve 2 mm diyaliz yüzeyine sahip olan, laboratuvarımızda hazırlanmış mikrodiyaliz problemleri PH'ye yerleştirildi. Kısaca; sıçan stereotaksik koordinatlarını gösteren (Paxinos ve Watson, 2005) atlası göre belirlenen koordinatlar doğrultusunda PH için; bregmanın 3,6 mm posterioru, orta

hattın 0,5 mm laterali matkap ucu ile delinerek stereotaksik alet yardımıyla mikrodializ probu 9,0 mm vertikale ulaşacak şekilde yerleştirildi. Probun kafatasının üzerindeki kısmı dişçi akriliği ile sabitlendi.

Cerrahi işlemlerin bitiminden sonra sıçanlar bireysel olarak plastik kutulara yerleştirildi ve yaklaşık 4 – 5 saat anestezi için bekledi. Bu dönemde sıçanlar rahatsız edilmediler ve herhangi bir ağrı bulgusu da saptanmadı. Sıçanlara uygulanan cerrahi işlemler sabah saat 9.00 – 10.00 arasında uygulanırken, ilaç uygulamaları ve kardiyovasküler parametrelerin kayıt işlemi 14.00 – 16.00 saatleri arasında gerçekleştirildi.

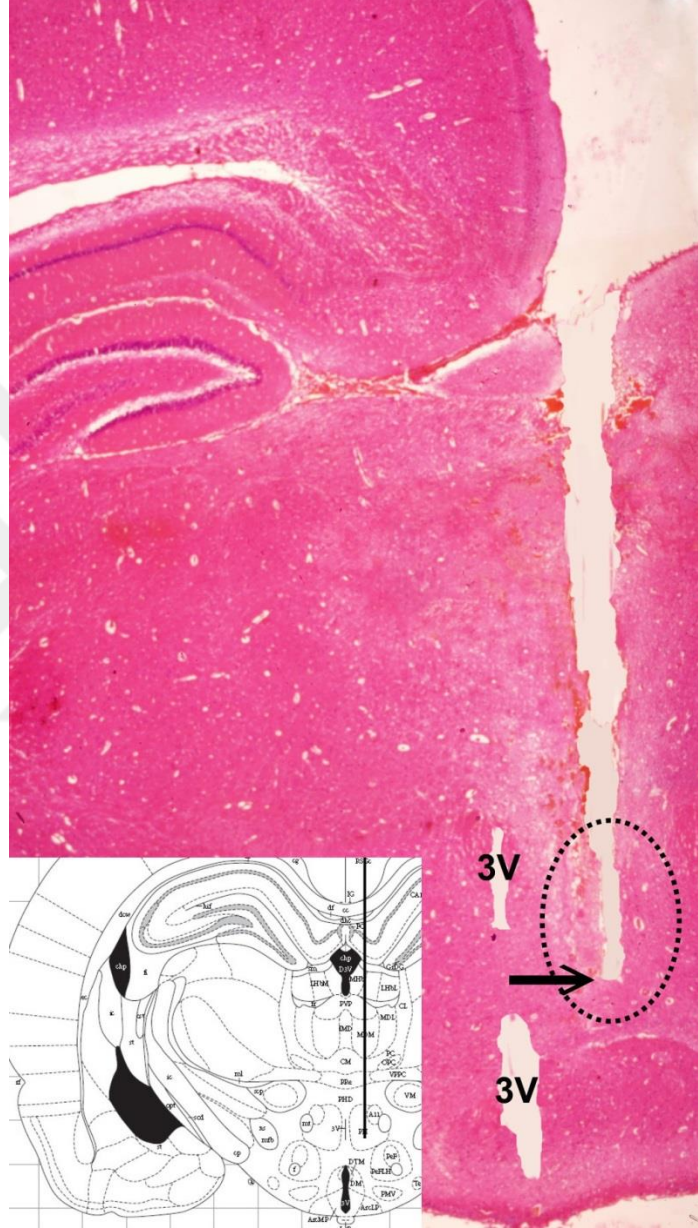
3.3 Kan Basıncı ve Kalp Atım Sayısının Kaydedilmesi

Hayvanların anestezi için 4 – 5 saatlik bekleme periyodunun ardından uyanık sıçanların femoral arterlerine yerleştirilmiş olan arteriyel kateter, MP36 (Biopac Systems Inc. CA, USA) fizyolojik kayıt sistemi ile bağlantılı BPT 300 (Biopac Systems Inc. CA, USA) volümetrik basınç transdüsörüne bağlandı ve AcqKnowledge yazılımı (Biopac Systems Inc. CA, USA) kullanılarak kan basıncı ve kalp atım sayısı kayıtları alındı. Sıçanların kontrol kan basıncı ve kalp atım sayısı kayıtları alındıktan sonra hayvanlara gereken enjeksiyonlar yapıldı ve 60 dakika boyunca ve tedavi sonrası kan basıncı ve kalp atım sayısı kayıtları toplandı. Kan basıncı ortalama arteriyel kan basıncı (mmHg) olarak, kalp atım sayısı ise dakika vurum sayısı (atım/dakika) olarak belirlendi.

3.4 Mikrodializ Çalışması

Sıçanların anestezi etkisinden çıkmaları için 4 – 5 saatlik bekleme periyodundan sonra mikrodializ probu perfüzyon pompasına bağlandı ve suni beyin omurilik sıvısı ile perfüze edildi. pH'sı 7,4 olan perfüzyon sıvısının içeriği, 120 mM NaCl, 1,3 mM CaCl₂, 1,2 mM MgSO₄, 1,2 mM NaH₂PO₄, 3,5 mM KCl, 25 mM NaHCO₃ and 10 mM glukoz şeklinde ayarlandı. Perfüzyon hızı 2 µl/dakika olacak şekilde ve dializ örnekleri 10 dakika aralıklarla toplandı. Başlangıçta 60 dakikalık bir stabilizasyon periyodu boyunca örnekler toplandı ve bu periyodun sonundaki son 3 örneğin ortalaması bazal değer olarak kabul edildi. Çalışmanın sonunda mikrodializ uygulanan beyinler toplandı ve % 10'luk formaldehit içinde tespit

edildi. Beyinlerden 5 µm'lik seri koronal kesitler alındı ve hemotoksilen – eozin boyaması ile boyandı. Preparatlardan mikrodializ probunun PH'ye ulaşip ulaşmadığı doğrulanması yapıldı (Şekil 8).



Şekil 8. Unilateral olarak PH'ye yerleştirilen mikrodializ probunun yerinin fotomikrografik olarak doğrulanması. Ok: Mikrodializ probunun ulaştığı noktayı gösteriyor. Noktalı yuvarlak şeklin sol alt köşesindeki resim, Paxinos ve Watson'un şıçan beyin streataksik koordinatlarını gösteren atlası göre PH'nin konumunu göstermektedir. 3V: üçüncü ventrikül.

3.5 İlaçların S.Y.V. Yol ile Enjeksiyonu

Serebral yan ventrikül yol ile enjeksiyon, 28 G'lık paslanmaz çelik iğneden laboratuvarımızda hazırlanan, kafatasından itibaren 4.2 mm'lik derinliğe ulaşan mikroenjeksiyon kanülünün, kılavuz kanül içine yerleştirilmesi ile yapıldı. Mikroenjeksiyon kanülü, polietilen kateter (PE 20) ile bağlantılı idi. Bu katatere tuzlu su veya verilmek istenen ilaç doldurularak 10 µl'lik hamilton mikroenjektör ile 5 µl hacminde sıvı s.y.v.'e enjekte edildi. Arzu edilen maddenin enjekte edildiğini görüntülemek amacıyla mikroenjeksiyon kanülüne bağlı katater verilmek istenen madde ile doldurulurken içinde ufak bir hava kabarcığı bırakıldı ve enjeksiyon esnasında bu hava kabarcığının hareketi takip edilerek istenilen hacimdeki sıvının verilip verilmediği kontrol edildi. Deney sonunda s.y.v. enjeksiyonunun doğru yapıldığını doğrulamak amacıyla 1 µl metilen blue s.y.v.'e enjekte edildi ve enjeksiyondan hemen sonra sıçanların beyinleri çıkarılarak ventriküler sistem içerisinde metilen blue'nun oluşturduğu boyama göz ile kontrol edildi.

3.6 Deney Protokolü

Çalışmada, ilk olarak normotansif hayvanlarda merkezi uygulanan nesfatin-1'in kardiyovasküler etkilerini göstermek amaçlanmıştır. Bu amaçla nesfatin-1 (200 pmol) veya tuzlu su hayvanlara (5 µl) s.y.v. yol ile enjekte edilerek kan basıncı ve kalp atım sayısı verileri bir saat süre ile takip edildi.

İkinci deney setinde, nesfatin-1'in kardiyovasküler düzenleme açısından önemli bir bölge olan PH'den ekstraselüler ACh ve Ch salınımına etkisini araştırmak amacıyla mikrodiyaliz çalışması yapıldı. Bu amaçla nesfatin-1 (200 pmol s.y.v.) veya tuzlu su (5 µl s.y.v.) enjeksiyonlarından sonra 10'ar dakikalık toplama periyotları ile bir saat süre ile diyalizat örnekleri toplandı.

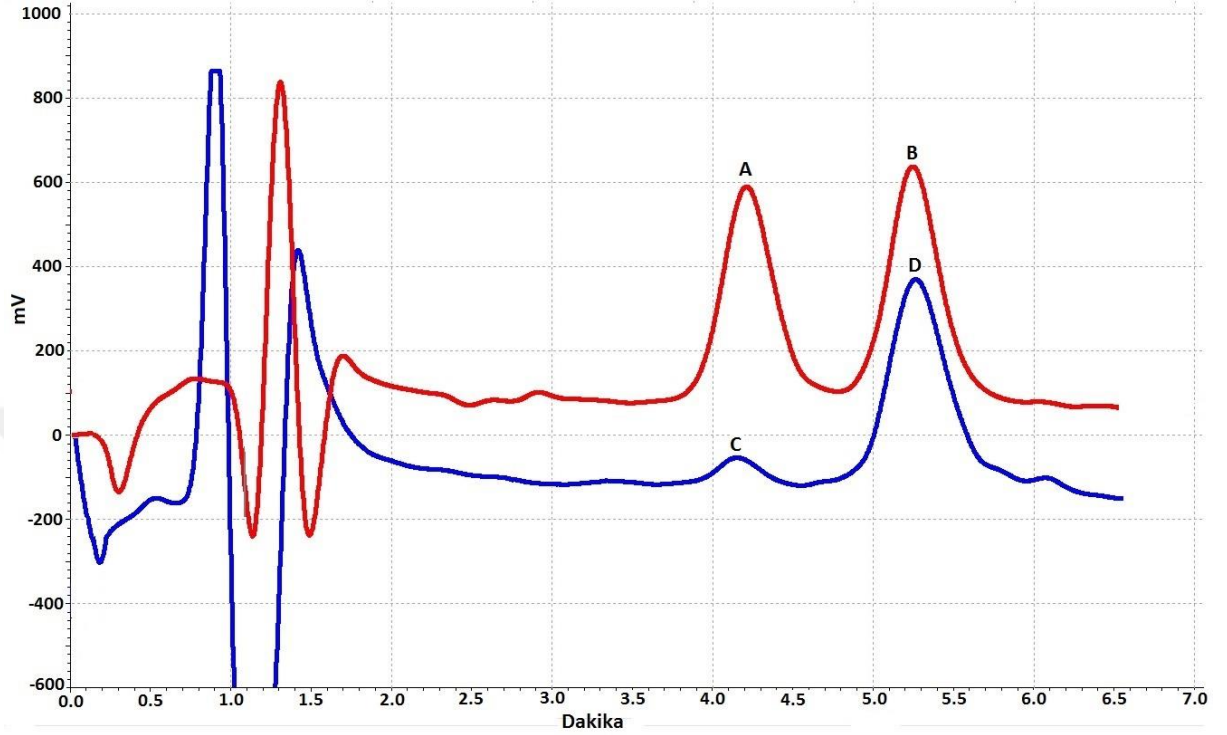
Üçüncü deney setinde ise merkezi olarak uygulanan nesfatin-1'in kardiyovasküler etkilerinde merkezi kolinerjik muskarinik ve nikotinik reseptörlerinin aracılığını belirlemek için nesfatin-1 (200 pmol; s.y.v.) veya tuzlu su (5 µl s.y.v.) tedavisinden 10 dakika önce, muskarinik reseptör antagonisti atropin (10 µg; s.y.v.) veya nikotinik reseptör antagonisti mekamilamin (50 µg; s.y.v.) veya kontrol amaçlı tuzlu su (5 µl; s.y.v.) ön tedavisi ayrı ayrı yapıldı ve ön tedavi sonrası 10 dakika tedavi sonrası ise bir saat süre ile kan basıncı ve kalp atım sayısı kayıtları

alındı.

3.7 Asetilkolin ve Kolin Analizi

ACh ve Ch, elektrokimyasal dedektöre sahip yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) sisteminde ölçüldü. HPLC sisteminde ACh ve Ch ölçümü için, mobil fazın sistemde hareketini sağlayan izokratik özelliğe sahip bir pompa kullanıldı (Hitachi L2130, Japon). Mikrodiyaliz çalışması sonucu elde edilen örnekler, 20 µl'lik enjeksiyon ünitesine (Rheodyne 7725i) 10 µl olarak enjekte edildi. Sistem içerisinde örneklerin taşınmasını sağlayan mobil faz, fosfat buffer solüsyonu (0,05 mmol/l Na₂HPO₄, pH: 8,5) içerisine bakteriyostatik etkiye sahip kathon ilave edilerek hazırlandı. Mobil fazın sistemdeki akış hızı 1 ml / dakikaya ayarlandı. ACh ve Ch piklerinin tanımlanabilmesi için, ACh 18,1 mg ve Ch 13,9 mg (Sigma-Aldrich Co., Germany) tartılıp 1 ml kathonlu suda çözüldü ve oluşturulan bu çözeltiler ACh ve Ch 1 pmol/µl olacak şekilde sulandırıldı. Böylece istenilen ACh ve Ch standartları hazırlandı. Standartlar sisteme 10 µl olarak enjekte edildi ve ölçümler için gerekli referans standart pikler elde edildi. HPLC sisteminde, içerisinde AChE ve Ch oksidaz enzimleri bulunan ve bu sayede ACh ve Ch'i H₂O₂'e dönüştüren immobilize- enzim kolonu (IMER) kullanıldı (Bioanalytical Systems, BASi, IN, USA). PH'den alınan diyalizatlardaki ekstraselüler ACh ve Ch miktarlarının tayini için kolon, kolon fırını içerisinde 24 °C' ye ayarlandı. Kolon içerisindeki ACh ve Ch'in enzimatik aktiviteye bağlı kimyasal değişimi nedeniyle oluşan H₂O₂ iyonlarının elektrokimyasal olarak belirlenebilmesi için platin elektrod kullanıldı (Antec Leyden Ltd., The Netherlands) ve platin elektrodun potansiyeli 500 mV olarak ayarlandı. Referans elektrod olarak ise Ag/AgCl elektrod kullanıldı. Kromatogram görüntülerinin analizi için Agilent EZChrom Elite (Agilent Technologies, Inc., CA,USA) programı kullanıldı. Bütün örnekler için ikişer kez ölçüm yapıldı ve mikrodiyaliz problemlerinin recovery oranını belirlemek için 3 mikrodiyaliz probu, ACh ve Ch standartlarına daldırılarak mikrodiyaliz çalışmasındaki gibi örnekler toplandı ve elde edilen örneklerden yapılan ölçüm sonuçlarına göre problemlerin geri kazanım oranlarının % 80 olduğu belirlendi. Diyalizat örnekleri sisteme verildikten sonra, içerisindeki ACh'in kolondan çıkıp dedektörde algılanması için geçen süre 4 dakika, Ch için ise bu sürenin 6 dakika olduğu görüldü

(Şekil 9). Sonuçlar oluşan pik alanlarına göre değerlendirilerek, PH'den alınan örneklerdeki ACh ve Ch miktarları "pmol" cinsinden hesaplandı.



Şekil 9. Diyalizat örneklerinden HPLC'de ölçülen ACh ve Ch'in kromotogram görüntüsü. A, standarttan ACh piki; B, standarttan Ch piki; C, diyalizattan ACh piki; D, diyalizattan Ch piki.

3.8 İlaçlar

Çalışmada kullanılan nesfatin-1, atropin ve mekamilamin Sigma'dan (Sigma-Aldrich Co. Deisenhofen, Germany) satın alındı. Tüm ilaçlar deney günü taze olarak izotonik tuzlu suda sulandırıldı. Bu amaçla kontrol grubu enjeksiyonlarında izotonik tuzlu su kullanıldı.

3.9 İstatistiksel Değerlendirme

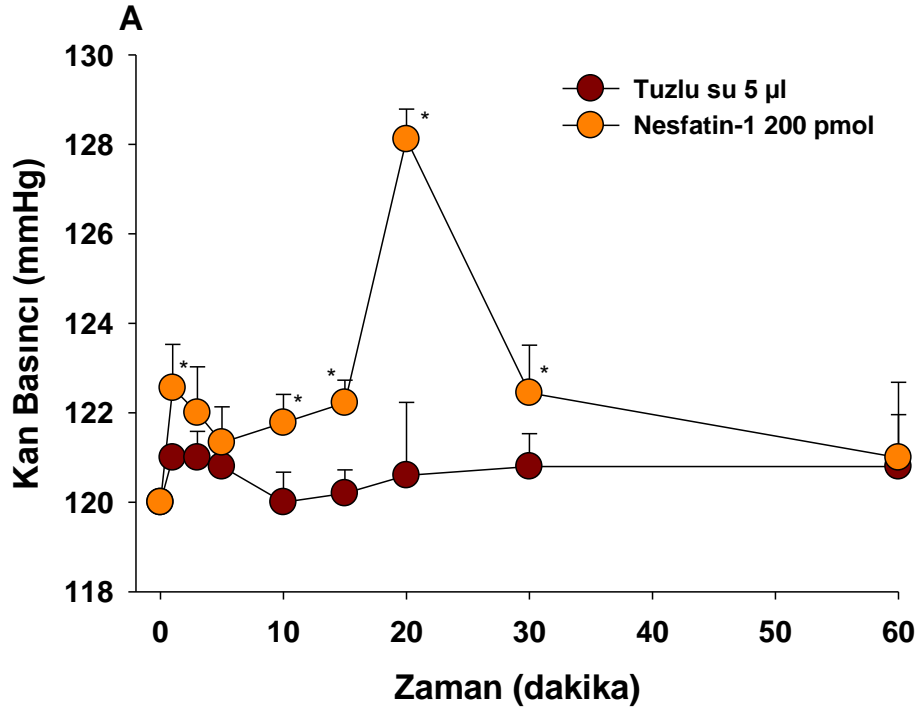
Veriler, 7 sıçanın ortalama \pm standart hatası şeklinde verildi ya da gösterildi. İstatistiksel değerlendirmeler iki yönlü tekrarlanan RM-ANOVA'yı takiben, *Bonferroni* test ile yapıldı. p'nin 0,05'den küçük olduğu değerler istatistiki olarak anlamlı sayıldı.

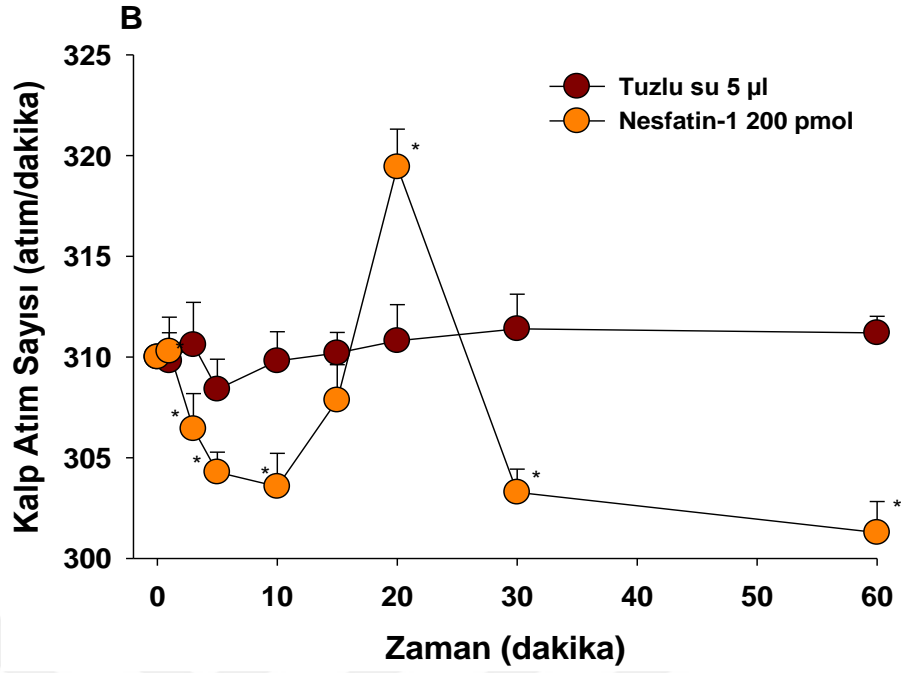
4.BULGULAR

4.1 Merkezi Olarak Uygulanan Nesfatin-1'in Kardiyovasküler Etkileri

Sıçanlarda merkezi yolla uygulanan nesfatin-1'in kardiyovasküler etkilerini göstermek amacıyla nesfatin-1 (200 pmol) veya % 0,9'luk tuzlu su (5 µl) s.y.v. yol ile sıçanlara enjekte edildi. İlaç veya tuzlu su enjekte edilmeden önce kardiyovasküler parametrelerin kaydı alındı. Nesfatin-1 ortalama kan basıncında istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden oldu ($p<0,05$) (Şekil 10 A). Nesfatin-1'in bu pressör etkisi, ilaç verildikten sonraki ilk dakikada başladı ve 20. dakikada en yüksek değerine ulaştı (Şekil 10 A).

Merkezi yolla uygulanan nesfatin-1 kalp atım sayısı üzerinde ise bradikardik ve taşikardik fazlar içeren bir etki oluşturdu (Şekil 10 B). Nesfatin-1 ilk 10 dakika bradikardik etki yaratırken 20. dakikada sıçanlarda taşikardik ve 30. dakikada bradikardik olarak devam eden bir etkiye neden oldu (Şekil 10 B).

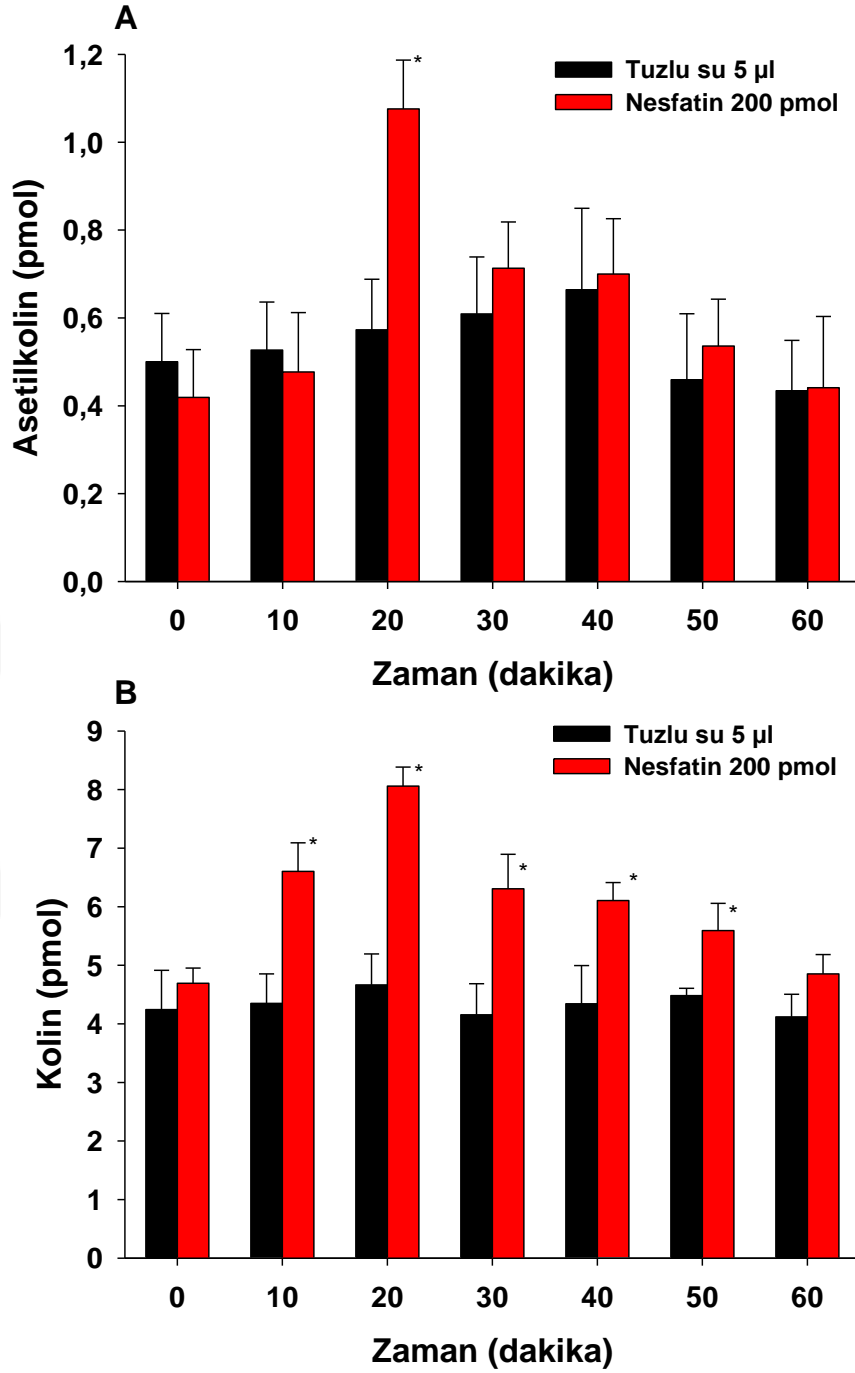




Şekil 10. Merkezi olarak uygulanan Nesfatin-1'in kardiyovasküler etkisi. Sıçanların kontrol kan basıncı ve kalp atım sayısı kayıtları alındıktan sonra, Nesfatin-1 (200 pmol; s.y.v.) ya da tuzlu su (5 µl; s.y.v.) enjekte edildi (dakika 0) ve 60 dakika boyunca kan basıncı (A) ve kalp atım sayısı (B) kaydı alındı. Değerler 7 sıçanın ortalama \pm standart hatası şeklinde verilmiştir. İstatistiksel $p < 0.05$, tuzlu su grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir.

4.2. Merkezi Olarak Uygulanan Nesfatin-1'in Posterior Hipotalamustan Ekstraselüler Asetilkolin ve Kolin Çıkışına Etkisi

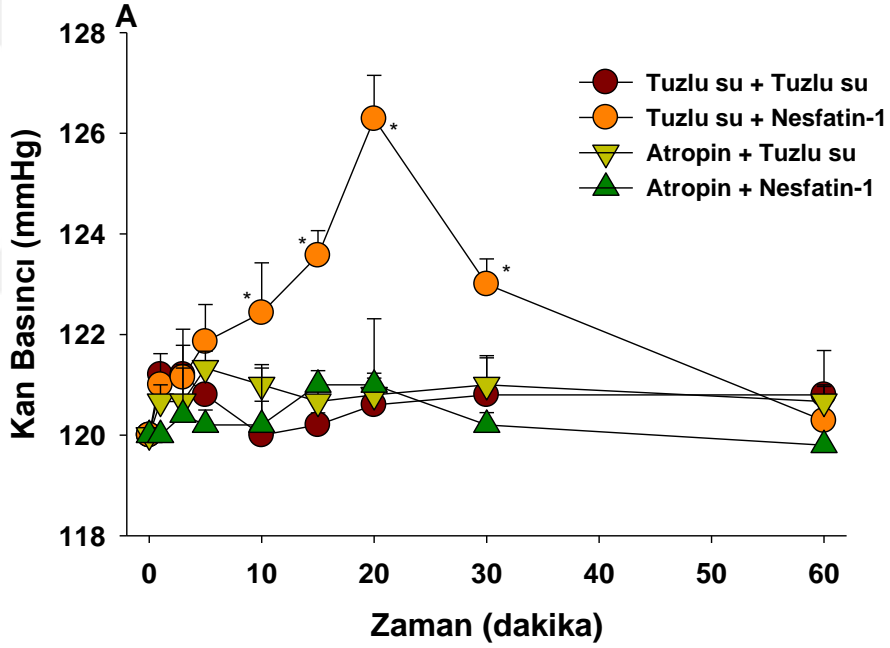
Mikrodiyaliz çalışması ile kardiyovasküler düzenlemede önemli bir bölge olan, kolinerjik nöronların varlığının bilindiği PH bölgesinde, merkezi yolla uygulanan nesfatin-1 (200 pmol; s.y.v) veya kontrol amaçlı % 0,9'luk tuzlu suyun (5 µl s.y.v.) ekstraselüler ACh ve Ch çıkışına etkisi araştırıldı. Sıçanlara mikrodiyaliz problemlerinin yerleştirilmesini takiben 10'ar dakika aralıklarla 3 adet bazal örnek (20 µl) toplandı. Toplanan bazal örneklerde sıçanların posterior hipotalamik ekstraselüler ACh ve Ch miktarları mikrodiyaliz problemlerinin % 80'lik geri kazanım oranları da göz önüne alınarak sırasıyla $0,402 \pm 0,16$ ve $4,23 \pm 0,55$ pmol olarak ölçüldü. Nesfatin-1 enjeksiyonu sırasında ve sonrasında 10'ar dakika aralıklarla diyalizatların toplanmasına devam edildi. Nesfatin-1 (200 pmol; s.y.v.) enjeksiyonu posterior hipotalamik ekstraselüler ACh ve Ch konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış oluşturdu ($p < 0,05$) (Şekil 11 A ve Şekil 11 B). Merkezi olarak nesfatin-1 enjeksiyonundan sonra ACh ve Ch çıkışlarında sırasıyla 20 dakika sonra % 72,8 (Şekil 11 A) ve % 87,7 oranında (Şekil 11 B) artış görüldü.

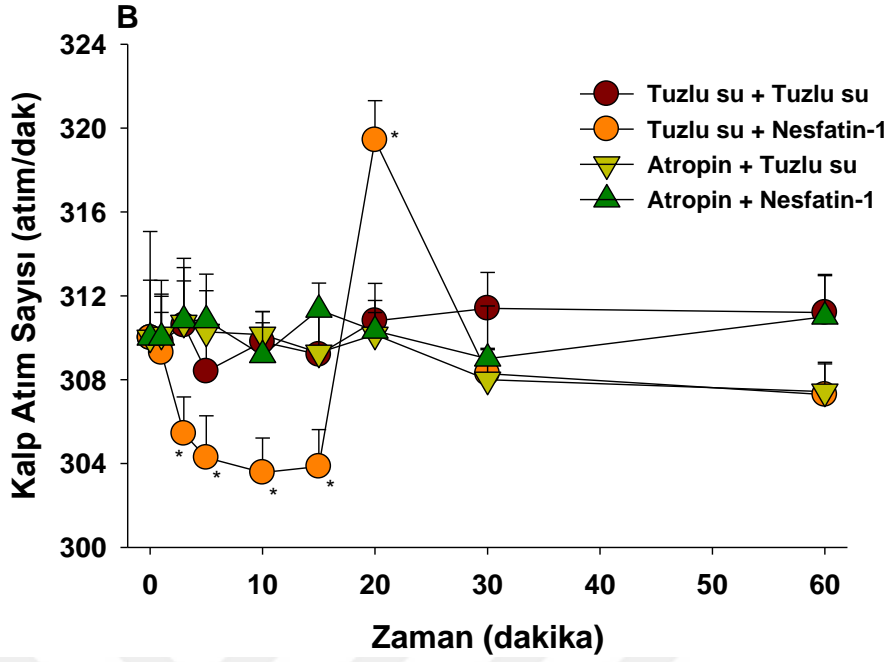


Şekil 11. Merkezi olarak uygulanan Nesfatin-1'in posterior hipotalamik ekstraselüler ACh (A) ve Ch (B) çıkışına etkisi. Sıçanlarda Nesfatin-1 (200 pmol) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl) enjeksiyonu s.y.v. yol ile yapıldı. Enjeksiyondan önce ve sonra 10'ar dakika aralıklarla diyalizat örnekleri toplam 20 µl olacak şekilde toplandı. 30 dakikalık stabilizasyon periyodu esnasında PH'deki ekstraselüler ACh ve Ch seviyelerinin bazal değere ulaştığını görebilmek için diyalizat örnekleri HPLC'de ölçüldü ve üç örneğin ortalaması ACh ve Ch'in bazal değeri olarak hesaplandı (0. dakika), Nesfatin-1 (200 pmol) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl) enjeksiyonu sonrası HPLC'de ACh ve Ch ölçümleri yapıldı (10. Dakika, ilaç enjeksiyonları sonrasındaki ilk diyalizat örneğini göstermektedir.) Değerler 7 sıçanın ortalama ± standart hatası şeklinde verilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler 2 yönlü RM-ANOVA'yı takiben Benferroni testi ile yapıldı. *, $p < 0,05$, tuzlu su grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir.

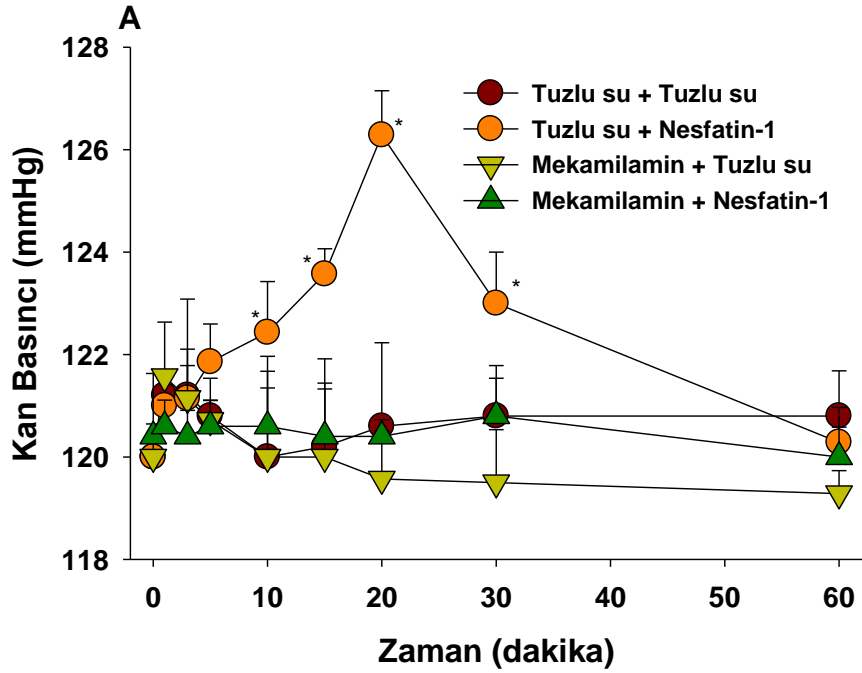
4.3 Kolinerjik Muskarinik ve Nikotinik Reseptör Antagonisti Ön Tedavisinin Nesfatin-1'in Oluşturmuş Olduğu Kardiyovasküler Etkilerdeki Aracılığı

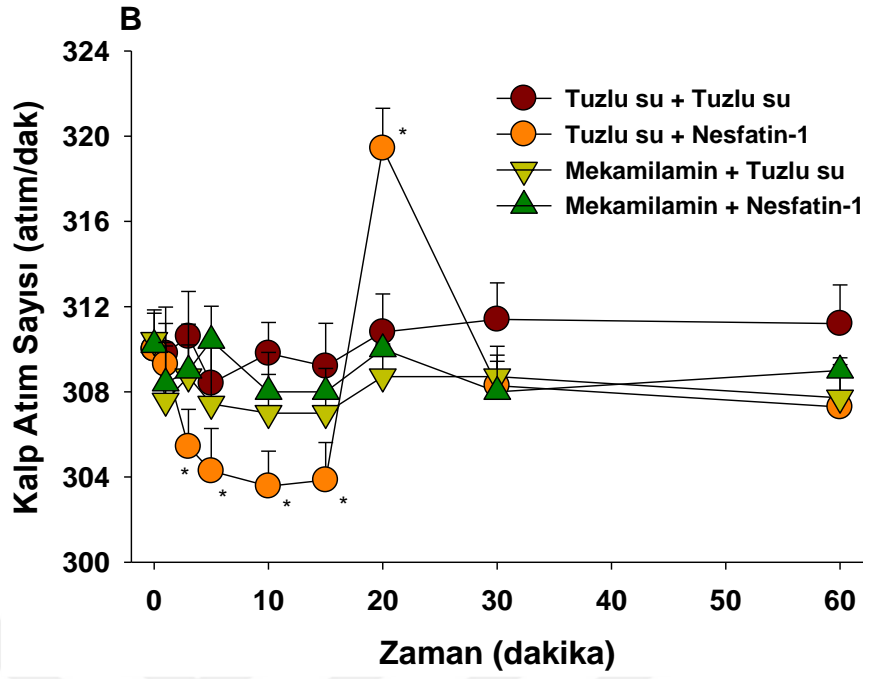
Sıçanlarda merkezi olarak uygulanan nesfatin-1'in kardiyovasküler sistem üzerindeki etkilerinde kolinerjik reseptörlerin aracılığını araştırmak için sıçanlara nesfatin-1 (200 pmol; s.y.v.) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl; s.y.v.) uygulamasından 10 dakika önce farklı dozlarda kolinerjik muskarinik reseptör antagonisti atropin (10 µg; s.y.v.) veya kolinerjik nikotinik reseptör antagonisti mekamilamin (50 µg; s.y.v.) ön tedavisi uygulandı. Atropin ve mekamilamin ön tedavisi nesfatin-1'in oluşturduğu pressör etkiyi baskıladı (Şekil 12 A, 13 A). Atropin ve mekamilamin ön tedavisi sonucu kalp atım sayılarında ise yine nesfatin-1'in yaratmış olduğu taşikardik ve bradikardik etkiler bloke edilmiştir ($p < 0,05$) (Şekil 12 B, 13 B).





Şekil 12. Atropin ön tedavisinin Nesfatin-1' in oluşturduğu kardiyovasküler etkilerdeki aracılığı. Stabilizasyon periyodunun sonunda atropin (10 µg) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl) sıçanlara s.y.v. yolla enjekte edilerek ön tedavileri yapıldı. Ön tedaviden 10 dakika sonra sıçanlara s.y.v. yolla nesfatin-1 (200 pmol) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl) uygulandı. Kardiyovasküler parametreler, nesfatin-1 veya % 0,9 tuzlu su tedavisinden sonra 60 dakika boyunca kaydedildi. Değerler 7 sıçanın ortalama ± standart hatası şeklinde verilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler iki yönlü RM-ANOVA'yı takiben *Bonferroni* testi ile yapıldı. *, $p < 0,05$, "Tuzlu su + Tuzlu su", "Atropin + Tuzlu su" ve "Atropin + Nesfatin-1" grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir.





Şekil 13. Mekamilamin ön tedavisinin Nesfatin-1'in oluşturduğu kardiyovasküler etkilerdeki aracılığı. Stabilizasyon periyodunun sonunda mekamilamin (50 µg) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl) sıçanların s.y.v. yolla enjekte edilerek ön tedavileri yapıldı. Ön tedaviden 10 dakika sonra sıçanlara s.y.v. yolla nesfatin-1 (200 pmol) veya % 0,9 tuzlu su (5 µl) uygulandı. Kardiyovasküler parametreler, nesfatin-1 veya % 0,9 tuzlu su tedavisinden sonra 60 dakika boyunca kaydedildi. Değerler 7 sıçanın ortalama ± standart hatası şeklinde verilmiştir. İstatistiksel değerlendirmeler iki yönlü RM-ANOVA'yı takiben Bonferroni testi ile yapıldı. *, p<0,05, "Tuzlu su + Tuzlu su", "Mekamilamin + Tuzlu su" ve "Mekamilamin + Nesfatin-1" grubuna göre anlamlı farkı göstermektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmanın sonuçları, nesfatin-1'in merkezi yolla enjeksiyonunun normal kan basıncına sahip sıçanlarda kan basıncını yükselttiğini ve kalp atım sayısını önce azalttığını ve sonrasında ise artışa neden olduğunu ve ayrıca s.y.v.'e uygulanan nesfatin-1'in ekstraselüler posterior hipotalamik ACh ve Ch seviyelerinde artışa neden olduğunu göstermektedir. Merkezi kolinerjik muskarinik reseptör antagonisti olan atropin ve nikotinik reseptör antagonisti olan mekamilamin nesfatin-1 tarafından uyarılan kardiyovasküler etkileri tamamen bloke etti.

Normotansif sıçanlarda, s.y.v.'e enjekte edilen nesfatin-1'in kardiyovasküler etkilerine bakıldığında; hızlı fakat kısa süreli olarak geliştiği gözlemlendi. İlk dakikalarda başlayan etki, enjeksiyonun 20. dakikasında en yüksek seviyesine ulaştı ve etki tam 60 dakika boyunca devam etti. Normotansif hayvanlarda, kullanılan dozda merkezi yolla uygulanan nesfatin-1, kan basıncında yaklaşık 8 mmHg±1 artışa neden oldu. Yine normotansif hayvanlarda serebral yan ventriküle enjekte edilen nesfatin-1, kan basıncı etkilerine benzer şekilde hızlı ve kısa süreli olarak kalp atım sayısında ilk 10 dakika boyunca bradikardik etki yaratırken 20. dakikada sıçanlarda taşikardik ve 30. dakikada bradikardik olarak devam eden bir etkiye neden oldu. Merkezi olarak uygulanan nesfatin-1'in oluşturduğu kalp atım sayısı cevabı kan basıncı etkisi ile zamansal olarak da uyumludur. Nesfatin-1'in oluşturduğu bradikardik yanıt muhtemelen nesfatin-1'in oluşturduğu, ilk dakikalarda gözlenen kan basıncındaki artış etkisine ikincil yanıt olarak barorefleks mekanizmasının aktive olması sonucu gözlenmiş olabilir. Nesfatin-1 uygulanmasından sonra güçlü olarak gözlemlenen taşikardik yanıt ise nesfatin-1'in merkezi sinir sisteminde kardiyovasküler refleks merkezlerini aktifleştirmesi sonucu eş zamanlı olarak güçlü taşikardik yanıtın oluşu ve buna bağlı olarak da daha da güçlenmiş kan basıncı artışı yanıtı olarak düşünülebilir.

Şimdiye kadar yapılan çalışmalar hem endojen hem de dışarıdan ekzojen olarak uygulanan nesfatin-1'in merkezi kardiyovasküler kontrol açısından önemli roller üstlenebileceğini düşündürmektedir. Nesfatin-1'in kardiyovasküler kontrol

açısından önemli beyin bölgeleri olan hipotalamusun arkuat nükleus (Maejima ve ark., 2009), paraventriküler nükleus (Darambazar ve ark., 2015), lateral hipotalamus ve supraoptik nükleus (Foo ve ark., 2008; Oh-I ve ark., 2006) bölgeleri ve yine önemli kardiyovasküler düzenleme bölgeleri olan dorsal motor vagus çekirdeği (Foo ve ark., 2008), amigdala (Kukkis ve Ferguson, 2014), nücleus ambiguus ve NTS'de (Bundzikova-Osacka ve ark., 2015; Foo ve ark., 2008) varlığının rapor edilmiş olması, endojen nesfatin-1'in merkezi kardiyovasküler düzenlemede önemli rolleri olabileceğine dair delilleri güçlendirmektedir. Bununla birlikte ekzojen nesfatin-1 etkinliği açısından daha önce yapılan birçok çalışmada, merkezi olarak enjekte edilen nesfatin-1'in normal kan basıncına sahip hayvanlarda güçlü bir kardiyovasküler etki oluşturduğu rapor edilmiştir. Serebral yan ventriküle enjekte edilen nesfatin-1'in kan basıncı üzerinde arttırıcı ve kalp atım sayısında ise bradikardik bir yanıt oluşturduğu gösterilmiştir (Tanida ve Mori, 2011; Yılmaz ve ark., 2015; Yosten and Samson, 2009, 2010, 2014). Ayrıca nesfatin-1 kardiyovasküler kontrol açısından önemli bir beyin sapı bölgesi olan NTS'ye mikro enjekte edildiğinde hem kan basıncında hem de kalp atım sayısında arttırıcı bir etki oluşturduğu da bilinmektedir (Mimee ve ark., 2012). Nesfatin-1'in merkezi enjeksiyonlarının hem normotansif hem de hipotansif koşullarda kan basıncında pressör yanıtlar oluşturduğunu ve oluşan bu pressör yanıtların, kalp atımı üzerinde normotansif sıçanlarda bradikardik, hipotansif sıçanlarda ise taşikardik yanıtlara neden olduğunu yakın zamanda rapor ettik (Yılmaz ve ark., 2015). Aynı çalışmada, merkezi nesfatin-1 enjeksiyonu sonrası, plazma katekolamin ve vazopressin miktarlarında ve renin aktivitesinde artışların olduğunu da gösterdik (Yılmaz ve ark., 2015). Bu sonuçlar merkezi olarak uygulanan nesfatin-1'in kardiyovasküler etkilerine periferik mekanizma olarak vazopressinerjik, sempatoadrenerjik ve renin-anjiyotensin sistemlerinin aracılık edebileceğini düşündürmektedir. Merkezi olarak uygulanan nesfatin-1'in kardiyovasküler etkilerinin periferik olarak nonspesifik α -adrenerjik antagonist olan fentolamin ön tedavisi ile geriletilmesi (Yosten and Samson, 2009) en azından nesfatin-1'in kardiyovasküler etkilerini sempatoadrenerjik sistemi aktive ederek gösterebileceği düşüncesini güçlendirmektedir. Daha önceden gerçekleştirmiş olduğumuz çalışmaların sonuçları nesfatin-1'in merkezi kontrol açısından oldukça önemli bir molekül olduğunu doğrular niteliktedir ve bununla birlikte, bu çalışmada elde

ettiğimiz merkezi olarak enjekte edilen nesfatin-1 yanıt olarak alınan kardiyovasküler yanıtı doğrular niteliktedir.

Çalışmanın sonuçları literatürde bir ilk olarak nesfatin-1 tarafından oluşturulan kardiyovasküler etkilerde merkezi kolinerjik sistemin aracılığını hem mikrodializ hem de hemodinamik çalışmalar açısından göstermektedir. Nesfatin-1 kardiyovasküler düzenleme açısından önemli bir beyin bölgesi olan PH'den ekstraselüler ACh seviyesini % 72,8 ve Ch seviyesini % 87,7 oranında arttırmıştır. PH, kardiyovasküler kontrol açısından önemli bir bölge olmasının yanı sıra yoğun kolinerjik nöronları barındıran (Rao ve ark., 1987 ve Ruggiero ve ark., 1990) ve yine nesfatin-1 nöronları içeren diğer hipotalamik çekirdekler olan arkuat nükleus (Maejima ve ark., 2009), paraventriküler nükleus (Darambazar ve ark., 2015), lateral hipotalamus ve subraoptik nükleus'dan (Foo ve ark., 2008; Oh-I ve ark., 2006) yoğun nöronal projeksiyonlar alan bir bölgedir. PH'den yapılan mikrodializ çalışması sonuçları ile nesfatin-1'in kardiyovasküler etki profili zamansal olarak birbirini ile uyumlu idi ve etkiyi karşılaştırabilmemize de olanak sağladı. Çünkü merkezi olarak nesfatin-1 enjeksiyonundan sonra ekstraselüler posterior hipotalamik ACh ve Ch seviyesindeki maksimum artış enjeksiyondan sonraki ilk 20 dakika içerisinde elde edildi ve aynı şekilde nesfatin-1'in oluşturduğu maksimum kardiyovasküler etkiler enjeksiyondan sonraki 20. dakika da elde edildi. Ayrıca merkezi olarak, kolinerjik muskarinik reseptör antagonisti atropin ve kolinerjik nikotinik reseptör antagonisti mekamilamin ön tedavisi tamamen s.y.v.'e uygulanan nesfatin-1 tarafından oluşturulan kardiyovasküler etkileri engelledi. Şimdiye kadar yayınlanan raporların hiç birinde ne periferik ne de merkezi olarak bir sistemin düzenlenmesinde nesfatin-1 ve kolinerjik sistem etkileşimine dair bir delil bulunmamaktadır. Yine şimdiye kadar yapılan çalışmalarda nesfatin-1'in hem kardiyovasküler hem de diğer etkilerine aracılık eden kendi reseptörü de tanımlanamamıştır. Bununla birlikte nesfatin-1'in kardiyovasküler etkilerine aracılık eden bazı sistem ve reseptörlerin varlığına dair raporlar bulunmaktadır. Nesfatin-1'in kardiyovasküler etkilerine merkezi melanokortinerjik ve oksitosinerjik sistemlerin ve yine kortikotropin salgılatıcı hormonun katkıda bulunduğu bilinmektedir (Tanida ve Mori, 2011; Yosten ve Samson, 2009, 2010, 2014). Çünkü bu çalışmalarda merkezi olarak uygulanan nesfatin-1 tarafından oluşturulan kardiyovasküler etkiler merkezi

MCR3/4 reseptör antagonisti olan SHU9119 (Tanida ve Mori, 2011; Yosten ve Samson, 2009), oksitosin reseptör antagonisti ornithine vasotosin (Yosten ve Samson, 2010) ve/veya kortikotropin salgılatıcı hormon reseptör antagonisti astressin2B (Yosten ve Samson, 2014) ön tedavisi ile tamamen bloke edildiği bildirilmiştir.

Merkezi sinir sisteminde geniş bir dağılım gösteren kolinerjik sistem, ağrının hissedilmesi, öğrenme, beden ısısının düzenlenmesi, gıda alımı, sıvı dengesi ve kardiyovasküler sistemin düzenlenmesi gibi çok sayıda önemli mekanizmanın kontrolünde ve düzenlenmesinde rollere sahiptir. Başta hipotalamus olmak üzere kardiyovasküler sistemin kontrolünde rol alan birçok beyin bölgesinde hem kolinerjik nörotransmitter maddeler olan ACh ve Ch'in hem de kolinerjik muskarinik ve nikotinik reseptörlerin varlığı tespit edilmiştir. (Nees, 2015). Laboratuvarımızda yapılmış çalışmalara göre merkezi nesfatin-1'in oluşturduğu etkilere benzer şekilde (Yılmaz ve ark., 2015) merkezi yolla kolinerjik ajanların uygulanması normatansif hayvanlarda pressör ve bradikardik bir etki oluştururken (Savci ve ark., 2002), hipotansif hayvanlarda renal, mezenterik ve abdominal aorta gibi hayati organları kanlandıran damarların kan akımında da artışa neden olarak pressör ve taşikardik bir etki oluşturmaktadır (Jochem ve ark., 2010). Merkezi olarak uygulanan kolinerjik ajanların bu kardiyovasküler etkilerine merkezi olarak kolinerjik nikotinik reseptörler aracılık ederken (Savci ve ark., 2002) periferde ise nesfatin-1'in etkilerine aracılık ettiği gibi (Yılmaz ve ark., 2015) katekolaminerjik, vazopressinerjik ve renin-anjiyotensin sisteminin aracılık ettiği de bilinmektedir (Arslan ve ark., 1991; Ulus ve ark., 1995). Merkezi kolinerjik sistemin kardiyovasküler etkiler oluştururken diğer merkezi kardiyovasküler etkinliğe sahip sistemler ile de etkileşimde olduğu da rapor edilmiştir. Merkezi kolinerjik ajanların uygulanması ile elde edilen kardiyovasküler yanıtlara, merkezi histaminerjik (Jochem ve ark., 2010; Yalçın ve ark., 2009) ve prostaglandinerjik (Yalçın ve ark., 2005; 2006; Topuz ve ark., 2014) gibi sistemlerin hem hipotalamus gibi önemli kardiyovasküler düzenleme bölgelerinde ekstraselüler seviyelerini artırarak hem de reseptörleri ile aracılık ettiği bilinmektedir.

Sonuç olarak, s.y.v. uygulanan nesfatin-1 normatansif uyanık sıçanlarda pressör ve bradikardik/taşikardik fazlardan oluşan bir kardiyovasküler yanıt ortaya koymaktadır. Sonuçlarımız merkezi sinir sisteminden kardiyovasküler sistemin

düzenlemesinde nesfatinerjik ve kolinerjik sistem arasında bir etkileşim olduğunu göstermektedir. Çünkü serebral yan ventriküle nesfatin-1 enjeksiyonu posterior hipotalamik ACh ve Ch seviyesini arttırmakta ve merkezi kolinerjik hem nikotink hem de muskarinik reseptörlerin aktivasyonu s.y.v. enjekte edilen nesfatin-1'e alınan kardiyovasküler yanıtı aracılık etmektedir.



6. KAYNAKLAR

Angelone T, Filice E, Pasqua T et al (2013) Nesfatin-1 as a novel cardiac peptide: identification, functional characterization, and protection against ischemia/reperfusion injury. *Cellular Molecular Life Sciences* 70: 495–509.

Arslan BY, Ulus IH, Savcı V (1991) Effects of intracerebroventricular injected choline on cardiovascular functions and sympathoadrenal activity. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 17: 814-821.

Ayada C, Turgut G, Turgut S (2015a) The effect of nesfatin-1 on heart L-type Ca^{+2} channel α_1c subunit in rats subjected to chronic restraint stress. *Bratisavske Lekarske Listy* 116: 236–329.

Ayada C, Turgut G, Turgut S et al (2015b) The effect of chronic peripheral nesfatin-1 application on blood pressure in normal and chronic restraint stressed rats: related with circulating level of blood pressure regulators. *General Physiology and Biophysics* 34: 81-88.

Aydin S (2013) Role of NUCB2/nesfatin-1 as a possible biomarker. *Current Pharmaceutical Design* 19: 6986-6992.

Bastien M, Poirier P, Lemieux I et al (2013) Overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease. *Progress in Cardiovascular Diseases* 56: 369–381.

Bernatova I (2014) Endothelial dysfunction in experimental models of arterial hypertension: cause or consequence? *Biomedical Research* 2014: ID598271.

Bhargava KP, Jain IP, Saxena AK et al (1978) Central adrenoreceptors and choline receptors in cardiovascular control. *British Journal of Pharmacology* 63: 7-15.

Billington CJ, Epstein LH, Goodwin NJ et al (2000) Overweight, obesity, and health risk. National Task Force on the Prevention and Treatment of Obesity. *Archives Internal Medicine* 160: 898-904.

Bonner TI, Young AC, Brann MR et al (1988) Cloning and expression of the human and rat M5 muscarinic receptor genes. *Neuron* 1: 403-413.

Bonnet MS, Ouelaa W, Tillement V et al (2013) Gastric distension activates NUCB2/nesfatin-1-expressing neurons in the nucleus of the solitary tract. *Regulatory Peptides* 187: 17-23.

Boutsikou T, Briana DD, Boutsikou M et al (2013) Cord blood nesfatin-1 in large for gestational age pregnancies. *Cytokine* 61: 591–594.

Boyd WD, Graham-White J, Blackwood G et al (1977) Clinical effects of choline in Alzheimer senile dementia. *Lancet* 2: 711.

Brailoiu GC, Dun SL, Brailoiu E et al (2007) Nesfatin-1: distribution and interaction with a G protein-coupled receptor in the rat brain. *Endocrinology* 148: 5088–5094.

Brailoiu GC, Deliu E, Tica AA et al (2013) Nesfatin-1 activates cardiac vagal neurons of nucleus ambiguus and elicits bradycardia in conscious rats. *Journal of Neurochemistry* 126: 739–748.

Brezenoff HE, Carney K, Buccafusco JJ (1982) Potentiation of the carotid artery occlusion reflex by a cholinergic system in the posterior hypothalamic nucleus. *Life Sciences* 30: 391-400.

Brezenoff HE, Xiao YF (1989) Acetylcholine in the posterior hypothalamic nucleus is involved in the elevated blood pressure in the spontaneously hypertensive rat. *Life Sciences* 45: 1163-1170.

Buccafusco JJ, Brezenoff HE (1979) Pharmacological study of a cholinergic mechanism within the rat posterior hypothalamic nucleus which mediates a hypertensive response. *Brain Research* 165: 295-310.

Bundzikova-Osacka J, Ghosal S, Packard BA (2015) Role of nucleus of the solitary tract noradrenergic neurons in post-stress cardiovascular and hormonal control in male rats. *Stress* 18: 221–232.

Cabadak H (2006) Muskarinik asetilkolin reseptörlerinin dağılımı ve ilişkili sinyal ileti yolları. *Türk Biyokimya Dergisi* 31: 141-150.

Cansev M, Yılmaz MS, Ilcol YO et al (2007) Cardiovascular effects of CDP-choline and its metabolites: involment of peripheral autonomic nervous system. *European Journal of Pharmacology* 577: 129-142.

Cappello S, Angelone T, Tota B, et al (2007) Human recombinant chromogranin a-derived vasostatin-1 mimics preconditioning via an adenosine/nitric oxide signaling mechanism. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* 293: 719–727.

Caulfield MP, Birdsall NJM (1998) International union of pharmacology XVII. classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacological Reviews* 50: 279-290.

Chung Y, Jung E, Kim H (2013) Expression of nesfatin-1/NUCB2 in fetal, neonatal and adult mice. *Balsaenggwa Saengsig* 17: 461-467.

Collins S (2014) A heart-adipose tissue connection in the regulation of energy metabolism. *Nature Reviews Endocrinology* 10: 157–163.

Colmers WF (2007) Less fat with nesfatin-1. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 18: 131-132.

Criscione L, Reis DJ, Talman WT (1983) Cholinergic mechanisms in the nucleus tractus solitarii and cardiovascular regulation in the rat. *Brain Research* 88: 47-55.

- Dale HH (1914) The action of certain esters and ethers of choline, and their relation to muscarine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 6: 147-190.
- Darambazar G, Nakata M, Okada T et al (2015) Paraventricular NUCB2/nesfatin-1 is directly targeted by leptin and mediates its anorexigenic effect. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 456: 913-918.
- Feijo'o-Bandi'n S, Rodr'iguez-Penas D, Garc'a-Ru'a V et al (2013) Nesfatin-1 in human and murine cardiomyocytes: synthesis, secretion, and mobilization of GLUT-4. *Endocrinology* 154: 4757-4767.
- Foo K, Brismar H, Broberger C (2008) Distribution and neuropeptide coexistence of nucleobindin-2 mRNA/nesfatin-like immunoreactivity in the rat CNS. *Neuroscience* 156: 563-579.
- Garcia-Galiano D, Navarro VM, Gaytan F et al (2010a) Expanding roles of NUCB2/nesfatin-1 in neuroendocrine regulation. *Journal of Molecular Endocrinology* 45: 281-290.
- Garcia-Galiano D, Navarro VM, Roa J et al (2010b) The anorexigenic neuropeptide, nesfatin-1, is indispensable for normal puberty onset in the female rat. *Journal of Neuroscience* 30: 7783-7792.
- Garcia-Galiano D, Pineda R, Ilhan T et al (2012) Cellular distribution, regulated expression, and functional role of the anorexigenic peptide, NUCB2/nesfatin-1, in the testis. *Endocrinology* 153: 1959-1971.
- Goebel M, Stengel A, Wang L, et al (2009) Restraint stress activates nesfatin-1-immunoreactive brain nuclei in rats. *Brain Research* 1300: 114-124.
- Goebel M, Stengel A, Wang L et al (2009) Nesfatin-1 immunoreactivity in rat brain and spinal cord autonomic nuclei. *Neuroscience Letter* 452: 241-246.
- Goebel-Stengel M, Wang L, Stengel A et al (2011) 'Localization of nesfatin-1 neurons in the mouse brain and functional implication. *Brain Research* 1396: 20-34.
- Goebel-Stengel M, Wang L (2013) Central and peripheral expression and distribution of NUCB2/nesfatin-1. *Current Pharmaceutical Design* 19: 6935-6940.
- Gonzalez R, Tiwari A, Unniappan S (2009) Pancreatic beta cells colocalize insulin and nesfatin immunoreactivity in rodents. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 381: 643-648.
- Gotoh K, Masaki T, Chiba S et al (2013) Nesfatin-1, corticotropin-releasing hormone, thyrotropin-releasing hormone, and neuronal histamine interact in the hypothalamus to regulate feeding behavior. *Journal of Neurochemistry* 124: 90-99.
- Gotti C, Zoli M, Clementi F (2006) Brain nicotinic acetylcholine receptors: native subtypes and their relevance. *Trends in Pharmacology* 27: 482-491.

- Hagiwara Y, Ohi M, Kubo T (2005) Cholinergic stimulation in the posterior hypothalamic nucleus activates angiotensin II-sensitive neurons in the anterior hypothalamic area of rats. *Brain Research Bulletin* 67: 203-209.
- Hofmann T, Stengel A, Ahnis A et al (2013) NUCB2/nesfatin-1 is associated with elevated scores of anxiety in female obese patients. *Psychoneuroendocrinology* 38: 2502–2510.
- Hofmann T, Ahnis A, Elbelt U et al (2015) NUCB2/nesfatin-1 is associated with elevated levels of anxiety in anorexia nervosa. *Public Library of Science* 38: 2502-2510.
- İşbil- Büyükcoşkun N, Güleç G, Ozluk K (2001) Central injection of capropril inhibits the blood pressure response to intracerebroventricular choline. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 34: 815-820.
- İşbil- Büyükcoşkun N, Ilcol YO, Cansev M et al (2008) Central choline supresses plasma renin response to graded hemorrhage. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 35: 1023-1031.
- Jego S, Salvert D, Renouard L et al (2012) Tuberal hypothalamic neurons secreting the satiety molecule nesfatin-1 are critically involved in paradoxical (REM) sleep homeostasis. *Public Library of Science* 7, e52525.
- Jochem J, Savci V, Filiz N et al (2010) Involvement of the histaminergic system in cytidine 5'-diphosphocholine-induced reversal of critical haemorrhagic hypotension in rats. *Journal of Physiology and Pharmacology* 61: 37-43.
- Kang MJ, Koh HC (2007) Involment of guanylate cyclase in the cardiovascular response induced by adenosine A2B receptor stimulation in the posterior hypothalamus of the anesthetized rats. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical* 134: 55-60.
- Kim J, Chung Y, Kim H et al (2014) The tissue distribution of nesfatin-1/NUCB2 in Mouse. *Balsaeng'gwa Saengsig* 18: 301–309.
- Kolgazi M, Cantali-Ozturk C, Deniz R et al (2015) Nesfatin-1 alleviates gastric damage via direct antioxidant mechanisms. *Journal of Surgical Research* 193: 111-118.
- Krejci A, Michal P, Jakubik J et al (2004) Regulation of signal transduction at M2 muscarinic receptors. *Physiology Research* 53: 131-140.
- Kubo T, Misu Y (1981) Cardiovascular response to microinjection of physostigmine and choline into the dorsal medullary site of the rat. *Neuropharmacology* 20: 1091-1095.
- Kuksis M, Ferguson AV (2014) Cellular actions of nesfatin-1 in the subfornical organ. *Journal of Neuroendocrinology* 26: 237-246.
- Li XD, Buccafusco JJ (2004) Role of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors in the pressor response to intracerebroventricular injection of choline: blockade by amyloid

peptide A β 1-42. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 309: 1206-1212.

Lumsden NG, Khambata RS, Hobbs AJ (2010) C-type natriuretic peptide (CNP): cardiovascular roles and potential as a therapeutic target. *Current Pharmaceutical Design* 16: 4080–4088.

Maejima Y, Sedbazar U, Suyama S et al (2009) Nesfatin-1 regulated oxytocinergic signaling in the paraventricular nucleus causes anorexia through a leptin-independent melanocortin pathway. *Cell Metabolism* 10: 355-65.

Maejima Y, Shimomura K, Sakuma K et al (2013) Paraventricular nucleus nesfatin-1 neurons are regulated by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP). *Neuroscience Letter* 551: 39-42.

Martin JR (1992) Pressor response to posterior hypothalamic administration of carbachol is mediated by muscarinic M3 receptor. *European Journal of Pharmacology* 215: 83-91.

Martin JR (1996) Mechanisms of the cardiovascular response to posterior hypothalamic nucleus administration of carbachol. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 27: 891-900.

Mazza R, Gattuso A, Filice M et al (2015) Nesfatin-1 as a new positive inotrope in the goldfish (*Carassius auratus*) heart. *General and Comparative Endocrinology* 224: 160-167.

Merali Z, Cayer C, Kent P et al (2008) Nesfatin-1 increases anxiety- and fear-related behaviors in the rat. *Psychopharmacology* 201: 115–123.

Messer WS, Bohnett J, Stibbe J (1990) Evidence for preferential involvement of M1 muscarinic receptors in representational memory. *Neuroscience Letters* 116: 184-189.

Methvin JM, Martin JR (1998) Cardiovascular responses evoked by carbachol microinjection into the posterior hypothalamus involves ganglionic nicotinic and muscarinic mechanisms. *Journal of Autonomic Pharmacology* 18: 177-187.

Mimee A, Smith PM, Ferguson AV (2012) Nesfatin-1 influences the excitability of neurons in the nucleus of the solitary tract and regulates cardiovascular function. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 302: 1297-1304.

Moreau JM, Ciriello J (2013) Nesfatin-1 induces Fos expression and elicits dipsogenic responses in subfornical organ. *Behavioural Brain Research* 250: 343-350.

Nakata N, Manaka K, Yamamoto S et al (2011) Nesfatin-1 enhances glucose-induced insulin secretion by promoting Ca⁺² influx through L-type channels in mouse islet β cells. *Endocrine Journal* 58: 305–313.

- Nathanson NM (2001) Muscarinic acetylcholine receptors. *Encyclopedia of Life Sciences* 1-6.
- Nees F (2015) The nicotinic cholinergic system function in the human brain. *Neuropharmacology* 96: 289-301.
- Oh-I S, Shimizu H, Satoh T et al (2006) Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus. *Nature* 443: 709–712.
- Osaki H, Shimizu (2014) Peripheral administration of nesfatin-1 increases blood pressure in mice. *Hypertension Research* 37: 185–186.
- Paxinos G, Watson C (2005) *The rat brain in stereotaxic coordinates* (5th edition). Elsevier Academic Press, San Diego, California.
- Perry E, Walker M, Grace J et al (1999) Acetylcholine in mind: a neurotransmitter correlate of consciousness? *Trends in Neurosciences* 22: 273-280.
- Prast H, Philippu A (1992) Release of endogenous acetylcholine in the hypothalamus of conscious rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 346: 1-3.
- Price CJ, Samson WK, Ferguson AV (2008) Nesfatin-1 inhibits NPY neurons in the arcuate nucleus. *Brain Research* 1230: 99–106.
- Ramanjaneya M, Chen J, Brown JE et al (2010) Identification of nesfatin-1 in human and murine adipose tissue: a novel depot-specific adipokine with increased levels in obesity. *Endocrinology* 151: 3169–3180.
- Rao ZR, Yamano M, Wanaka A (1987) Distribution of cholinergic neurons and fibers in the hypothalamus of the rat using choline acetyltransferase as a marker. *Neuroscience* 20: 923-934.
- Ruggiero DA, Giuliano R, Anwar M et al (1990) Anatomical substrates of cholinergic- autonomic regulation in the rat. *Journal of Comparative Neurology* 292: 1-53.
- Savci V, Cavun S, Goktalay G (2002) Cardiovascular effects of intracerebroventricularly injected CDP-choline in normotensive and hypotensive animals: the involvement of cholinergic system. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 365: 388-98.
- Scarr E, Gibbons AS, Neo J (2013) Cholinergic connectivity: it's implications for psychiatric disorders. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 7: 55.
- Sedbazar U, Ayush EA, Maejima Y et al (2014) Neuropeptide Y and alpha-melanocyte stimulating hormone reciprocally regulate nesfatin-1 neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Neuroreport* 25: 1453-1458.
- Sharp DB, Wang X, Mendelowitz D (2014) Dexmedetomidine decreases inhibitory but not excitatory neurotransmission to cardiac vagal neurons in the nucleus ambiguus. *Brain Research* 1574: 1–5.

- Shimizu H, Oh-I S, Hashimoto K et al (2009a) Peripheral administration of nesfatin-1 reduces food intake in mice: the leptin-independent mechanism. *Endocrinology* 150: 662-671.
- Shimizu H, Oh-I S, Okada S et al (2009b) Nesfatin-1: an overview and future clinical application. *Endocrine Journal* 56: 537-543.
- Srimal RC, Jaju BP, Sinha JN et al (1969) Analysis of the central vasomotor effects of choline. *European Journal of Pharmacology* 5: 239-244.
- Stengel A, Goebel M, Yakubov I et al (2009) Identification and characterization of nesfatin-1 immunoreactivity in endocrine cell types of the rat gastric oxyntic mucosa. *Endocrinology* 150: 232–238.
- Stengel A, Taché Y (2010) Nesfatin-1 role as possible new potent regulator of food intake. *Regulatory Peptides* 163: 18-23.
- Stengel A, Taché Y (2011) Minireview: nesfatin-1 an emerging new player in the brain-gut, endocrine, and metabolic axis. *Endocrinology* 152: 4033-4038.
- Strecker A (1862) Über einige neue bestandtheile der schweingalle. *Annalen der Chemie und Pharmacie* 183: 964-965.
- Sulak O, Malas MA (2002) Kolinerjik sistemin morfojenetik olaylarda ve kanser oluşumundaki rolü. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 9: 14-17.
- Swinburn BA, Caterson I, Seidell JC et al (2004) Diet, nutrition and the prevention of excess weight gain and obesity. *Public Health Nutrition* 7: 123-146.
- Tache Y, Bonaz B (2007) Corticotropin-releasing factor receptors and stress-related alterations of gut motor function. *The Journal of Clinical Investigation* 117: 33–40.
- Tanida M, Niiijima A, Shen J et al (2006) Dose-different effects of orexin-A on the renal sympathetic nerve and blood pressure in urethane-anesthetized rats. *Experimental Biology and Medicine* 231: 1616-1625.
- Tanida M, Shen J, Nagai K (2009) Possible role of the histaminergic system in autonomic and cardiovascular responses to neuropeptide Y. *Neuropeptides* 43: 21–29.
- Tanida M, Shintani N, Morita Y et al (2010) Regulation of autonomic nerve activities by central pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide. *Regulatory Peptides* 161: 73–80.
- Tanida M, Mori M (2011) Nesfatin-1 stimulates renal sympathetic nerve activity in rats. *NeuroReport* 22: 309–312.
- Topuz BB, Altınbaş B, İlhan T et al (2014) Centrally administered CDP-choline induced cardiovascular responses are mediated by activation of the central phospholipase- prostaglandin signalling cascade. *Brain Research* 1563: 61-71.
- Uğur M (2008) Sigara Bağımlılığı ve Kadın. *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri* 62: 127-142.

Ulus IH, Wurtman RJ (1979) Selective response of rat peripheral sympathetic nervous system to various stimuli. *Journal of Physiology* 293: 513-523.

Ulus IH, Arslan BY, Savci V et al (1995) Restoration of blood pressure by choline treatment in rats made hypotensive by haemorrhage. *British Journal of Pharmacology* 116: 1911-1917.

Ulus IH, Cansev M (2010) Kolin'in merkezi ve periferik kolinerjik nöronlarda ve kolinerjik iletimdeki işlevi. *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 1: 68-80.

Vas S, Ádori C, Könczöl K et al (2013) Nesfatin-1/NUCB2 as a potential new element of sleep regulation in rats. *Public Library of Science* 8, e59809.

Visscher TL, Seidell JC, Molarius A et al (2001) A comparison of body mass index, waist-hip ratio and waist circumference as predictors of all-cause mortality among the elderly: the Rotterdam study. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 25: 1730-1735.

Xiao YF, Brezenoff HE (1988) The role of M2 muscarinic receptors in the posterior hypothalamus in the pressor response to intracerebroventricularly- injected neostigmine. *Neuropharmacology* 27: 1061-1065.

Yalçın M, Çavun S, Yılmaz MS et al (2005) Involvement of brain thromboxane A2 in hypotension induced by haemorrhage in rats. *Clinical Experimental Pharmacology and Physiology* 32: 960-967.

Yalçın M, Çavun S, Yılmaz MS et al (2006) Activation of the central cholinergic system mediates the reversal of hypotension by centrally administered U-46619, a thromboxane A2 analog, in hemorrhaged rats. *Brain Research* 1118: 43-51.

Yalçın M, Savcı V, Jochem J (2009) Involvement of the cholinergic system in the central histamine-induced reversal of critical haemorrhagic hypotension in rats. *Journal of Physiology and Pharmacology* 60: 133-137.

Yamawaki H, Takahashi M, Mukohda M et al (2012) A novel adipocytokine, nesfatin-1 modulates peripheral arterial contractility and blood pressure in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 418: 676-681.

Yılmaz MS, Altınbaş B, Güvenç G et al (2015) The role of centrally injected nesfatin-1 on cardiovascular regulation in normotensive and hypotensive rats. *Autonomic Neuroscience* 193: 63-68.

Ying J, Zhang Y, Gong S et al (2015) Nesfatin-1 suppresses cardiac L-type Ca²⁺ channels through melanocortin Type 4 receptor and the novel protein kinase C theta isoform pathway. *Cellular Physiology Biochemistry* 36: 555-568.

Yoshida N, Maejima Y. (2010) Stressor-responsive central nesfatin-1 activates corticotropin-releasing hormone, noradrenaline and serotonin neurons and evokes hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Aging (Albany NY)* 2: 775-784.

Yosten GL, Samson WK (2009) Nesfatin-1 exerts cardiovascular actions in brain: possible interaction with the central melanocortin system. *American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 297: 330-336.

Yosten GLC, Samson WK (2010) The anorexigenic and hypertensive effects of nesfatin-1 are reversed by pretreatment with an oxytocin receptor antagonist. *American Journal Physiology Regulatory Integrative and comparative physiology* 298: 1642–1647.

Yosten GLC, Redlinger L, Samson WK (2012) Evidence for a role of endogenous nesfatin-1 in the control of water drinking. *Journal of Neuroendocrinology* 24: 1078–1084.

Yosten GL, Samson WK, (2014) Neural circuitry underlying the central hypertensive action of nesfatin-1: melanocortins, corticotropin-releasing hormone, and oxytocin. *American Journal Physiology Regulatory Integrative and comparative physiology* 306: 722–727.

Zhang AQ, Li XL, Jiang CY et al (2010) Expression of nesfatin-1/NUCB2 in rodent digestive system. *World Journal of Gastroenterology* 16: 1735-1741.

Zhao Y, Ma X, Wang Q et al (2015) Nesfatin-1 correlates with hypertension in overweight or obese Han Chinese population. *Clinical Experimental Hypertension* 37: 51-56.

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
AA	Aminoasit
ACh	Asetilkolin
ATP	Adenozin trifosfat
Camp	Siklik Adenozin Monofosfat
Ch	Kolin
FSH	Folikül uyarıcı hormon
Gr	Gram
kDa	Kilodalton
LH	Luteinizan hormon
LTCC	L tipi Ca^{+2} kanalları
M1	Muskarinik reseptör 1
M2	Muskarinik reseptör 2
M3	Muskarinik reseptör 3
M4	Muskarinik reseptör 4
M5	Muskarinik reseptör 1
$\text{MCR}^{3/4}$	Melanokortin $^{3/4}$ reseptörleri
ml	Mililitre
mM	Milimolar
mm	Milimetre
mmol	Milimol
mV	Milivolt
NPY	Nöropeptid Y
NTS	Nükleus traktus solitarius
NUCB2	Nükleobindin 2
PACAP	Hipofiz adenilat siklaz-aktif polipeptid
PH	Posterior Hipotalamus
PKC	Protein kinazı C
pmol	Pikomol
REM	Hızlı göz hareketleri uykusu
s.y.v.	Serebral yan ventrikül

8. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, bana yeni bir bakış açısı kazandıran değerli danışman hocam Prof. Dr. Murat Yalçın'a teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek lisansa birlikte başladığım, her sıkıştığım da imdadıma yetişen arkadaşlarım Elif Yazar, Nasir Niaz'a sonsuz teşekkürler.

Laboratuvar çalışmalarında hayvan tutmaktan, cerrahi işlemlere kadar her adımı bana sabırla öğreten arkadaşlarım Gökçen GÜVENÇ ve Leman Gizem ERKAN'a en çokta sabırlarından dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Özellikle tez yazım aşamamda bana yardımcı olan Dr. Burçin ALTINBAŞ'a sonsuz teşekkürler.

Tez deneyleri sürecimden, tez yazım aşamamın tamamlanmasına kadar her an yanımda olan, manevi desteğini devamlı hissettiren Oktay YILDIZ'a yürekten teşekkür ederim.

Bütün başarılarımda emeği olan, maddi manevi beni hiç yalnız bırakmayan, her fırsatta asla pes etmemem gerektiğini hatırlatan, iyi işler başardığımda herkesten çok gururlanan, gülümseme sebebim olan biricik annem Yurdanur BAŞARAN AYDIN ve biricik babam Selahattin AYDIN'a sonsuz teşekkürler. İyi ki varsınız...

9. ÖZGEÇMİŞ

15.12.1990 tarihinde Ankara'da doğdum. İlköğretimimi Kocaeli 23 Nisan İlköğretim Okulu'nda tamamladım. Lise eğitimimi Kocaeli 24 Kasım Anadolu Lisesi'nde tamamlayıp 2008 yılında mezun oldum ve aynı yıl Uludağ Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü'nü kazandım. Lisan eğitimimin ardından Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji ABD'de yüksek lisans eğitimime başladım. 2017 Eylül ayında yüksek lisanstan mezun oldum.

