

**SIÇANLARDA AÇLIK VE AÇLIK SONRASI  
DOYURULMA KOŞULLARINDA MİDE DOKUSUNUN  
NESFATİN-1 İMMÜN REAKTİVİTESİNİN  
BELİRLENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**  
**Uzm. Dr. İlyas Murat ÇELİKER**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Leyla Canpolat KOYUTÜRK**

**ELAZIĞ-2015**

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

**SIÇANLARDA AÇLIK VE AÇLIK SONRASI**  
**DOYURULMA KOŞULLARINDA MİDE DOKUSUNUN**  
**NESFATİN-1 İMMÜN REAKTİVİTESİNİN**  
**BELİRLENMESİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Uzm. Dr. İlyas Murat ÇELİKER**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Leyla Canpolat KOYUTÜRK**

**ELAZIĞ-2015**

## ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu Tez Doktora Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur



Prof. Dr. İbrahim Enver Ozan

Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. Leyla Canpolat KOYUTÜRK

Danışman



Doktora Tezi Sınav Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Leyla Canpolat KOYUTÜRK



Prof. Dr. Yusuf NERGİZ



Prof. Dr. Murat AKKUŞ



Prof. Dr. Murat ÖGETÜRK



Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU



## İTHAF

*Sevgili anneme, babama,  
kızkardeşim Ezel'e ve yeğenim Yade' ye,  
eşim Aylin'e  
ve  
kuzenim Ömer'e...*

## TEŞEKKÜR

Çalışmam boyunca değerli önerileriyle sürekli yönlendiren ve hem sosyal hem de akademik birikimini esirgemeyen değerli hocam, sayın Prof. Dr. Leyla CANPOLAT KOYUTÜRK'e, çalışmam sırasında büyük desteklerini gördüğüm hocalarım Prof. Dr. İbrahim Enver OZAN, Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU, Doç. Dr. Dürrin Özlem DABAK, Yrd. Doç. Dr. Nevin KOCAMAN'a, yine deney sürecinde immünohistokimya tecrübesini ve yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU'na ve FÜDAM çalışmalarında daima rehberlik eden Veteriner Fakültesi, Suni Tohumlama Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Seyfettin GÜR'e ve istatistik çalışmalarımızı teyit eden Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Selçuk İLHAN'a değerli katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Ayrıca laboratuvar çalışmalarında destek ve yardımlarını gördüğüm asistan arkadaşlarım Nalan KAYA, Osman YILMAZ ve Emine SARMAN'a, yurtdışı ve erişilmesi zor olan literatürlere ulaşmamda yardımcı olan vefakar arkadaşım Uzm. Dr. Mehmet Haluk SANCAR'a teşekkür ederim.

Tezime sağladığı maddi destekten dolayı Fırat Üniversitesi Araştırma Projeleri (FÜBAP) Başkanlığı'na teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
<b>BAŞLIK SAYFASI</b>	<b>i</b>
<b>ONAY SAYFASI</b>	<b>ii</b>
<b>İTHAF</b>	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iv</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>v</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b>	<b>viii</b>
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b>	<b>xii</b>
<b>1. ÖZET</b>	<b>1</b>
<b>2. ABSTRACT</b>	<b>3</b>
<b>3. GİRİŞ</b>	<b>5</b>
3.1.Mide	5
3.2. İştah Kontrolü ve Açlık	13
3.2.1. İştah Kontrolü ve Enerji Regülasyonu	13
3.2.2. Açlık ve Tokluk Merkezleri	15
3.2.3. İştahın Sinirsel Kontrolünün Anatomik Alt Yapısı	17
3.2.3.1 Merkezi Melanokortin Sistemi	21
3.2.3.2. Merkezi Oksitosin Sistemi	22
3.2.4. MCR Reseptörleri	25
3.3. Açlık	26
3.3.1. Açlık tanımı, etyolojisi ve tarihçesi	26
3.3.2.Açlık terminolojisi	27
3.3.3. Açlığın tarihçesi	28
3.3.4. Açlık süresinin tanımlanması	29
3.3.5. Açlık biyokimyası	30
3.3.5.1. Açlık biyokimyasına klasik bakış	30
3.3.5.2. Açlık biyokimyasına güncel bakış	32
3.3.6. Kemirgenlerde (Rodentlerde) açlık	37
3.3.6.1. Kemirgenlerde açlığın etkileri	37
3.3.6.2. Kemirgenlerde açlığın sindirim kanalının boşaltılması ve vücut ağırlığı üzerindeki etkileri	38

3.3.6.3. Kemirgenlerde açlığın farmakolojik parametreler ve davranış üzerindeki etkileri	40
3.3.7. Açlıkta vücut kitlesi/kütlesi	42
3.3.8. Açlıkta vücut temperaturü	44
3.3.9. Açlıkta metabolizma hızı	45
3.3.10. Açlığın hormonal görünümü	48
3.3.11. Açlıkta melanokortinerjik sistem ve enerji homeostazisi	49
3.3.12. Açlık ve toklukta hücrel metabolizma regülasyonu	51
3.3.13. Açlıkta proteolitik ve lipolitik olaylar	53
3.3.13.1. Lizozomal otofaji	53
3.3.13.2. Makrootofaji	53
3.3.13.3. Chaperon Aracılı Otofaji (CMA)	54
3.3.13.4. Starvasyon durumunda oluşan lipolitik tepkiler	54
3.4. Açlıkta Histolojik (IM ve EM) ve İmmünohistokimyasal Çalışmalar	54
3.5. Nesfatin	81
3.5.1. Keşif ve adlandırma	81
3.5.2. Nesfatin-1'in yapısı	83
3.5.3. Nesfatin-1 yerleşimi	86
3.5.3.1. Merkezi yerleşim	86
3.5.3.2. Periferik yerleşim	89
3.5.5. Kan beyin bariyeri ve nesfatin	92
3.5.6. Plazma nesfatini	93
3.5.6.1. Plazma nesfatini artıran durumlar	96
3.5.6.2. Plazma nesfatini azaltan durumlar	100
3.5.7. Nesfatin-1 GIS immünohistokimyası ve periferik (mide) işleyiş mekanizması	106
3.5.8. Nesfatin-1'in fonksiyonları	121
3.5.8.1. Santral etkileri	121
3.5.8.2. Periferik etkileri	130
3.5.9. Nesfatin-1, diğer hormonlar ve peptidler	138
3.5.10. Nesfatin-1 ve diğer sınıflanamayan çalışmalar	142

<b>4. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>143</b>
4.1. Deney hayvanları ve beslenmeleri	143
4.2. Deney gruplarının oluşturulması ve deneysel uygulamalar	144
4.3. Örneklerin alınması	145
4.4. Histolojik çalışma	145
4.5. İmmünohistokimya	146
4.6. İstatistiksel değerlendirme	149
<b>5. BULGULAR</b>	<b>150</b>
5.1. Vücut Ağırlıkları	150
5.2. Vücut Ağırlığı Yüzde Değişimleri	152
5.3. Histolojik Bulgular	156
5.4. İmmünohistokimyasal bulgular	158
<b>6. TARTIŞMA</b>	<b>177</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>222</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>239</b>

## TABLULAR LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1.</b> Merkezi sinir sistemi ve periferik organlardan kaynaklanan oreksijenik, anoreksijenik nöropeptidler	17
<b>Tablo 2.</b> Açlık etyolojisi	27
<b>Tablo 3.</b> Memelilerde postprandial, postabsorbtif, ‘‘fasting’’ ve ‘‘starvation’’ koşullarında anahtar metabolik parametrelerdeki değişikliklerin karşılaştırılması	36
<b>Tablo 4.</b> Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin içeriği	143
<b>Tablo 5.</b> Histolojik takip serileri	146
<b>Tablo 6.</b> İmmünohistokimyasal boyama prosedürü	148
<b>Tablo 7.</b> İmmünohistokimyasal boyanma yaygınlığının derecesi	149
<b>Tablo 8.</b> Deney gününe göre deney gruplarının vücut ağırlığı aritmetik ortalamaları	151
<b>Tablo 9.</b> Deney gruplarının deney günlerine göre vücut ağırlığı yüzde değişimleri	155
<b>Tablo 10.</b> Nesfatin immünreaktivitesi	158

## ŞEKİLLER LİSTESİ

### Sayfa No

<b>Şekil 1.</b>	Gastrik bezler, a.IM görünüm, b.Gastrik çukurcuk ile bezin ilişkisini gösteren gastrik bez şematik diyagramı	9
<b>Şekil 2.</b>	Hipotalamusda yer alan iştah kontrolü üzerinde etkili arkuat ve paraventriküler çekirdekler ile mamiller cisimler	18
<b>Şekil 3.</b>	Enerji dengesinin arkuat çekirdeklerdeki iki nöron tipiyle denetlenmesi	21
<b>Şekil 4.</b>	Merkezi melanokortin sistemi.	22
<b>Şekil 5.</b>	Merkezi oksitosin sistemi.	23
<b>Şekil 6.</b>	Nesfatin-1'in öncülleri NEFA ve NUCB2'nin ve nesfatin-1'den türeyen N-terminal (N), orta (M) ve C-terminal (C) segmentlerin yapısı.	86
<b>Şekil 7.</b>	Deney gruplarının zamana bağlı vücut ağırlığı aritmetik ortalamalarının şematik gösterimi	152
<b>Şekil 8.</b>	Deney gruplarının deney günlerine göre vücut ağırlığı yüzde değişimlerinin şematik gösterimi	155
<b>Şekil 9.</b>	Kontrol grubu sıçanların mide dokusu	159
<b>Şekil 10.</b>	Kontrol grubu sıçanların mide dokusu. PAS pozitiflik gösteren mide yüzey ve boyun müküs hücreleri	159
<b>Şekil 11.</b>	Kontrol grubu sıçanların mide dokusu. Yüzey epiteli , boyun müköz ve pariyetal hücreleri	160
<b>Şekil 12.</b>	Kontrol grubu sıçanların mide dokusu. Gastrik mukozada bazal bölümde yer alan esas hücreler ve pariyetal hücreler	160
<b>Şekil 13.</b>	5 gün aç bırakılan sıçanların mide dokusu. Apikal gastrik mukozada kopmalar ve dökülmeler	161
<b>Şekil 14.</b>	5 gün aç bırakılan sıçanların mide dokusu. Mide mukozasında yüzeyde dökülmeler , gastrik bez lümenlerinde köpüksü görünüm	161
<b>Şekil 15.</b>	5 gün aç bırakılan sıçanların mide dokusu. Mide mukozasında gastrik bezlerde genişlemeler , yüzey mukoza hücrelerinde lümene çıkıntılar	162

<b>Şekil 16.</b>	5 gün aç bırakılan sıçanların mide dokusu. Gastrik bez lümenlerinde ileri boyutta genişlemelerle birlikte lümenin köpüksü görünümü	162
<b>Şekil 17.</b>	5 gün aç bırakılan sıçanların mide mukozası. Gastrik sekretuar yapılarda ileri boyutta genişlemiş bez lümenlerindeki köpüksü görünüm	163
<b>Şekil 18.</b>	5 gün aç bırakılan sıçanların mide mukozası. Mukozayı tutan Polimorf Nüveli Lökosit (PNL) hücre infiltrasyonu	163
<b>Şekil 19.</b>	5 gün aç bırakılan sıçanların mide mukozası. Mukozada oksintik bezlerde genişleme ile beraber PNL infiltrasyonu	164
<b>Şekil 20.</b>	5 gün aç bırakılan sıçanların mide mukozası. Gastrik bez hücrelerinde piknotik çekirdekli pariyetal hücreler ve apoptotik hücreler	164
<b>Şekil 21.</b>	5 gün aç bırakılan sıçanların mide mukozası. Genişleyip köpüksü görünüm almış bez lümenleri	165
<b>Şekil 22.</b>	5 gün aç bırakılan sıçanların mide mukozası. Yüzey mukozada yoğun PAS (+) boyanma	165
<b>Şekil 23.</b>	5 gün aç bırakılan sıçanların mide mukozasında yüzey epitel hücreleri ve müköz boyun hücrelerinde yoğun PAS (+)boyanma	166
<b>Şekil 24.</b>	5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide mukozası. Epitelin normale yakın görünüm sağladığı bazı alanlar	166
<b>Şekil 25.</b>	5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide dokusu. Mukozada incelmeye beraber dejeneratif görünüm	167
<b>Şekil 26.</b>	5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide dokusu. Mukozada incelmeye beraber dejeneratif görünüm	167
<b>Şekil 27.</b>	5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide mukozası. Yüzeyden ayrılarak dökülecek genişlemiş alanlı epitel	168
<b>Şekil 28.</b>	5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide dokusu. Mide mukozasında genişlemiş bez lümeni etrafında artmış mononükleer hücreler	168
<b>Şekil 29.</b>	5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide mukozası. Genişlemiş gastrik bez alanları etrafında artmış hücresel görünüm .	169

<b>Şekil 30.</b> 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide dokusu. Mide mukozası bezlerindeki genişlemeler	169
<b>Şekil 31.</b> 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide mukozası tabanındaki bezlerde aşırı genişlemeler ve hasar gösteren gastrik principal bezler	170
<b>Şekil 32.</b> 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide mukozası. Bazofilik boyanmanın azalması sonucu asidofilik boyanma ..	170
<b>Şekil 33.</b> 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide mukozası. Gastrik mukozada damarlarda konjesyon ve dilatasyon	171
<b>Şekil 34.</b> 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide mukozası. Açlığa göre artmış PAS (+)'lik	171
<b>Şekil 35.</b> 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide mukozası. Açlığa göre daha koyu PAS (+)'lik	172
<b>Şekil 36.</b> 5 gün açlığı takiben 7 gün doyurulan sıçan mide dokusu. Mukozanın kısmen normale yakın görünümü..	172
<b>Şekil 37.</b> 5 gün açlığı takiben 7 gün doyurulan sıçan mide dokusu. Gastrik müköz bezlerde artış ve yüzey epitelde dökülmeler.	173
<b>Şekil 38.</b> 5 gün açlığı takiben 7 gün doyurulan sıçan mide dokusu. Gastrik bezlerde damar dilatasyonu	173
<b>Şekil 39.</b> 5 gün açlığı takiben 7 gün doyurulan sıçan mide dokusu. Mide mukozasında ve gastrik bezlerde kontrole benzer görünüm	174
<b>Şekil 40.</b> Kontrol grubu sıçanların mide dokusunda (fundik bezlerde) nesfatin-1 immün pozitif hücreler	174
<b>Şekil 41.</b> Beş gün aç bırakılan sıçanların mide dokusunda (fundik bezlerde) nesfatin-1 immün pozitif hücreler	175
<b>Şekil 42.</b> Beş gün aç bırakıldıktan sonra beş gün doyurulan sıçanların mide dokusunda (fundik bezlerde) nesfatin-1 immün pozitif hücreler	175
<b>Şekil 43.</b> Beş gün aç bırakıldıktan sonra yedi gün doyurulan sıçanların mide dokusunda (fundik bezlerde) nesfatin-1 immün pozitif hücreler	176

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>A</b>	: Aseton
<b>AAV</b>	: Adeno bağlantılı virüs
<b>ACC</b>	: Asetil-koA karboksilaz
<b>ACTH</b>	: Adrenokortikotropin
<b>AGA</b>	: Uygun gestasyonel yaş
<b>AgRP</b>	: Aguti ilişkili peptid
<b>Akt</b>	: Protein kinaz B
<b>Al</b>	: Ad libitum
<b>A-like</b>	: Gastrik X/A-benzeri hücreler veya A -benzeri hücreler
<b>AMI</b>	: Akut miyokard infarktüsü
<b>AMP</b>	: Adenozin monofosfat
<b>AMPK</b>	: AMP ile aktiflenen Protein Kinaz
<b>AN-R</b>	: Anoreksiya nervosa
<b>aP2</b>	: Adiposit protein 2
<b>ARC</b>	: Arkuat çekirdek
<b>ATP</b>	: Adenozin trifosfat
<b>AU</b>	: Adenilat/Uridilat
<b>cAMP</b>	: Siklik AMP
<b>CART</b>	: Kokain ve amfetamin ilişkili transcript
<b>CCK</b>	: Kolesistokinin
<b>c-fos</b>	: Retroviral onkogen v-fos'un insan homologu olan proto-onkogen
<b>CRE</b>	: cAMP yanıt elemanı
<b>CREB</b>	: cAMP yanıt elementi -bağlayıcı protein
<b>CRH (veya CRF)</b>	: Kortikotropin salgılatıcı hormon
<b>CSF</b>	: Serebrospinal sıvı
<b>D</b>	: Somatostatin hücreleri veya delta hücreleri
<b>D1 hücreleri</b>	: Somatostatin hücreleri veya delta-1 hücreleri
<b>db/db sıçanlar</b>	: Genetik olarak diabetik sıçanlar
<b>db/m sıçanlar</b>	: Non-diabetik hiperglisemik obez ve hiperinsülinemik kontrol sıçanları

<b>dm/m dt</b>	: Vücut kütle kaybı
<b>DMV</b>	: Vagusun dorsal motor nükleusu
<b>DP</b>	: Karanlık faz
<b>DVC</b>	: Dorsal vagus kompleksi
<b>E2</b>	: 17 $\beta$ -östradiol
<b>EC hücreleri</b>	: Enterokromafin hücreler
<b>ECL hücreleri</b>	: Enterokromafin-benzeri hücreler
<b>EGF</b>	: Epidermal büyüme faktörü
<b>EM</b>	: Elektron mikroskopik
<b>ERG</b>	: Hızlı yanıt geni
<b>E-W</b>	: Edinger-Westphal nükleusu
<b>FAT</b>	: Yağ asidi sentaz
<b>G hücreleri</b>	: Gastrin hücreleri
<b>GABA</b>	: Gamma amino bütirik asit
<b>GDM</b>	: Gestasyonel diabetes mellitus
<b>GE</b>	: Glukoz uyarıcı
<b>GI</b>	: Glukoz inhibitör
<b>G<sub>i</sub></b>	: GPCR reseptör familyası subgrubu
<b>GK</b>	: Goto-kakizaki
<b>GLUT-4</b>	: Glukoz transport edici tip 4
<b>GnRH</b>	: Gonadotropin-salgılatıcı hormon
<b>GOAT</b>	: Ghrelin-O- asil transferaz
<b>GPCR</b>	: G protein-eşleşmiş reseptör
<b>HE</b>	: Hematoksilen–Eosin
<b>HOMA-IR</b>	: İnsülin direnci saptaması için homeostatik model değerlendirmesi
<b>ICR</b>	: Kanser araştırma enstitüsü
<b>ICV (icv)</b>	: İntraserebroventriküler
<b>IEG</b>	: Hızlı erken cevap geni
<b>IIS kaskad</b>	: İnsülin/insülin benzeri büyüme faktörü I sinyalizasyon kaskadı
<b>IL</b>	: İnterlökin

<b>IM</b>	: Işık mikroskopik
<b>IRS</b>	: İnsülin reseptör substrat proteinleri
<b>ipGTT</b>	: İntraperitoneal oral glukoz testi
<b>ir-NUCB2</b>	: İmmünreaktif-NUCB2
<b>JAK2 / STAT3</b>	: Janus Kinaz 2/ Transkripsiyon Dönüştürücü ve Sinyal Aktive Edici 3
<b>KBB</b>	: Kan beyin bariyeri
<b>KFERQ Motifi</b>	: Otofaji için spesifik substrat seçim motifi (lizin (K)-fenilalanin (F)- glutamat (E)-arjinin (R)-glutamin (Q))
<b>KOAH</b>	: Kronik obstruktif akciğer hastalığı
<b>LC</b>	: Locus coeruleus
<b>LepR</b>	: Leptin reseptörü
<b>LGA</b>	: Büyük gestasyonel yaş
<b>LHA</b>	: Lateral hipotalamik alan
<b>LP</b>	: Aydınlik faz
<b>LPS</b>	: Bakteriyel lipopolisakkarit
<b>MAPK/ERK</b>	: Mitojen aktive eden kinaz/Ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz
<b>MAPK</b>	: Mitojen aktive eden protein kinaz
<b>m<sub>b</sub></b>	: Vücut kütlesi
<b>MCH</b>	: Melanin konsantre edici hormon
<b>MCR</b>	: Melanokortin reseptörü
<b>MEK</b>	: MAPK / ERK kinaz
<b>MetS</b>	: Metabolik sendrom
<b>mTOR</b>	: Memeli rapamisin hedefi
<b>NEFA</b>	: DNA bağlayan/E helix-F helix yanı/asidik amino asit zengin bölge
<b>NEFA</b>	: Esterleşmemiş yağ asitleri
<b>Nesfatin-1/NUCB2-IR</b>	: Nesfatin-1/NUCB2 immün reaktif
<b>Nesfatin-1</b>	: NEFA şifrelenmemiş doyunluk ve yağ etkileyen/ etkileyici protein 1
<b>NPY</b>	: Nöropeptit Y

<b>NTS</b>	: Nükleus traktus solitarius
<b>NUCB2/nesfatin-1-like-ir:</b>	NUCB2/nesfatin-1-benzeri-immün reaktif hücreleri
<b>NUCB2</b>	: Nucleobindin-2; nükleolar bağlanan/ bağlayıcı;E heliks-F heliks yanı kalsiyum bağlayıcı protein
<b>NUCB2-LI</b>	: NUCB2-benzeri immünreaktivite
<b>OA</b>	: Osteoartrit
<b>Ob-Rb</b>	: Uzun formulu leptin reseptörü
<b>OGTT</b>	: Oral glukoz tolerans testi
<b>OSAS</b>	: Obstrüktif uyku apnesi sendromu
<b>P4</b>	: Progesteron
<b>P70S6K1 (ps70K)</b>	: Ribozomal protein S6 kinaz beta
<b>PACAP</b>	: Pitüiter adenilat siklaz-aktive eden polipeptit
<b>PAS</b>	: Periodik Acid Schiff boyama
<b>PBN</b>	: Parabrakial nükleus
<b>Peptit YY</b>	: Peptit tirozin tirozin veya pankreatik peptit YY <sub>3-36</sub>
<b>Peptit YY<sub>3-36</sub></b>	: Pankreatik peptit YY <sub>3-36</sub> veya peptit tirozin tirozin
<b>PFK2</b>	: Fosfofruktokinaz 2
<b>PGC-1<math>\alpha</math> (veya PPAR<math>\gamma</math>)</b>	: Peroksizom çoğaltıcı- $\gamma$ reseptör aktive edici koaktivatör 1- alfa
<b>PGE2</b>	: Prostoglandin-E2
<b>pHi</b>	: Hücre içi pH
<b>PK</b>	: Piruvat kinaz
<b>PND0</b>	: Postnatal 0. gün
<b>PNL</b>	: Polimorf nüveli lökosit
<b>POMC</b>	: Proopiomelanokortin
<b>PP</b>	: Pankreatik polipeptid
<b>PRE</b>	: PPAR $\gamma$ cevap elementi
<b>PVN</b>	: Paraventriküler nükleus
<b>Q<sub>10</sub></b>	: Termal duyarlılık
<b>R</b>	: Dinlenen parietal hücreler
<b>RhoA/ROCK</b>	: Ras homolog gen ailesi, üye A/Rhoa kinaz
<b>RMR</b>	: İstirahat metabolizma hızı

<b>RPa</b>	: Raffe pallidum
<b>RS</b>	: Erken salgılama evresine girme eğiliminde olan dinlenen parietal hücreler
<b>rT<sub>3</sub></b>	: Reverse-triiyodotironin
<b>RYGB</b>	: Roux-En-Y Gastrik Bypass
<b>S</b>	: Salgılayıcı parietal hücreler
<b>S6K1</b>	: Ribozomal protein S6 kinaz 1
<b>SAK</b>	: Subaraknoid kanama
<b>SD</b>	: Spraque-Dawley
<b>SEM</b>	: Ortalamanın standart hatası
<b>SFO</b>	: Subfornikal organ
<b>SG</b>	: Sleeve gastrektomi
<b>SGA</b>	: Küçük gestasyonel yaş
<b>shRNA</b>	: Küçük veya “u” şeklinde, viraj gibi kıvrılan RNA
<b>SOCS3</b>	: Sitokin sinyalizasyon baskılayıcı 3
<b>SON</b>	: Supra optik çekirdek
<b>SR</b>	: Dinlenme evresine geri dönen salgılayan parietal hücreler
<b>STZ</b>	: Streptozotosin
<b>SYA</b>	: Serbest yağ asidi
<b>T<sub>3</sub></b>	: Triiodotironine
<b>T<sub>4</sub></b>	: Tiroksin, tetraiyodotironin
<b>T<sub>b</sub></b>	: Vücut ısısı
<b>TH</b>	: Tirozin hidroksilaz
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekrotizan faktör- $\alpha$
<b>TORC 2</b>	: Rapamisin hedefi kompleks 2, mTOR kompleksi-2
<b>TRH</b>	: Tirotropin salgılayan hormon
<b>TSC2</b>	: Tuberoz scleroz kompleks 2
<b>TSH</b>	: Tiroid stimulan hormon
<b>UPS</b>	: Ubiquitin proteosom sistemi
<b>VKİ</b>	: Vücut kitle indeksi
<b>VLM</b>	: Ventro lateral medulla
<b>VMH</b>	: Ventro medial hipotalamik alan

<b>VNS</b>	: Vagal sinir stimulasyonu
<b>Y<sub>1</sub>r</b>	: Nöropeptit Y <sub>1</sub> reseptörü
<b>ZI</b>	: Zona incerta
<b><math>\alpha</math>-MSH</b>	: Alfa –melanosit uyarıcı hormon

## 1. ÖZET

Nesfatin-1, Oh-I ve Shimizu tarafından 2006 yılında keşfedilen ve büyük oranda mide ile hipotalamusdan salgılanan yeni bir anoreksijenik peptiddir. Nesfatin-1 iştah regülasyonu, açlık tokluk döngüsünün çevrimi, enerji homeostazisinden sorumlu gibi görünmektedir. Bu çalışmada sıçanlarda açlık ve açlık sonrası doyurulma koşullarında mide dokusunun nesfatin-1 immün reaktivitesinin belirlenmesi amaçlandı.

Çalışmada 24 adet 12 haftalık, Wistar-Albino cinsi erişkin erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar 4 gruba ayrıldı. Grup I; kontrol, normal olarak beslenen, Grup II; beş gün boyunca sadece su verilerek aç bırakılan, Grup III; beş gün sadece su verilerek açlığı takiben beş gün doyurulan, Grup IV; beş gün sadece su verilerek açlığı takiben yedi gün doyurulan sıçanlardan oluşturuldu. Deney sonunda sıçanlara anestezi altında dekapitasyon yapıldı ve mide dokuları separe edildi. Dokular parafin bloklara gömüldü ve nesfatin-1 için immünohistokimyasal boyama prosedürü uygulandı.

Beş gün aç bırakılan sıçanların mide dokusunda yüzey epitelinin dejenere olduğu, bütünlüğünün bozulduğu, yer yer parçalanmalar ve kopmalarla birlikte dökülmelerin meydana geldiği, müköz ve oksintik bezlerin lümenlerinde ileri derecede genişlemeler ve köpüksü görünümün ortaya çıktığı, ayrıca bezlerin tabanında lökosit infiltrasyonu başladığı, oksintik bölgedeki hücrelerde apoptozis ve piknotik çekirdekli parietal hücrelerin varlığının tespit edildiği sahalar gözlemlendi. Açlık grubunda yüzey müköz hücreleri ve boyun müköz hücreleri daha yoğun PAS (+) olarak boyandı. Ancak doyurulma ile birlikte PAS(+) boyanma şiddetinde azalma görüldü.

Beş gün doyurulma sonrası grupta açlıktan farklı olarak lamina propriada bağ dokusunun artış gösterdiği alanlar ve genişlemiş bez alanlarının etrafında artmış hücresel görünüm (mononükleer hücreler) saptandı. Doyurulma süresinin artışına (beş ve yedi günlük doyurulma) paralel olarak mide dokusu kontrole benzer görünüm kazandı.

Beş gün açlık sonrasında nesfatin-1 immün pozitif hücre sayısı kontrollere göre anlamlı bir şekilde (yaklaşık iki kat) artmıştı. Açlık sonrası doyurulma ile birlikte immün reaktivite gösteren hücre sayısı progresif biçimde azalarak kontrole yakın değerlerde saptandı.

Sonuç olarak açlık ve açlık sonrası doyurulma koşulları (tokluk) nesfatin-1 immün reaktivitesinde değişikliklere yol açmaktadır. Açlık durumunda mide dokusunun nesfatin-1 immün reaktivite yanıtı açlık süresine bağlı olarak değişmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Mide, Nesfatin-1, Açlık, İmmünohistokimya.

## **2. ABSTRACT**

### **Determination of Nesfatin-1 Immune Reactivity on the Rat Stomach After Fasting and Refeeding**

Nesfatin-1, discovered by Oh-I and Shimizu in 2006, is a quite new anorexigenic peptide which is substantially released from stomach and hypothalamus. Nesfatin-1 seems to be responsible for appetite regulation, fasting and satiety cycle, and energy homeostasis. In this study, it is aimed at defining nesfatin-1 immune reactivity of gastric tissue under fasting, and feeding after fasting conditions.

In the study, 24 12 week-old adult male Wistar-Albino rats were used. Rats were divided into 4 groups. Rats in Group I, controls, were ordinarily fed; in Group II were deprived of food, and given only water for five days; in Group III were given only water for five days, and fed during the next five days; in Group IV were given only water for five days, and fed during the next seven days. At the end of the experiment, rats were decapitated under anesthesia; and their gastric tissues were separated. Tissues were buried in paraffine blocs; immunostaining procedure was applied for nesfatin-1.

In rats fasting for five days, it was observed that in their gastric tissue, surface epithelium degenerated, its integrity was lost, together with local fragmentations and ruptures, spillages occurred, extreme expansion and foamy appearance emerged on the lumens of mucous and oxyntic glands. In addition, it was monitored that leukocyte infiltration commenced at the bottom of the glands, and in some areas, the infiltration accompanied the foamy appearance. Furthermore, it was observed that in the oxyntic area cells there were some areas where apoptosis and pyknotic nucleated parietal cells existed. In the fasting group, surface mucous cells

and mucous neck cells were more densely stained by PAS(+). Yet decrease in the severity of PAS(+) staining was identified after feeding.

After five days of feeding, unlike fasting period, it was identified that the connective tissue increased in lamina propria in some areas, and increased cellular appearance (mononuclear cells) around enlarged gland areas emerged. In parallel with the increase in feeding time (five- and seven-days feeding), gastric tissue gained a similar appearance.

After five days of fasting, the number of nesfatin-1 immune-positive cells increased significantly (approximately double), compared to the control. Following the feeding after fasting, it was observed that the number of the cells demonstrating immunoreactivity got close to the control by decreasing progressively.

As a result, fasting and feeding after fasting (satiety) conditions lead to changes in nesfatin-1 immunoreactivity. In fasting state, nesfatin-1 immunoreactivity response of gastric tissue changes depending on fasting time.

**Key Words:** Stomach, Nesfatin-1, Fasting, Immunohistochemistry.

### 3. GİRİŞ

#### 3.1. Mide

Mide gestasyonun 4. haftasında önbarsağın fusiform bir genişlemesi şeklinde belirir. Daha sonraki haftalarda midenin şekli ve pozisyonu, duvarının değişik bölgelerindeki farklı büyüme hızı ve çevresindeki organların pozisyonlarında meydana gelen değişiklikler sonucu önemli ölçüde değişir. Midenin pozisyonundaki değişiklikler en basit şekilde, uzunlamasına ve ön-arka eksenler etrafında döndüğü varsayılarak açıklanabilir. Mide uzun eksenini etrafında saat yönünde 90 derece döndüğünde sol tarafı öne ve sağ tarafı da arkaya bakar hale gelir. Böylece başlangıçta midenin sol tarafını innerve etmekte olan sol vagus siniri, artık ön duvarı, benzer şekilde sağ vagus siniri de arka duvarı innerve etmeye başlar. Bu dönüş sırasında midenin orijinal arka duvarı, ön duvardan daha hızlı büyür ve bu olay büyük ve küçük kurvaturların oluşumuyla sonuçlanır. Başlangıçta orta hatta yer alan midenin sefalik ve kaudal uçları gelişimin daha ileri evrelerinde midenin ön-arka eksen etrafında dönmesiyle, kaudal veya pilorik parça sağa ve yukarıya doğru; sefalik veya kardiak parça da sola ve hafifçe aşağıya doğru yer değiştirir. Mide böylece uzun eksenini sol üstten sağ alta doğru uzanacak şekilde kalıcı konumunu kazanır.

Mide karın arka duvarına dorsal mezogastrium ve karın ön duvarına ise ventral mezogastrium vasıtasıyla tutunduğu için, midenin rotasyonel hareketi ve oransız büyümesi, bu mezenterlerin pozisyonunu değiştirir. Böylece, uzun eksen çevresindeki rotasyon dorsal mezogastriumu sola doğru çekerek, midenin arkasında omental bursa (küçük periton kesesi) adı verilen bir boşluğun oluşmasını sağlar. Bu rotasyon aynı zamanda ventral mezogastriumu da sağa doğru çeker (1).

Mide karın boşluğunun yukarı kısmında diafram'ın altında, kolon transversum ve mezokolon transversum'un üstünde bulunur. Regio hypochondriaca sinistra'nın tamamı ve regio epigastrica'nın büyük bir kısmını kaplar. Mide'nin paries anterior (ön üst yüzü)'nün bir kısmı lobus hepatis sinister (Karaciğer sol lobu)'in arkasında bulunur (2). Incisura angularis'ten geçen bir düzlem mideyi sol'da corpus ve sağda pars pylorica denilen iki kısma ayırır. Corpus'un en üst kısmına fundus denir. Pars pylorica'da solda vestibulum pyloricum ve sağda antrum pyloricum diye ikiye ayrılır. Radiogram'larda normal olarak midenin en alt sınırı erkeklerde; interiliak hattın 7,3 cm üstünde ve 13,5 cm altında, kadınlarda ise aynı hattın 6,5 cm üstünde ve 13,7 cm altında olmak üzere değişiklik gösterir (3).

Mide'nin 1 - Pars cardiaca, 2— Fundus ventriculi, 3 - Corpus ventriculi, 4 - Pars pylorica olmak üzere dört parçası ile Paries anterior (ön üst yüz), Paries posterior (arka alt yüz) adı verilen iki yüzü, curvatura ventriculi minör (küçük eğrilik), curvatura ventriculi majör (büyük eğrilik) adı verilen iki kenarı vardır (2).

Mide truncus coeliacus'un her üç dalından da kan alır. Midenin arterleri; A. gastrica sinistra, A. gastrica dextra, A. gastroepiploica dextra, A. gastroepiploica sinistra ve Aa. gastrici breves'dir. Mide venleri arterlerle yandaş seyrederek ve aynı isimleri alırlar. Sonuçta hepsi v. porta'ya (portal sistem) dökülürler. Mideyi innerve eden parasempatikler n. vagus'tan gelirler.

Sempatikler 6. -10. th. segmentlerden çıkarlar ve plexus coeliacus'ta sinaps yapıp mideye dağılırlar. Midenin parasempatik innervasyonu özel klinik öneme sahiptir.

Ön vagal trunkus: Sol vagus liflerinden oluşur ve özefagus'un önünden mide ön yüzüne girer. Küçük kurvatur boyunca giderek hepatik ve duodenal dallar verir.

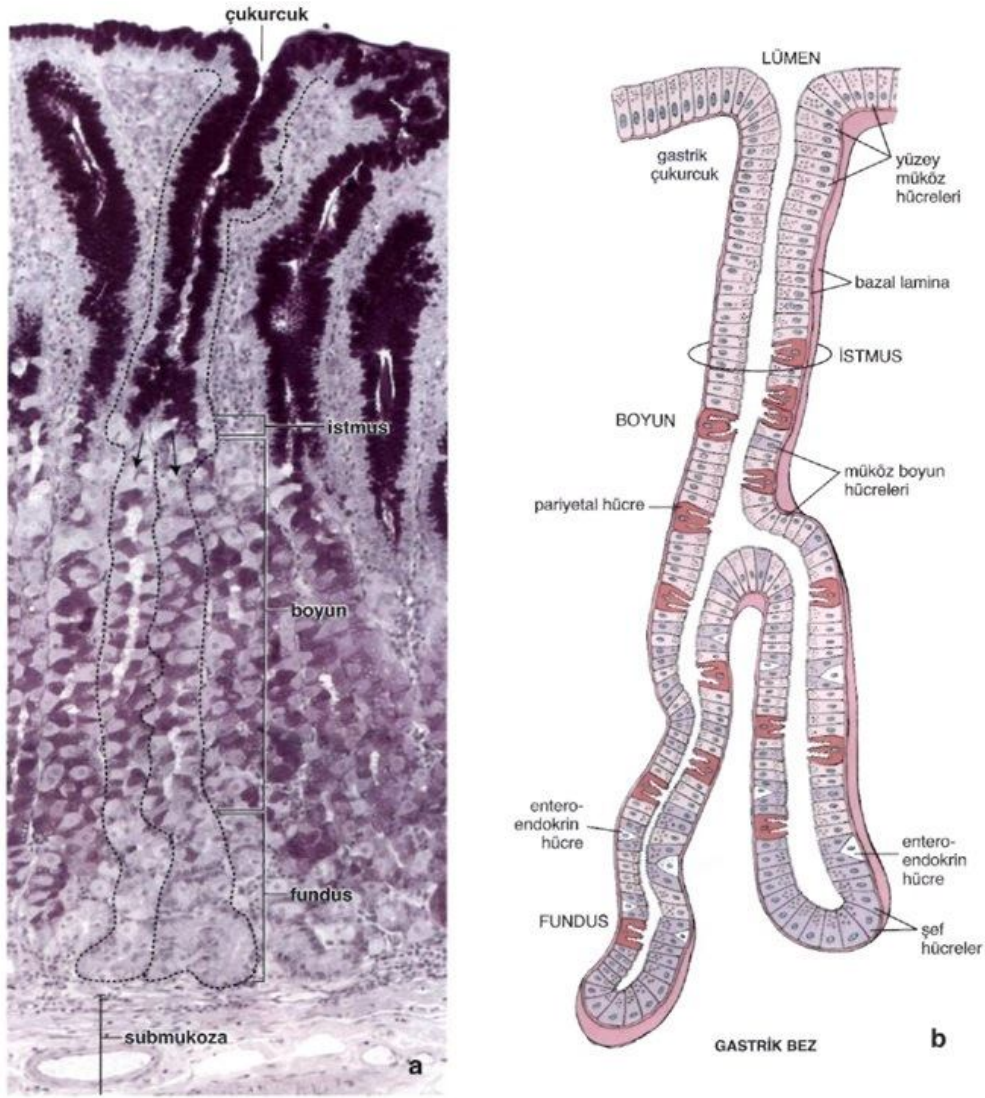
Arka vagal trunkus: Sağ vagus liflerinden oluşur ve özefagus'un arkasından mide arka yüzüne girer. Küçük kurvatur'un arkası boyunca seyreder.

Sempatik ve parasempatik lifler submukoza da plexus submucosus (Meissner pleksusu) ve kas tabakaları arasında plexus myentericus (Auerbach pleksusu)'u yaparlar (3).

Mide, her bölgesinin içerdiği bez tiplerine göre histolojik olarak üç bölgeye ayrılır. Kardiyak bölge (kardiya), özofagus ağzının yanındaki kardiya bezlerini içeren kısım; Pilorik bölge (pilor), pilor sfinkterinin proksimalinde kalan ve pilor bezlerini içeren kısım; fundik bölge (fundus), kardiya ve pilor arasında bulunan ve midenin fundus bezlerini ya da gastrik bezleri içeren en büyük kısmı. Midenin tamamında mukoza, submukoza, muskularis eksterna ve serozadan oluşan aynı genel yapısal plan vardır. Boş midenin iç yüzeyinin incelenmesi ile ruga adı verilen birkaç longitudinal katlantı ya da kabartı görülür. Rugalar midenin dar bölgelerinde daha belirgindirler ve üst kısmında az gelişmişlerdir. Büyük büyütmelerde mukozal yüzeyde çok sayıda açıklıklar izlenebilir. Bunlar gastrik çukurcuklar (mide çukurcukları) ya da foveolalardır. Bunlar tarama elektron mikroskobu ile kolaylıkla gösterilebilmektedir. Gastrik bezler gastrik çukurcukların tabanına açılırlar. Midenin yüzeyini ve gastrik çukurcuklarını döşeyen epitel tek katlı prizmatiktir. Prizmatik hücreler yüzey müköz hücreleri olarak adlandırılmaktadır. Her hücre, müsinojen granüllerden oluşan büyük bir apikal kadehe sahiptir. Böylece, glandüler bir hücre yaprağı meydana gelir. Müköz kadeh hücre hacminin büyük kısmını işgal eder. Yüzey müköz hücrelerinden salgılanan mukus, bulanık görünümü nedeniyle görünen mukus olarak tanımlanmıştır. Bu mukus, epitelyal yüzeye yapışan kalın, viskoz, jel benzeri bir örtü oluşturur ve böylece kimusun kaba içeriğinden

kaynaklanan abrazyona karşı korunma sağlar. Mide döşemesinin absorpsiyon fonksiyonu yoktur. Bununla birlikte, biraz su, tuzlar ve lipitte çözünebilen ilaçlar absorbe edilebilir. Örneğin, alkol ve aspirin ya da non-steroid anti-enflamatuar ilaçlar yüzey epiteline hasar vererek lamina propriyaya girerler. Küçük aspirin dozları bile gastrik mukoza tarafından koruyucu prostaglandinlerin üretimini baskılamaktadır. Ek olarak, aspirinin direkt olarak mide duvarına teması gastrik mukozanın hidrofobik özelliklerini bozar (4).

Fundus bezleri midenin gastrik sıvısını üretirler. Gastrik bezler olarak da adlandırılan fundus bezleri, kardiyak ve pilor bezlerinin bulunduğu nispeten küçük bölgelerin dışındaki tüm gastrik mukoza boyunca bulunmaktadır. Fundus bezleri gastrik çukurcukların tabanından muskularis mukozaya uzanan basit dallı tübüler bezlerdir. Gastrik çukurcuk ile alttaki bezin arasında istmus olarak bilinen kısa bir segment bulunur. Fundus bezlerini oluşturan hücreler dört fonksiyonel tiptedir. Her biri farklı görünüme sahiptir. Bunlara ek olarak, bu dört hücre tipini oluşturan farklılaşmamış hücreler de vardır. Bezi oluşturan çeşitli hücreler şunlardır; müköz boyun hücreleri, şef hücreler, pariyetal hücreler (ki oksintik hücreler de denir), enteroendokrin hücreler ve farklılaşmamış yetişkin kök hücreleri (Şekil 1 ve Şekil 2 ) (4).



**Şekil 1.** Gastrik bezler, a.IM görünüm X320.b.Gastrik çukurcuk ile bezin ilişkisini gösteren gastrik bez şematik diyagramı (4)

Müköz boyun hücreleri bezin boyun bölgesinde bulunmaktadır ve aralarında saçılmış halde pariyetal hücreler bulunmaktadır. İsminden de anlaşılacağı üzere müköz boyun hücreleri fundus bezlerinin boyun bölgesinde bulunmaktadır. Pariyetal hücreler genellikle bu hücre gruplarının arasına serpilmiştir. Müköz boyun hücresi yüzey müköz hücresinden daha kısadır ve apikal sitoplazmasında daha az müsinojen içermektedir (4).

Şef hücreler fundus bezlerinin daha derin kısmında bulunmaktadırlar. Şef hücreler tipik olarak protein salgılayan hücrelerdir. Bazal sitoplazmada bol miktarda bulunan granüllü endoplazmik retikulum hücrenin bu bölümüne bazofilik görünüm verirken, apikal sitoplazma salgı veziküllerinin varlığı nedeniyle eozinofiliktir. Salgı veziküllerine enzim prekürsörleri içermeleri nedeniyle zimojen granüller de denmektedir. Özellikle bazofili bu hücrelerin Hematoksilen-Eozin (H-E) kesitlerinde kolayca tanınmasına olanak sağlamaktadır. Salgı vezikülleri yeterince korunmadığında eozinofili soluk olabilir ya da bulunmaz. Şef hücreler pepsinojen ve zayıf bir lipaz salgırlar. Asidik gastrik sıvı ile temas ettiğinde pepsinojen proteolitik bir enzim olan pepsine dönüşür (4).

Pariyetal (oksinetik) hücreler fundus bezlerinin boyun kısmında, müköz boyun hücrelerinin arasında ve bezin daha derin kısmında bulunurlar. Boynun üst ve orta kısmında daha fazla sayıda bulunma eğilimindedirler. Büyük ve bazen çift nükleusludurlar. Kesitlerde üçgene benzer şekilde, apeks bezin lümenine doğru, taban ise bazal laminaya oturmuş biçimde görünürler. Nükleus küre şekillidir ve sitoplazma eozin ve diğer asidik boyalarla boyanır. Boyutları ve belirgin boyanma özellikleri fundus bezinde bulunan diğer hücrelerden kolayca ayırt edilmelerini sağlar. Pariyetal hücreler HCl ve intrinsik faktör salgılamaktadırlar (4).

Enteroendokrin hücreler fundus bezinin her seviyesinde bulunurlar. Bununla birlikte, bazalde daha sık olma eğilimindedirler. Genel olarak, gastrointestinal kanal boyunca iki tip enteroendokrin hücre ayırt edilebilir. Bu hücrelerin çoğu bazal laminada oturan ve lümenine her zaman ulaşmayan küçük hücrelerdir. Bu hücreler enteroendokrin "kapalı" hücreler olarak bilinirler. Bununla birlikte, bazı hücreler bezin lümenine uzanan mikrovilluslu ince sitoplazmik uzantılara sahiptirler. Bu

hücrelere de enteroendokrin "açık" hücreler denmektedir. Enteroendokrin hücreler ürünlerini ya lamina propriyaya ya da alttaki kan damarlarına salgırlar (4).

Kardiya bezleri, midenin özofagusun ağzını çevreleyen dar bir alanıyla (kardiya) sınırlıdır. Bu bezlerin, özofageal kardiya bezleri ile birlikte salgısı gastrik sıvıya katılır ve özofageal epiteli gastrik reflüye karşı korumaya yardım eder. Bezler tübüler, bir miktar kıvrımlı, bazen de dallıdır. Başlıca mukus salgılayan hücrelerden ve aralara serpilmiş seyrek enteroendokrin hücrelerden oluşmaktadırlar. Mukus salgılayan hücreler görünüm olarak özofageal kardiya bezlerinin hücrelerine benzemektedirler. Yassı bazal bir nükleusa sahiptirler ve apikal sitoplazma tipik olarak mün granülleri ile doludur. Bezin sekretuar kısmı ile bezlerin salgılama yaptığı sığ çukurcukların arasında uzun nükleuslu prizmatik hücreleri içeren kısa kanal segmenti bulunmaktadır. Kanal segmenti yüzey müköz hücrelerinin ve bez hücrelerinin üretildiği bölgedir (4).

Pilor bezleri pilorik antrumda (midenin fundus ile pilor arasında kalan kısmı) bulunmaktadır. Bu bezler dallı, sarmallaşmış, tübüler bezlerdir. Lümen nispeten genişir ve salgılayıcı hücreler görünüm olarak yüzey müköz hücrelerine benzemektedirler. Bu görünüm nispeten viskoz bir salgı ürettiklerini düşündürmektedir. Enteroendokrin hücreler seyrek pariyetal hücreler ile beraber bez epiteli içerisine karışmıştır. Bezler mukozanın kalınlığının yarısını işgal eden derin gastrik çukurcuklara boşalır (4).

Midenin lamina propriyası oldukça azdır ve gastrik çukurcukları ve bezleri çevreleyen alanla sınırlıdır. Stroma büyük oranda retiküler liflerden ve bu liflerle ilişkili fibroblastlardan ve düz kas hücrelerinden oluşmaktadır. Diğer komponentler, lenfositler, plazma hücreleri, makrofajlar ve az miktarda eozinofil olmak üzere

immün sistemin hücreleridir. Sıklıkla gerçekleşen bir durum olan enflamasyon oluştuğunda, nötrofiller de belirgin olabilir. Genellikle muskularis mukozaya giren nadir lenf nodülleri de bulunmaktadır (4).

Muskularis mukoza nispeten ince iki tabakadan oluşmaktadır ve genellikle iç sirküler ve dış longitudinal tabaka olarak düzenlenmiştir. Bazı bölgelerde, üçüncü bir tabaka bulunabilmekte ve bu tabakanın yönelimi sirküler olma eğilimindedir. Muskularis mukozanın iç tabakasından gelen ve düz kas hücrelerinden oluşan ince kordonlar lamina propriya içinde yüzeye doğru uzanırlar. Lamina propriyadaki bu düz kas hücrelerinin gastrik bez salgılarının dışa akışına yardım ettiği düşünülmektedir (4).

Submukoza, değişken miktarda adipoz doku, kan damarları ve bunlara ek olarak sinir lifleri ve submukozal (Meissner) pleksusu oluşturan gangliyon hücrelerini içeren sıkı bağ dokusundan meydana gelmektedir. Submukozal pleksus, submukozanın damarlarını ve muskularis mukozanın düz kasını innerve eder (4).

Midenin muskularis eksternası geleneksel olarak dış longitudinal tabaka, orta sirküler tabaka ve iç oblik tabakadan oluşmaktadır. Bu tanımlama biraz yanıltıcıdır; çünkü farklı tabakaları seçmek zor olabilir. Diğer içi boş, küre benzeri organlarda (örn. safra kesesi, mesane ve uterus) olduğu gibi, midenin muskularis eksternasının düz kası, tabaka teriminin ifade ettiğinden biraz daha fazla rasgele yönelimlidir. Bundan başka, midenin anterior ve posterior yüzeylerinde longitudinal tabaka yoktur ve periözofageal bölgede sirküler tabaka az gelişmiştir. Kas tabakalarının düzenlenişi fonksiyonel olarak önemlidir; çünkü sindirim işlemi sırasında kimusun karıştırılmasındaki rolüyle ve kısmen sindirilmiş içeriği ince bağırsağa doğru itme yeteneğiyle ilişkilidir. Kas tabakalarının arasında gangliyon hücre grupları ve

miyelinsiz sinir lifleri bulunmaktadır. Bu yapılar toplu olarak, kas tabakalarının innervasyonunu sağlayan miyenterik (Auerbach) pleksusu temsil etmektedirler (4).

Midenin serozası, sindirim kanalının genelinde olduğu gibidir. Omentum majus aracılığıyla abdominal kavitenin pariyetal peritonu ile ve omentum aracılığıyla karaciğerin visseral peritonu ile devamlılık gösterir. Başka özel nitelikler sergilememektedir (4).

### **3.2. İştah Kontrolü ve Açlık**

#### **3.2.1. İştah Kontrolü ve Enerji Regülasyonu**

Genel olarak bütün canlı varlıklar büyüyüp gelişmek hayatını idame ettirebilmek, üreyip çoğalabilmek için gıdaları alıp bunları sindirerek kullanmak zorundadır. Gıdalarla alınan bu maddelere besin bu sürece de beslenme adı verilir (5).

İştah ise, belirli tipte bir besine karşı isteği belirtir ve besinin niteliğini seçme konusunda kişiye yardım eder (6).

Büyüme-gelişme, gebelik, emzirme, ağır egzersiz, hastalıklar ve travma besinsel ihtiyaçları artıran durumlardır. Erkeklerin enerji ihtiyacı kadınlardan fazladır. Yaşlanma ile yağsız vücut kitlesinin azalmasına bir yandan da aktivite azalmasına bağlı olarak enerji ihtiyacı azalır. Metabolik faaliyetlerdeki değişikliklere ve glomerül filtratının düşmesine bağlı olarakta bazı besinlerin tolere edilebilir sınırları aşağıya iner. İklim koşulları bir ölçüde besin ihtiyacını etkileyebilir. Soğuk iklimde enerji ihtiyacı artarken sıcak iklimde fazla terleme nedeniyle su ve bazı minerallere duyulan ihtiyaç artar.

Modern yaşam şekli; enerji alımı ve gideri arasında kesin eşleştirmenin zor olduğu bir çevre içinde hangi yemeğin yenildiği ve fiziksel aktivite ile miktarının ne

olacağındaki kabul edilebilir değişikliklere yol açmaktadır. Halen aynı obezojenik çevrede ya da obeziteye direnmeyi başarabilen bireyler vardır. Vücut ağırlığının uzun dönem tutarlılığının sağlanmasında hem enerji alımında hem de harcanmasında kompensatuar ayarlamalar yapılmaktadır. Dolayısıyla birinin veya diğerinin önemini kaybettirmek imkansız değilse bile zordur (5). Söz konusu bu enerji dengesinin sürdürülmesi ise karşılıklı olarak etkileşen karmaşık ve dinamik bir süreçle sağlanmaktadır (7).

Yukarıda belirtilen nedenlerden dolayı gıda/yiyecek/besin alımının kontrolü, herhangi bir biyolojik kontrol sisteminde olduğu gibi analiz edilir. Bu sistemdeki nisbeten sabit tutulan değişiklikler total vücut enerji içeriği veya özellikle total yağ depolarıdır (8). Tamda bu sebepten ötürü gıda alımı merkezi kaynaklı hormon sinyallerinin ve periferden köken alan diğer hormonal ve sinirsel sinyallerin birleşimiyle düzenlenen kompleks, çok yönlü ve çok boyutlu bir işlemdir (9).

Gıda alımını etkileyen çok sayıda hormon belirlenmiştir ve bu sayı sürekli artmaktadır. Gıda alımının hassas hormonal kontrolündeki hafif aksamalar, leptin veya leptin reseptörü yetersiz hayvanlarda ve insanlarda görülen şiddetli obezite ve azalan ghrelin üretimiyle birlikte insanlarda gözlenen anoreksiya gibi yıkıcı etkilere sahiptir. Geçtiğimiz son birkaç on yılda, gıda alımını ve enerji tüketimini değiştirmek için beyinde özellikle hipotalamusta etkili olan düzinelerce nöropeptit belirlenmiştir. Bu peptitlerin üretimi ve etkilerinin obezite durumunda değiştii gözlenmiştir ve birçoğunun iştah ve glikoz metabolizmasının fizyolojik olarak ilişkili düzenleyicileri olduğu görülmüştür (9). Bu moleküllerin her biri iştahın ve/veya enerji metabolizmasının belirleyici molekülleridir (7). Adipositlerin ürettiği ve gıda alımını düşürmek için beyinde etki gösteren leptin buna bir örnektir (9).

Fikir vermek amacıyla basit bir örnek olarak leptinin enerji regülasyonunda ki rolüne bakıldığında durum daha iyi anlaşılacaktır. Nöronlar içerisindeki leptin sinyalizasyonu, sinyalleri esas olarak Janus Kinaz 2/Transkripsiyon dönüştürücü ve sinyal aktive edici-3 (JAK2/STAT3 - Janus kinase 2/Signal transducer and activator of transcription-3) aracılığıyla alan uzun formu leptin reseptörü (Ob-Rb) ' nün varlığına bağlıdır. Sitokin sinyalizasyon baskılayıcı -3 (SOCS3- Suppressor of cytokine signaling 3) ise, JAK2/STAT3 yolağı tarafından stimüle edilen leptin reseptörünün negatif bir düzenleyicisidir. Ob-Rb ve SOCS3'ün gen ekspresyon düzeyleri leptin duyarlılığı için bir belirteçdir (10).

Gıda alımı yani beslenme veya besin alımı açlık, tokluk ve iştah duyguları ve kavramlarıyla ifade edilebilen bir süreçtir. Bu duyguların hepsi çevresel ve kültürel faktörlerden etkilenirler. Bunlar aynı zamanda beyindeki, özellikle hipotalamustaki, özgül merkezler tarafından kontrol edilirler (6).

### **3.2.2. Açlık ve Tokluk Merkezleri**

Hipotalamusun çeşitli sinirsel merkezleri beslenmenin kontrolüne katılır. Hipotalamusun lateral çekirdekleri açlık merkezi olarak görev yaparlar. Bu alanın uyarılması hayvanın oburca yemesine neden olur (hiperfaji). Öte yandan lateral hipotalamusun harabiyeti, besine karşı isteğı ortadan kaldırır ve belirgin kilo kaybı, kas zayıflığı ve metabolizmanın azalmasına yol açar. Lateral hipotalamik beslenme merkezi, hayvanın özellikle motor besin arama dürtüsünü uyarak çalışır (6).

Hipotalamusun ventromedyal çekirdekleri tokluk merkezi olarak görev yaparlar. Bu merkezin, hayvana beslenme ile ilgili tatmin duygusu verdiği ve beslenme merkezini baskıladığına inanılmaktadır. Bu alanın elektriksel olarak uyarılması tam tokluk yaratır. Bu durumda, çok iştah açıcı yemekler bulunsa bile,

hayvan yemeği reddeder (afaji). Aksine bu alanın haraplanması, oburluğa ve hayvanın aşırı şişmanlamasına, bazen normal büyüklüğünün dört katına ulaşınca kadar, sürekli yemesine yol açar (6).

Hipotalamusun paraventriküler, dorsomedyal ve arkuat çekirdeklerinin de besin alımını düzenlediklerine inanılmaktadır. Örneğin paraventriküler çekirdeklerin lezyonları sıklıkla aşırı yemeye neden olurken, dorsomedyal çekirdeklerindeki lezyonlar genellikle yeme davranışını baskılar. Daha sonra tartışılacağı gibi, arkuat çekirdekler, sindirim sisteminden ve yağ dokusundan salınan çok sayıda hormonun besin alımını ve enerji harcanmasını düzenlemek üzere etkilerinin birleştiği bir hipotalamus bölgesidir (6).

Hipotalamus nöronları arasında yoğun bir kimyasal etkileşim vardır ve bu alanlar hep birlikte yeme davranışını kontrol eden ve tokluk hissini veren olayları düzenlerler. Bu çekirdekler ayrıca tiroid bezi, adrenal bezler ve pankreasın adacık hücrelerinden salgılanan hormonlar dahil, enerji dengesi ve metabolizmanın düzenlenmesinde önemli olan birçok hormonun salgılanmasını da etkilerler (6).

Hipotalamus ayrıca bu merkezi rolünün dışında mide-bağırsak kanalından gelen duysal bilgileri (midenin dolu olması gibi), kanda tokluk hissi veren besin maddeleri ile ilgili kimyasal sinyalleri (glikoz, amino asitler ve yağ asitleri), gastrointestinal hormonlardan gelen periferik kökenli sinyalleri ve beslenme davranışını etkileyen serebral korteks yani santral kökenli sinyalleri de (görme, koku ve tat) alır (6).

Hipotalamusun açlık ve tokluk merkezleri beslenmeyi etkileyen nörotransmitter ve hormonlar için yüksek yoğunlukta reseptörler içerir. Deneysel çalışmalarda beslenme davranışı ve iştahı değiştirdiği gösterilmiş birçok maddenin

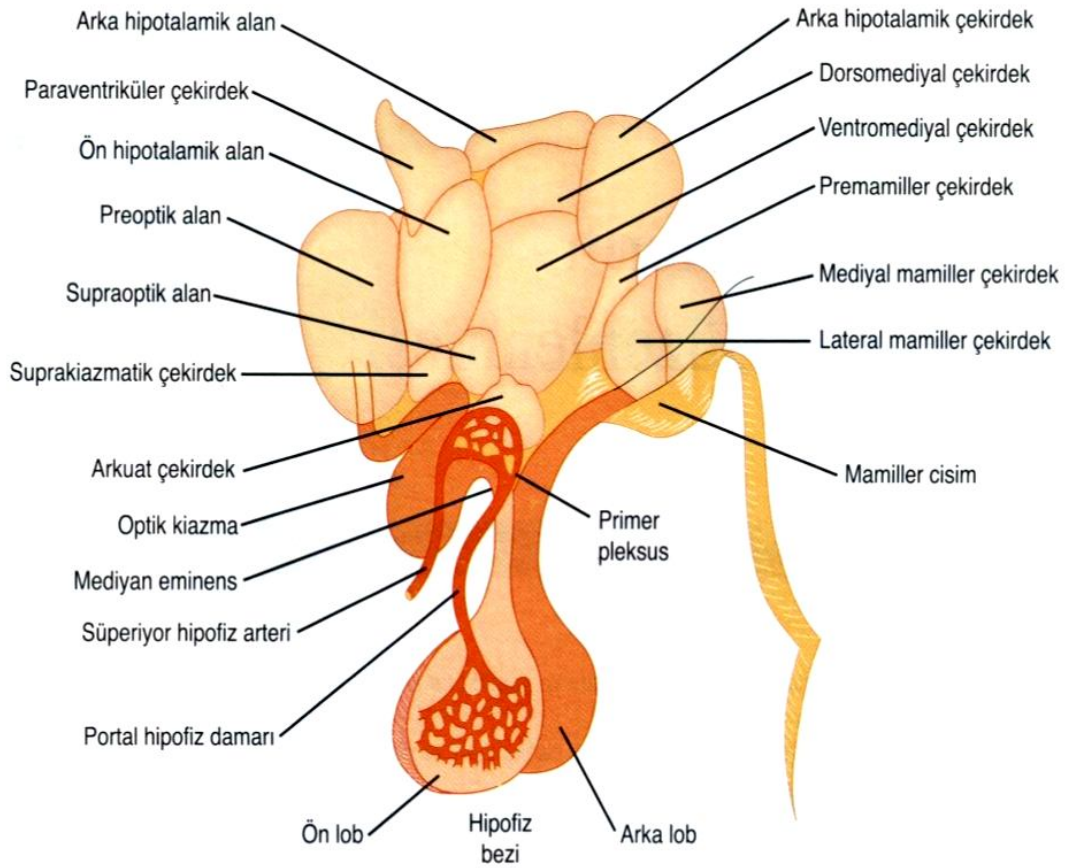
birkaç tanesi tablo halinde verilmiş ve beslenmeyi uyaran, (1) iştah açıcı (oreksijenik) maddeler veya (2) beslenmeyi baskılayan, iştah azaltıcı (anoreksijenik) maddeler şeklinde sınıflandırılmıştır (Tablo 1) (6).

**Tablo 1.** Merkezi sinir sistemi ve periferik organlardan kaynaklanan oreksijenik, anoreksijenik nöropeptidler (11)

<b>Nöropeptidler</b>	<b>Oreksijenik</b>	<b>Anoreksijenik</b>
Merkezi sinir sisteminden kaynaklanan nöropeptidler	Nöropeptid Y	Kokain ve amfetamin ilişkili transkript (CART)
	Melanin konsantr edici hormone (MCH)	Proopiomelanokortin (POMC)
	Oreksin/Hipokretin	Glukagon benzeri peptid
	Agouti ilişkili peptid (AgRP)	Kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH)
	Galanin	Serotonin
	Endojen opioidler	Nörotensin
	Endokannabinoid	
Periferik nöropeptidler	Ghrelin	Peptit YY
		Kolesistokinin (CCK)
		Leptin
		Amilin
		İnsülin
	Glukagon benzeri peptid	
	Bombesin	

### 3.2.3. İştahın Sinirsel Kontrolünün Anatomik Alt Yapısı

İştahın sinirsel kontrolü üzerine yapılan çalışmalar tarih boyunca hipotalamus ve soliter kanalın çekirdeği gibi beyin sapında belirli alanlar üzerine odaklanmıştır (12) Bilindiği üzere pek çok hipotalamik çekirdek iştah kontrolüne dahildir (Şekil 2) (9).



**Şekil 2.** Hipotalamusda yer alan iştah kontrolü üzerinde etkili Arkuat ve Paraventriküler Çekirdekler ile Mamiller Cisimler (13)

Arkuat çekirdek POMC üreten bellibaşlı iki nöron popülasyonundan yalnızca birini içermektedir (diğer popülasyon Traktus Solitarius çekirdeğinde bulunmaktadır). Her iki beyin çekirdeğindeki POMC nöronları önemli bir metabolik ve otonomik düzenleyici devre oluşturur (14).

Paraventriküler çekirdekler temel olarak üç nöron tipini ihtiva ederler. Magnoselüler nöronlar vazopressin ve/veya oksitosin üreten ve arka hipofiz ya da diğer beyin alanlarına yönelerek projeksiyon yapan büyük hücrelerdir. Preotonom parvoselüler nöronlar ise traktus solitarius çekirdeği ve rostral ventral lateral medulla gibi beyin sapının otonom merkezlerine yönelen daha küçük hücrelerdir.

Nöroendokrin parvoselüler nöronlarda, salgıladıkları hormonları hipofizeal portal sisteme iletmek üzere eminensia medialis aksonlarını gönderirler (15).

Hipotalamusun arkuat çekirdeğine ilaveten, Traktus Solitarius çekirdeği POMC üreten iki ana nöron popülasyonundan yalnızca birine sahiptir ve Melanokortin reseptörü (MCR) ekspresyonu için belli başlı bölgelerden biridir. Traktus Solitarius çekirdeği iştah durumunda ortaya çıkan sinyal değişikliklerini doğrudan vagal girdiler şeklinde alır (12).

Yine hipotalamustaki iştahla ilgili diğer bir bölgede gastrointestinal aktivitenin tüm kontrolüne katılan, dudak yalama ve yutma gibi birçok beslenme refleksini kısmen kontrol eden mamiller cisimlerdir (16)

Beslenme ile ilgili diğer sinirsel merkezler ise hipotalamus ile yakından ilişkisi olan amigdala ve prefrontalkortekstir. Amigdalanın bölümlerinin olfaktor sinir sisteminin başlıca komponentlerinden biri olduğu bilinmektedir. Amigdalanın bazı alanlarının lezyonları beslenmeyi artırdığı halde bazılarının lezyonu beslenmeyi inhibe eder. Ayrıca amigdalanın bazı alanlarının uyarılması beslenmenin mekanik eylemini kolaylaştırır. Amigdalanın iki taraflı harabiyetine bağlı en önemli etki besinlerin seçimi ile ilgili ruhsal körlüktür. Diğer bir deyişle hayvan (ve muhtemelen insanlar)yediği besinin tipinin ve kalitesinin kontrolünü kaybeder (17).

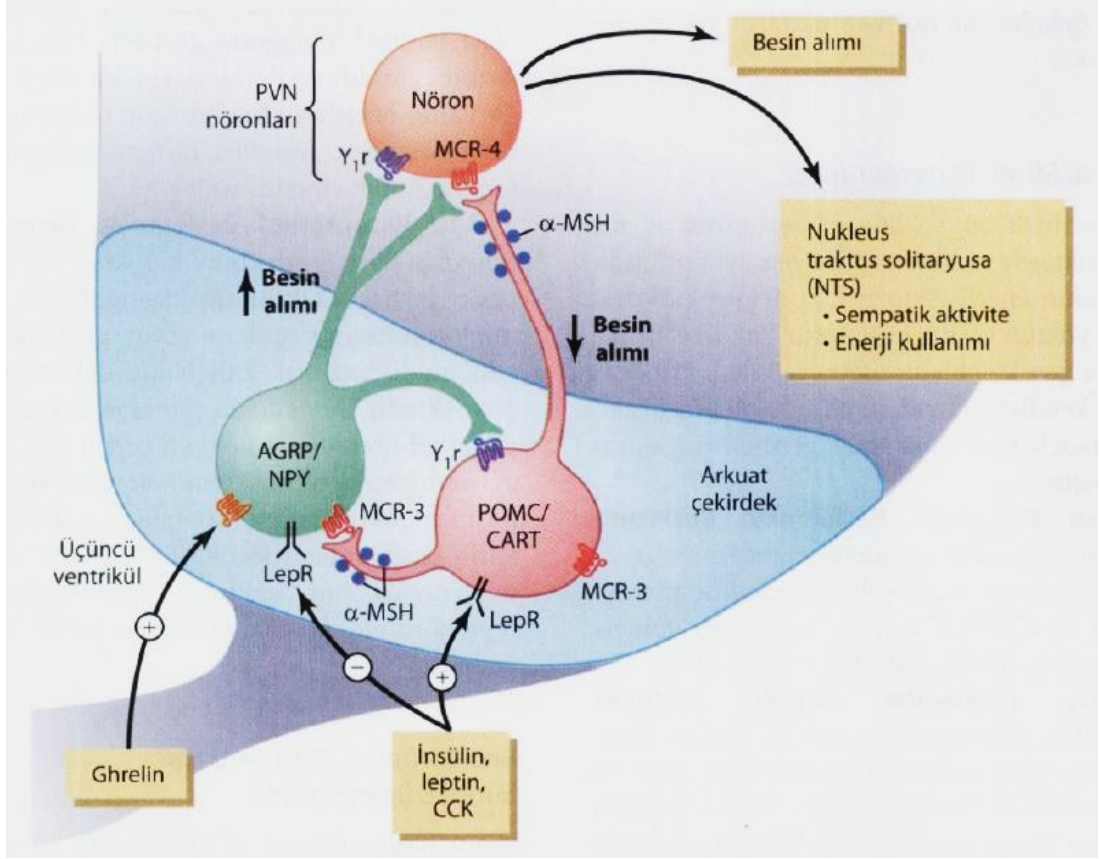
Ayrıca Merkezi Melanokortin Sisteminin yapısına katılarak iştah davranışının oluşmasında önemli rol oynayan çekirdeklerden bir diğeride beyin sapındaki Nükleus Traktus Solitariusdur (NTS) (9).

Tüm bunlara ilaveten Hipotalamusun bu çekirdekleri birbirleri ile yoğun iletişim halindedir. Arkuat çekirdek, paraventriküler çekirdeklerle kapsamlı bir

iletişim halindedir. Soliter kanalın çekirdeğinde hipotalamusla doğrudan karşılıklı bağlantı içerisindedir (12).

Bu çekirdekler arasındaki iletişim genel bir bakış yapıldığında şöyle meydana gelmektedir. Hipotalamusun arkuat çekirdeğinde iştah ve enerji tüketimini kontrol eden iki tip sinir hücresi bulunmaktadır: (1)  $\alpha$ -Melanosit uyarıcı hormon ( $\alpha$ -MSH) ile birlikte CART üreten POMC nöronları (Anoreksijenik, POMC/ $\alpha$ -MSH ve CART) ve (2) iştah açıcı maddeler olan Nöropeptit Y (NPY) ve AgRP üreten nöronlar (Orexigenik, NPY ve AgRP). POMC nöronlarının uyarılması yiyecek alımını azaltır ve enerji tüketimini artırır oysa NPY-AgRP nöronlarının aktif hale getirilmesi yiyecek alımını artırır ve enerji tüketimini azaltır. Bu nöronlar leptin, insülin, CCK ve ghrelin gibi iştah düzenleyen çeşitli hormonların etkileri için başlıca hedeflerdir. Denilebilir ki, arkuat çekirdeklerin nöronları enerji depolarını düzenleyen birçok sinirsel ve periferik sinyallerin toplandığı bir yerdir (6,18) (Şekil 3).

Sistemik bir bakış açısıyla değerlendirildiğinde ise bu önemli beyin yapılarında bulunan nöronlar, iştahı kontrol eden sinirsel devreler oluştururlar. Bu devreler, etkilerini göstermek için  $\alpha$ -MSH ve oksitosin gibi senkronize olarak ya da seriler halinde etki eden peptit nörotransmitterler aracılığıyla iletişim kurarlar. Bu devrelerden ikisi merkezi melanokortin sistemi ve merkezi oksitosin sistemidir (9).

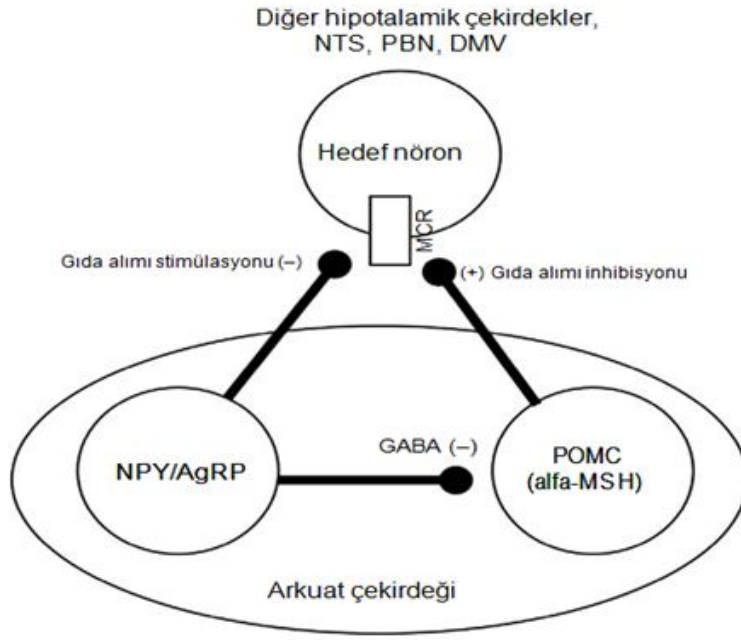


**Şekil 3.** Enerji dengesinin arkuat çekirdeklerdeki iki nöron tipiyle denetlenmesi (6)

(1) POMC nöronları;  $\alpha$ -MSH ve CART salgılar, besin alımını azaltır ve enerji harcanmasını artırır. (2) AgRP ve NPY üreten nöronlar; besin alımını artırır ve enerji harcanmasını azaltır. POMC nöronlarından salınan  $\alpha$ -MSH, nükleus traktus solitarius ulaşan sinir yollarını aktive eden paraventriküler çekirdeklerdeki melanokortin reseptörlerini uyarır, sempatik aktiviteyi ve enerji harcanmasını artırır. AgRP, MCR-4 antagonisti olarak davranır. İnsülin, leptin ve kolesistokinin CCK, AgRP-NPY nöronlarını baskılar ve komşu POMC-CART nöronlarını uyarır; böylece besin alımını azaltan hormonlardır. Ghrelin mideden salgılanan, AgRP-NPY nöronlarını uyararak besin alımını arttıran bir hormondur. LepR: leptin reseptörü;  $Y_1r$ : Nöropeptit  $Y_1$  reseptörü; NTS: Nükleus traktus solitarius; PVN: Paraventriküler nükleus.

### 3.2.3.1 Merkezi Melanokortin Sistemi

Merkezi Melanokortin Sistemi anatomik olarak ya POMC prehormonun bir ürünü olan  $\alpha$ -MSH veya NPY ve AgRP üreten beyin sapının traktus solitarius çekirdeği ile hipotalamusun arkuat çekirdeğinden oluşan bir sistem olarak tanımlanmıştır. Bu sistem içerisinde AgRP agonist aktivitesine ek olarak, NPY/AgRP nöronları POMC nöronlarını Gamma amino bütirik asit (GABA) salgılayarak doğrudan baskılayabilir (9) (Şekil 4).



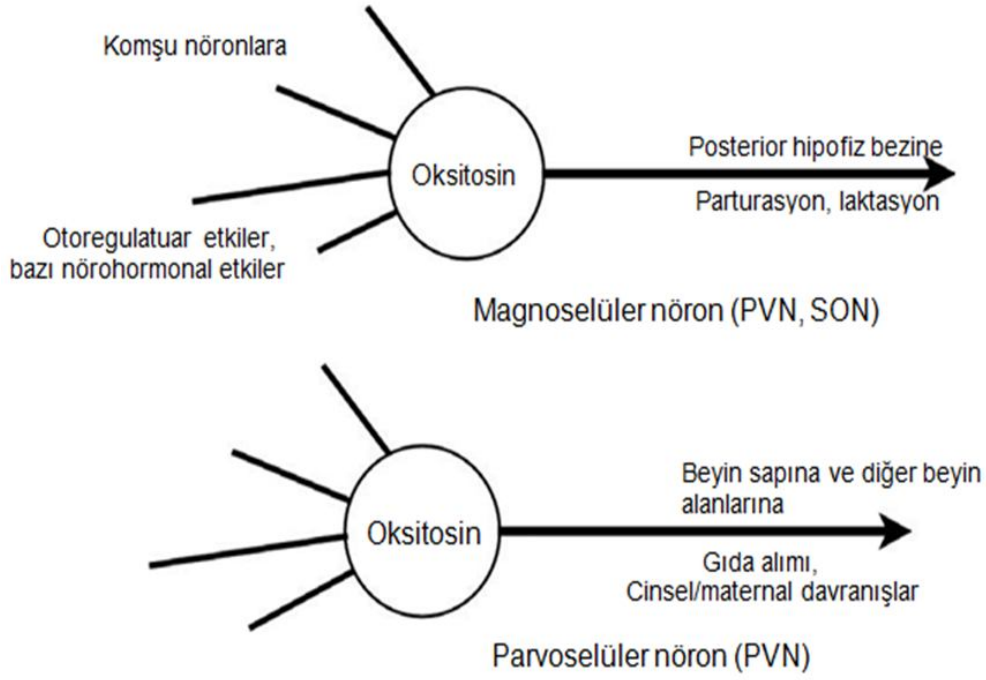
**Şekil 4.** Merkezi melanokortin sistemi (9)

Arkuat nükleusdan köken alan NPY ve POMC nöronları gıda alımını ya baskılamak ya da uyarmak için MCR üreten nöronlara projekte olurlar. NTS (Soliter kanalın çekirdeği - Nucleus tractus solitarius); PBN (Parabrakiyal çekirdek- Nucleus parabrachialis); DMV (Vagusun dorsal motor çekirdeği- Dorsal motor nucleus of vagus).

Hipotalamik melanokortin sistemi vücudun enerji depolarını düzenlemede güçlü bir rol oynar ve melanokortin yolunun kusurlu sinyal oluşturması aşırı şişmanlıkla sonuçlanır. Gerçekten, çoğunlukla tek genli olarak ifade edilen MCR-4 mutasyonları insanlarda şişmanlığa yol açar ve bazı çalışmalar MCR-4 mutasyonlarının çocuklarda erken yaşlarda başlayan aşırı şişmanlığın %5-6'sını oluşturduğunu göstermektedir. Aksine, melanokortin sisteminin aşırı aktifleşmesi iştahı azaltır. Bazı çalışmalar bu aktifleşmenin şiddetli enfeksiyonlar, kanser tümörleri veya üremi ile ilişkili iştahsızlığın oluşumunda rol oynayabileceğini göstermektedir (6).

### 3.2.3.2. Merkezi Oksitosin Sistemi

Merkezi oksitosin sistemi, baskın şekilde hipotalamusun paraventricüler çekirdeği ve supraoptik çekirdeğinde bulunan nöronlardan oluşmaktadır (Şekil 5).



### Şekil 5. Merkezi oksitosin sistemi(9)

Hipotalamusun PVN (Paraventriküler çekirdek) ve SON (Supraoptik çekirdek) kökenli magnosellüler oksitosin nöronları otoregulator etkileri ortaya çıkarmak ve genel dolaşıma serbestlendiği posterior hipofiz bezine aksonal olarak projekte olmak için oksitosini dendritik olarak serbestlerler. PVN'den köken alan parvosellüler oksitosin nöronları ise gıda alımını ve diğer davranışları etkilemek için başlıca beyin sapına ve diğer beyin bölgelerine projekte olurlar.

Oksitosin üreten nöronların iki çeşidi bulunmaktadır. Magnoselüler oksitosin nöronları (hem paraventriküler hem de supraoptik çekirdeklerde) oksitosinin genel dolaşıma verildiği arka hipofize yönelirler. Parvoselüler oksitosin nöronları baskın olarak paraventriküler çekirdekte yer almaktadır ve esas olarak iştahı ve çok çeşitli davranış ve homeostatik mekanizmaları etkilemek için beyin sapı ve diğer beyin bölümlerine yönelirler. Oksitosin nöronları, sodyum iştahı, beslenme, yakınlık ve annelik davranışları, merkezi kardiyovasküler kontrol ve üremenin hipotalamus tarafından düzenlenmesi ile ilişkili fizyolojik rol oynarlar.

Merkezi melanokortin sistemi gibi, merkezi oksitosin sisteminin de iştah kontrolünde önemli olduğu gösterilmiştir. Oksitosinin merkeze enjekte edilmesi erkek sıçanlarda gıda alımını doza bağlı olarak düşürmüştür ve oksitosin yetersizliği

olan fareler kayda değer şekilde daha fazla sükröz ve sodyumu midelerine almıştır. Oksitosin yetersizliği olan farelerde ayrıca geç başlangıçlı obezite ortaya çıkmıştır (9).

Birçok kanıt oksitosinin merkezi melanokortin sisteminin bir aşağı akışlı (downstream) mediatörü olduğu hipotezini desteklemektedir. Melanokortin  $\frac{3}{4}$  reseptör agonisti  $\alpha$ -MSH'nin intraserebroventriküler olarak verilmesi, oksitosin üreten nöronlarda c-Fos birikimine yol açmıştır (19).

Hipotalamusun iştah açıcı nöronlarından serbestlenen AgRP, MCR-3 ve MCR-4'ün doğal bir antagonistidir ve olasılıkla melanokortin reseptörlerini uyanan  $\alpha$ -MSH'nin etkilerini baskılayarak beslenmeyi artırır. Besin alımının normal fizyolojik kontrolünde AgRP'nin rolü bilinmemektedir; ama insan ve farelerde gen mutasyonlarına bağlı olarak aşırı AgRP oluşumu, aşırı beslenme ve şişmanlıkla bağlantılıdır (6).

Arkuat çekirdeklerin iştah açıcı nöronlarından da NPY serbestlenmektedir. Vücudun enerji depoları azaldığında iştah uyanan NPY'yi serbestletmek için, iştah açıcı nöronlar aktifleşir. Aynı zamanda POMC nöronlarının ateşlenmesindeki azalmaya bağlı olarak, melanokortin yolunun aktivitesi azalır ve iştah daha fazla uyarılır (6). NPY, hipotalamus içinde beslenmeyi başlatma, puberte, gonadotropin sekresyonunun regülasyonu ve adrenal yanıtılığı oluşturmada kapsayan pek çok fonksiyona sahiptir. NPY primer oreksijenik peptittir. Ratlarda NPY'nin intra serebroventriküler (icv-intracerebroventricular) infüzyonu hiperfaji, enerji depolanması ve obeziteye yol açar. Bu etkileri Y1 ve Y5 reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirir. Açlık ve kilo kaybı ARC'de (açlığın artmasından sorumlu olan )NPY

ekspresyonunu artırırken, Pankreatik peptit YY<sub>3-36</sub> veya Peptit tirozin tirozin (PYY<sub>3-36</sub>) (Y2 reseptörleri aracılığıyla) ve leptin ise NPY mRNA'yı azaltır (18).

### 3.2.4. MCR Reseptörleri

Proopiomelanokortin prekürsöründen oluşan  $\alpha$ -MSH, melanokortin familyasındandır. POMC nöronlarının salgıladığı  $\alpha$ -MSH özellikle paraventriküler çekirdeklerin nöronlarında bulunan melanokortin reseptörlerini etkiler. En az 5 tip melanokortin reseptörü bulunsa da MCR-3 ve MCR-4 özellikle besin alımı ve enerji dengesini düzenlemede önemlidir.

$\alpha$ -MSH, MCR4-R üzerinden etkisini gösterir. İştah ve beslenme davranışını düzenleyen MC3-R ve MC4-R, AgRP tarafından inhibe edilir (Oreksijenik etki).  $\alpha$ -MSH ise MC4-R üzerinden etkisini gösterir (Anoreksijenik etki). MC3-R ve MC4-R özellikle beyinde bulunur. Bu reseptörlerin aktifleştirilmesi enerji tüketimini artırırken yiyecek alımını azaltır. Aksine MCR-3 ve MCR-4 un baskılanması besin alımını önemli ölçüde artırır ve enerji tüketimini azaltır (9,6,18,20).

Enerji tüketimini artırmak üzere, MCR'nin aktifleşmesinde kısmen paraventriküler çekirdeklerden traktus solitarius çekirdeğine giden sinir yollarının aktifleşmesi aracılık eder ve sempatik sinir sistemi aktivitesini uyarır (6). Çünkü Soliter kanalın çekirdeği hipotalamusla doğrudan karşılıklı bağlantı içerisindedir ve sempatik pregangliyonik nöronları, rostroventrolateral medulla ile yaptığı bağlantıları sayesinde etkileyebilir (12). Dolaylı bir kanıt olarak Agouti yellow obez farelerde yüksek arteriyel basıncın bulunması MCR  $\frac{3}{4}$  'lerinin sempatik sinir sistemin aktivite regülasyonunda etkili olabileceğini göstermektedir (20).

Melanokortin reseptörleri (özellikle MCR  $\frac{3}{4}$  ) hipotalamusun preoptik ve paraventriküler nükleusları ile periventriküler saha ve dorsal hipotalamik sahada

üretildiği gibi aynı zamanda traktus solitarius çekirdeği, vagusun dorsal motor çekirdeği, parabrakial nükleus, kaudat ve putamende de üretilir (19)

### **3.3. Açlık**

#### **3.3.1. Açlık tanımı, etyolojisi ve tarihçesi**

Açlık hissi midedeki ritmik kasılmalar ve huzursuzluk gibi birçok fizyolojik etkiler ile ilişkilidir ve kişiyi uygun bir besin kaynağı aramaya yöneltir (6). Açlıktan iştahı ayırmak gerekir. Açlık fizyolojik bir olayken, iştah psikolojik bir olgudur (21). Besin isteğinin karşılanmasından sonra, tokluk duygusu doğar (6).

Canlıların yaşamlarını sürdürmesinde beslenme ve metabolik olaylar büyük önem taşır. Vücuttaki açlık ve tokluk beslenme alışkanlıklarını belirleyen günlük yaşanan durumlardır. Vücuttaki açlık ve tokluk hissi, tamamen vücut içerisindeki enerji, su ve diğer besinsel elementlere duyulan ihtiyaç ile ilgilidir. Vücuda alınacak besin miktarını ve iştahı düzenleyen en önemli sinirsel merkezler, hipotalamusta bulunur. Şişmanlık ya da zayıflık besin alımı ve enerji tüketimi arasındaki dengenin bozulması sonucunda gelişmektedir (21).

İdeal bir vücut ağırlığı için dengeli bir enerji bilançosu şarttır. Yetişkin bir insan, vücut ağırlığını yıllarca sabit tutma yeteneğine sahiptir (21). Vücut ağırlığı alınan kalori ile harcanan enerji arasındaki denge tarafından belirlenir. Besin alımı sadece öğünden öğüne esasına göre değil vücut ağırlığını belli bir düzeyde tutmak üzere düzenlenir (22).

Vücut ağırlığının sabit tutulması için gıdalarla alınan enerjinin ve tüketilen enerji miktarının paralel olması gerekmektedir. Gerekli miktarda enerji alınmaz ise, negatif enerji bilançosuna bağlı olarak vücut ağırlığında azalma meydana gelebilmektedir (21). İşte tam bu dengenin sağlanması gereken yerde, yaşamın

devamı için gerekli kişisel enerjinin ve yapı taşlarının yaşa, kiloya ve günlük aktiviteye bağlı olarak yeteri derecede tedarik edilmediği veya sağlanamadığı durumlarda morfolojik olarak zayıflık olarak farkedilebilen ve fizyolojik olarak da gıda eksikliği (açlık) olarak ifade edilen ve hatta uzamış durumlarda patolojik sonuçlara yol açan tablolar ortaya çıkar (23).

Açlık kitlesel olarak dünya üzerinde yılda milyonlarca kişinin ölümüne neden olduğu gibi bireysel faktörlere bağlı olarak da ölümlere neden olabilmektedir. Çeşitli açlık tablolarına neden olan faktörler aşağıda gösterilmiştir (23) (Tablo 2).

**Tablo 2.** Açlık etyolojisi (23)

---

### **1-Kitlesel Açlık**

- Savaş
- Kıtlık
- Doğal felaketler (sel, deprem vb. )
- Kültürel tabu
- Hızlı nüfus artışı

### **2-Bireysel açlık**

#### **A)Organik Bozukluklar**

- Sindirim bozukluğu (maldigesyon)
- Emilim bozukluğu (malabsorpsiyon )
- Anoreksia nervoza

#### **B)Medikolegal vakalar (ihmal ve kasıt sonucu oluşan açlık tablosu )**

- Zayıflama rejimleri
  - İhtiyarlık, akli ya da bedeni sakatlık
  - Trafik kazası, yanık, ameliyat vb. nedenler
- 

### **3.3.2.Açlık terminolojisi**

Gıda ve yiyeceklerden yoksun kalma kavramı dilimizde yalnızca açlık kelimesi ile ifade edilirken literatürde bu durum nüans farkları barındıran temel iki kelime ile ifade edilmektedir.

“Starvation” ve “Fasting”. Ancak bu kelimelerde açlık anlamına gelmekle birlikte “starvation” terimi gıda maddesi/besin alımının total yokluğu olarak, “fasting” terimi ise yetersiz yiyecek alımının uzamış periyodu olarak tanımlanmaktadır (24). Ancak starvation ve fasting terimlerini farklı anlamlarda kullanan otörlerde mevcuttur. Bu kabule göre “starvasyon”, yemeye istekli ya da yeme yetisi olan postabsorptif bir hayvanın gıda kaynaklarındaki bazı dış sınırlamalar sonucunda bunu gerçekleştiremediği biyolojik durumu ifade etmekteyken bunun aksine “fasting” terimi ise postabsorbtif bir hayvanın içsel bir mekanizma ile yemek yeme fırsatını kaçırdığı durumu ifade etmektedir (25). Bu terimlere ilave olarak zaman zaman literatürde “starvation” ve “fasting” terimlerinin yerine tam olarak anlamı karşılama bile “food deprivation” (gıda yoksunluğu, gıdadan mahrum kalma, gıda alımı sınırlaması) ve “caloric restriction” (kalori kısıtlaması) ifadeleri de kullanılmaktadır. “Starvation” terimi yerine ise zaman zaman “prolonged fasting” (uzamış açlık) terimi tercih edilebilmektedir.

### **3.3.3. Açlığın tarihçesi**

Açlık, veba ve hastalıklar tarih boyunca insanoğlunu sıkıntıya sokmuştur. Açlıkla ilgili ilk kayıtlar neredeyse M. Ö. 5000 yıl öncesine dayanmaktadır. Tarihte yazılı ilk açlık felaketi 5000 yıl önce Mısır’daki Nil nehrinin ilk kez taşmasına bağlı Stele kıtlığıdır. Tarih boyunca açlık felaketi ile ilgili olarak kayıtlar tutulmuş hatta bu durum kutsal metinlerde de yer almıştır. Açlık hastalığının şehirlerin, ülkelerin ve imparatorlukların tarihinde çok büyük etkisi olmuştur. Kavimler göçü olarak bilinen orta asya kökenli nüfus hareketlerinin büyük ölçüde açlık ve kuraklığa bağlı olduğu bilinmektedir. 1347’de İtalya nüfusunun üçte ikisinin, 1438’de ise Paris nüfusunun üçte birinin açlık nedeni ile yok olduğu tahmin edilmektedir. “Kıtlık Ülkesi” olarak

bilinen Çin'in kayıtlarında M.Ö.108 - M.S.29 yılları arasında 1829 açlık felaketinden bahsedilir. 20. yüzyılın sonlarında ise Afrika'da, özellikle de Afrika boynuzu'nda (Etiyopya, Sudan ve Somali) yaşanan açlık felaketi ile oldukça ağır kayıplar verilmiştir (26, 27).

#### **3.3.4. Açlık süresinin tanımlanması**

Doğal kökenli açlık olgularında açlık süresi daha çok etyolojiyi oluşturan faktörler tarafından belirlenirken, deneysel çalışmalarda bu süre araştırmacılar tarafından daha standart yaklaşımlarla ifade edilmiştir. Örneğin; açlık kısa, orta ve uzun gibi dönemlere ayrılmış ve özellikle ratlarla yapılan çalışmalarda bu standardizasyon oldukça büyük avantaj sağlamıştır. Açlık çalışmalarında, açlık grupları kısa süreli açlık (1-5 gün), orta süreli açlık (6-10 gün) ve uzun süreli açlık (11-14 gün) olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Ancak unutulmamalıdır ki bu ayırım araştırmacılara ve buldukları ülkelere göre de değişebilmektedir (28).

Elbette hiç unutulmaması gereken bir diğer hususda açlığın uzunluk kısalık süresinin tanımı yapılırken, doğal koşullarda türler arasında da muazzam farklılıklar görülebilmektedir. Örneğin; vertebratlar açlığı tolere etme yetenekleriyle farklılık gösterirler. Bazı küçük kuşlar ve memeliler açlığı yalnızca bir gün tolere edebilirler, oysaki yılanlar ve kurbağalarda açlığın neredeyse iki yıl tolere edilebildiği rapor edilmiştir. Yinede bu konuda rekoru, kış uykusu olmaksızın 1594 günlük açlığa dayanma süresi ile Avrupa yılan balığı (European eel –*Anguilla anguilla*) elinde tutmaktadır (25). En önemli hususlardan biride türler arasındaki uzun süreli kısa süreli açlık karşılaştırması yapıldığında verilen sürelerin göreceli olduğudur. Öyleki ratlarda yapılmış bir kalori kısıtlaması çalışmasındaki 100 günlük süre insanlarda yaklaşık olarak 11 yıla denk gelmektedir (29).

### **3.3.5. Açlık biyokimyası**

#### **3.3.5.1. Açlık biyokimyasına klasik bakış**

Organizmanın açlığa maruz kalmasıyla birlikte yani açlıktan tokluğa geçişte oldukça kritik pek çok ardışık ve seri değişiklikler ortaya çıkmaktadır (7). Öncelikle organizma için rutin olmayan bir şekilde yağ asitleri, karaciğer ve kaslar için temel enerji kaynağı durumuna gelmektedir. Çünkü karbonhidrat depoları saatler içinde boşalır ve enerjetik molekül arayışıyla karşı karşıya kalan metabolizma lipitler üzerinden güvenli bir şekilde bu geçişi yapmalıdır. Hemen tüm memeliler bu geçişi yaparken, metabolizma güvenilir bir kaynak olarak lipitlere ve lipit oksidasyonuna başvurur. Ancak bu durum öncelikle ayı ve fok balığı gibi memeliler için geçerliken ve hatta onların doğal yaşamının bir parçasıyken, diğer memeliler (örn. İnsanlar ve rodentler/kemirgenler), ayılar ve fok balıkları gibi bu adaptasyonu gerçekleştirmek için metabolizmalarını tamamıyla lipit bağımlı bir hale getirmeye muktedir değildirler. İnsan ve kemirgenler için bu yetersizlik yani enerji kazanımı yönünden aslında elverişli olmayan sustratlara adaptasyon durumu, ya açlık süresince (Faz I ve Faz II) substratların uygun şekilde regüle edilememesinden ya da basitçe lipid depolarının yetersiz olmasından kaynaklanıyor gibi görünmektedir. Uygun sustratlara geçişde ki bu yetersizlik nihai olarak enerji kazanımı için dokularda degradasyon sonucu incelme yani kaşeksi ve protein katabolizması ile sonuçlanır. Eğer bu durum önlenmezse kaşekside en sonunda ölümle sonuçlanır. Cahill'in ileri sürdüğü açlık modelinde Faz II ve Faz III boyunca ortaya koyulan lipit metabolizmasındaki bu ayrımlar, adapte olmamış memelilerin açlığa tahammülüne karşı adapte olmuş memelilerin bu kabiliyetlerinin anlaşılması için bir zemin sağlar (30-32).

Açlığa bugün eski sayılabilecek yani klasik biyokimyasal bakışı sürdürdüğümüzde yukarıda belirtildiği üzere kan glikozunun azalmasına bir adaptif cevap olarak yani depolar saatler içinde boşaltılıp lipid depolarının kullanımına geçilmesi lipolizi artıran ve serbest yağ asidi ve gliserolü dolaşıma veren hızlı hormonal cevapla olur. Şöyleki daima ziyafetten açlığa ve açlıktan ziyafet durumuna geçişlerdeki en önemli kontrol, insülin ve glukagon isimli iki pankreatik hormon tarafından yapılır (8,33). İnsülin azalırken, glukagon artar (33,34). Bu düzenlemeyi takiben glukoneojenez yolu kullanılarak karaciğerde laktat, piruvat, gliserol ve aminoasitlerden glikoz sentezlenir. Yine yağ asitlerinin  $\beta$ -oksidasyonu sonucu asetil-KoA ve yağ asidi yıkımı kökenli enerji karaciğerde elde edilir. Dolaşıma geçen serbest yağ asitleri direk olarak okside olacakları dokulara ulaştırılırken, gliserol karaciğer ve böbrekte gliserol-3-fosfata aktiflenip ardından glikoneojenezde kullanılmaktadır. Asetil-KoA ise keton cisimlerine çevrilerek dolaşıma verilir ve açlık ketojenezi oluşur (35-38).

Açlık süresinin uzamasına karşılık organizmada yeni adaptasyonlar geliştirir.

En önemli adaptasyonlardan biri olarak beynin keton cisimlerini kullanmaya başlaması ile glikoneojenez böbreklerde artar karaciğerde ise azalır (gliserol, laktat ve pirüvattan). Bir diğer adaptasyon ise asetonun pirüvata oksitlenmesine uyum sağlanmasıdır. Bu yolla ihtiyaç duyulan glikozun bir kısmı sentezlenmeye başlar. Çünkü açlığın ilk döneminde olduğu gibi glukoneojenez için substrat amino asit elde etmek amacıyla aynı hızda protein yıkımı devam edecek olursa, ortaya çıkacak kaşeksi durumunun önlenemediği takdirde yaşamla bağdaşmayacağı açıktır. Bu nedenle açlık uzadıkça, idrarda nitrojen atılımı ile ölçülebilen protein katabolizması, tedrici olarak azalır. Uzamış açlıkta, beyinde bu adaptasyona katılarak glikoz

kullanımını azaltır, glikozun karşılaması gereken diğer kısım yani geri kalan ihtiyac için ise ketoasitleri (asetoasetat ve  $\beta$ -hidroksibütirat) kullanmaya başlar (30-32, 35-37, 39). Bu ketoasitlerden  $\beta$ -hidroksi bütirik asit yalnızca bir yakıt olarak kalmayıp son zamanlarda iskemik durumlara bağlı patolojilerde hücrel enerji temin eden bir terapötik ajan olarak kullanılmaktadır (39).

### **3.3.5.2. Açlık biyokimyasına güncel bakış**

Klasik bakış açısıyla değerlendirilen açlık biyokimyası, anlaşılması ve etüdü edilmesindeki zorluk ve deneysel çalışmalarda standart yaklaşımları kısıtlaması nedeniyle bugünkü çalışmalarda revize edilmiş ve daha bütüncül bir yaklaşımla detaylandırılmış bir hale getirilmiştir. Öyleki geçmişte açlık boyunca vuku bulan doğal biyokimyasal olgular fizyolojik bir sırayla ama pratikte kullanımı zor olan bir şekilde ele alınırken, bugün yapay tanımlamalarda kullanılarak ve yeni kavramların eklenmesi ve aynı zamanda açlık olgusunun zaten bu değerlendirmeye uygun olduğunda anlaşılmasıyla, üç ayrı fazda gerçekleşen bir süreç olarak ele alınmaktadır. Ancak bu süreci açlık öncülü durumları ve geçiş periyodunu da ekleyerek veya faz ayrımı için söz konusu kriterleri değiştirmek suretiyle beş olarak değerlendiren araştırmacılar da mevcuttur. Ancak artık açlık kavramı ile açlık fazları kavramları artık bir bütün halinde anılmaktadır. Hatta bu bilgiler baz alınarak matematik temellere dayalı açlık modelleri de geliştirilmiştir (32,39,40).

Yapılan çalışmalarda gösterilmiştir ki tıpkı kuşlarla memeliler arasında olduğu gibi geniş lipid rezervlerine sahip ratlarla insanların açlık boyunca verdikleri metabolik yanıtlar arasında da pek çok benzerlik vardır. Bu olgu göz önüne alınarak uzun süreli besin mahrumiyeti esnasında enerji rezervlerinin sıralı bir şekilde harekete geçişi üç ayrı metabolik faz olarak karakterize edilmiştir. Vücut kütle

kaybındaki değişikliklerden yola çıkarak, ratlar da dahil olmak üzere çeşitli türlerde üç farklı metabolik safha sınıflandırması yapılmıştır. Vücut kütle kaybı birinci safhada (Faz I) hızlı, ikinci safhada (Faz II) daha yavaş ve üçüncü safhada (Faz III) tekrar hızlıdır. Son besin parçası ince bağırsakta öğütüldükten hemen sonra meydana gelen ve ratlarda ilk 2 gün sürdüğü düşünölen Faz I, karbonhidrat rezervlerinin tüketimiyle baş gösteren kısa bir adaptasyon süresidir ve bu süre içerisinde yağ depolarının hareketi artarak protein kullanımı azalır. Ancak tüm vücut glukoz çevrimi (glucose turn-over) açlığın ilk iki gününde (Faz I) % 40 azalır. Ayırt edici özelliği, hem karaciğer glikojen depolarının kullanılması hem de kısa süre içinde vücut kütlelerinin önemli miktarda azalmasıdır. Faz II ise proteinin idareli kullanıldığı bir süreye denk gelmektedirki bu sürede de enerji ihtiyacının çoğu yağ oksidasyonundan kaynaklanmaktadır. Çünkü protein kaynakları enerji tüketiminin % 17'sini karşılar, lipid yedekleri % 83'lük kısmı karşılamaktadır. Ayırt edici özelliği enerji tasarrufu ve yağların oksidasyonudur. Yağlar yüksek miktarda enerjiye sahip olduğu için, bu safhada kilo kaybı oldukça yavaştır. Merkezi sinir sistemi, keton cisimciklerini kullanmak için duruma uyum sağlar. Faz II'nin uzunluğunun, başlangıç lipid rezervleri ile orantılı olarak arttığı gösterilmiştir (41-44).

Açlık uzadıkça, Faz II gecikmiş ve şiddetli bir protein yıkımı ile sona ererken, Faz III esnasında yağ utilizasyonu (kullanımı) azalır. Faz III'ün ayırt edici özelliği ise yağ birikintilerinin tükenmesinin ardından, protein sentezinde görölen düşüşle beraber kaslarda protein yıkımının başlamasıdır. Protein bozunması sonucunda vücut kütle kaybı oranı, nitrojenli atık (ürik asit) üretimi ile birlikte artar. Ancak gösterilmiştir ki bu reversibl bir fenomendir. Bu reversibl protein kullanım ve yıkım artışı önemli miktarda artmış kortikosteron seviyeleriyle iççedir. Ve bu durumda

glukokortikoidlerin Faz III boyunca gerçekleşen protein turnover'ındaki değişikliklerden sorumlu olduğunu düşündürmektedir (41,43,44).

Faz III için belirtilmesi gereken en önemli husus ise bu dönemde hücrelerin yakıt sağlama ihtiyacı ile buna rağmen yakıt bulamaması ve bu nedenle kendi yapısal kaynaklarını tüketmek zorunda kalması durumuna karşı organizmanın kalorik rezervleri tükendikçe ve yoksunluğun şiddeti ve süresi arttıkça, irreversibl kritik noktaya gelinceye kadar, tam anlamıyla bir "katabolik stres" taktiği benimsediğidir (45).

Böylesi bir durumda organizma veya ona ait hücreler karşılaştıkları duruma uygun stratejiler geliştirerek (Yeniden Programlama (Metabolic reprogramming)- Mitokondrial Biojenez (Mitochondrial biogenesis) vb.), yapısal olanaklarının izin verdiği sınırlar içinde (Metabolik yetenekleri, mevcut enzimlerin kapasiteleri ve elverişliliği, sinyalizasyon yollarının olanakları ve alterne edilebilme esnekliği, genlerin biyokimyasal seçenekler için ortaya koyabileceği transkripsiyonel olasılıkların spektrumu) olası ve yaşamla bağdaşan taktikleri uygulamaya koyarlar. Bu aşama, irreversibl kritik noktaya gelinmeden önce doyurulmanın gerçekleştirileceği her an için reversibl bir karakter taşır.

Yine Faz III'ün (ve aslında süre dikkate alındığında aynı zamanda Faz I ve Faz II'nin dikkat çeken) bir diğer özelliği ise, küçük ebatlı hayvanlar besin yokluğuna karşı büyüklerden daha hassas olduğu için, bu modelin daha kısa süre içinde tamamlanabileceğidir. Örneğin; Faz III'e giriş sıçanlar (mouse) için 3-4 gün olarak tanımlanmışken, ev serçeleri (house sparrow) için bu süre 34 saat olarak belirtilmiştir (44). Aynı şekilde Faz I süresi de, ebat büyüklüğü dikkate alınmadığı zaman bile aynı türde (ratlarda), bir çalışmada 1-2 gün olarak tanımlanırken bir başka

çalışmada 1-3 gün olarak saptanmıştır. Aynı süre ev serçeleri için ise 4 saattir. (41,44,46).

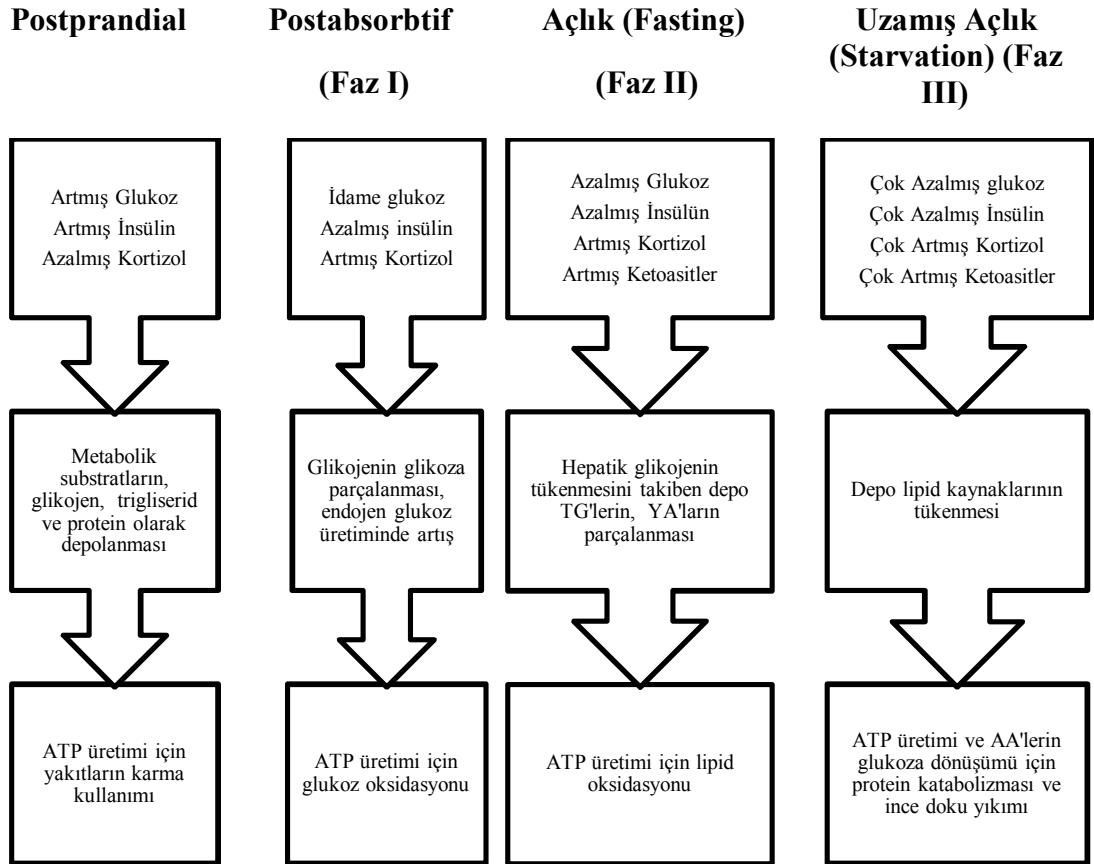
Belirtilmesi ve unutulmaması gereken bir diğer önemli nokta Faz III başladıktan 3 gün sonra hayvanların başarılı bir şekilde beslenmesi durumunda Faz II'nin reversibl olduğudur (43).

Üzerinde önemle durulması gereken bir hususda Faz II –Faz III geçiştir. Bir çok canlı türünde, Faz II den Faz III'e geçiş davranışsal değişiklikler ile bağdaştırılır. Bu noktada, kafeste tutulan imparator penguenler ve deney ratlarının spontan lokomotor aktivitelerinde bir artış gözlenmiştir. Bu, enerji rezervlerinin ölümle sonuçlanacak tüketimini öngören organizmanın, yeniden beslenme ve besin aramayı kolaylaştırmak için artan güdüsel motivasyonunu vurgulamak adına öne sürülmüş gibi görünmektedir. Bu sebeple periyodik olarak uzun süre aç kalan vahşi hayvanlar, vücut yağları büyük oranda tükendiği zaman kendiliğinden yeniden beslenmek amacıyla besin arama ve bulma davranışlarını başlatırlar. Yeniden beslenme isteğindeki artış, merkezi sinir sistemine vücut adipozitesinde bir azalma olduğu ya da enerji denge durumunda ortaya çıkan değişikliklerle ilgili bilgi verildiğini gösterir. Bu da büyük ihtimalle metabolik ya da hormonal bir değişimle bağlantılıdır. Aslında açlık esnasında vücudun tamamının yakıt kullanımı, neredeyse hepsi yağ ya da hem yağ hem protein şeklinde değişebilmektedir. Bu adaptif tepkiler, beyne bir girdi sağlayan ve nöroendokrin sistemleri ve yakıt kullanımını düzenleyen yağ deposuyla ilgili moleküllerin varlığına katkıda bulunur. Tüm bu gözlemler bizi, enerji depolarının tükenmeye yakın bir duruma geldiğinde yeniden beslenmeyi tetikleyen ve hayatta kalma güdüsünü harekete geçiren bir “alarm sinyali”ni olabileceği savına götürür. Faz I ve Faz II esnasında yavaş yavaş, Faz III'te ise şiddetli bir şekilde artan

kortikosteronun kilit bir role sahip olduğu varsayılmaktadır ancak leptin ve benzeri diğer periferik sinyallerde organizmanın yeme davranışını motive eden sinirsel sistemler üzerinde etkili olabileceği belirtilmiştir (43, 47).

Tüm bunların dışında 3 Faz kavramı genel kabul görse de bu aşamalara postprandial (yemekten sonra, yemek sonu) sürecide dahil ederek ‘‘postprandial’’, ‘‘postabsorbtif’’ (emilimden sonra emilim sonrası), ‘‘fasting’’ ve ‘‘starvation’’ olarak açlık ve tokluk davranışını bir bütün halinde karşılaştırmalı olarak ele alan çalışmalarda vardır. Bu çalışmalarda açlık ve tokluk süreçleri biyokimyasal ve hormonal olaylar karşılaştırılmak suretiyle ardışık bir şekilde fizyolojik bir akış sırasıyla değerlendirilmiştir (32) (Tablo 3).

**Tablo 3.** Memelilerde postprandial, postabsorbtif, ‘‘fasting’’ ve ‘‘starvation’’ koşullarında anahtar metabolik parametrelerdeki değişikliklerin karşılaştırılması (32)



Bazı otörler ise “Bilindiği üzere araştırmacılar starvasyon tepkilerini, kütle kaybı ya da terleme gibi fizyolojik değişiklerle ya da starvasyon sırasında kullanılan temel fizyolojik yakıt ile (örn; karbonhidrat, yağ ve protein) tanımlanan üç belirli ve art arda gerçekleşen safhalara ayırmıştır. Açlık ve starvasyondaki ilerlemeyi tanımlamak için nitel terimler de kullanılmıştır. Bu gibi nitel tanımlar tek bir türdeki fizyolojik tepkilerin gelişimini doğru bir biçimde yansıtsa da, karşılaştırmalı bir bağlamda pek fazla anlam ifade etmez ve çok genel kalırlar. Sonuç olarak ben starvasyonun, kolayca belirgin ve somut safhalara ayrıştırılabilen fizyolojik tepkilerin devamlı bir serisi olduğunu düşünmüyorum. ” şeklinde eleştirilerini ifade etmiştir (25).

Tüm eleştirilerine rağmen aynı otör, biyokimyasal parametreler kullanılarak açlık sürecini açıklayan beş aşamalı bir modeli kendi çalışmalarını açıklamak için, kaynak göstermek suretiyle, makalesinde kullanmayı daha doğru bulmuştur (39). Zorunlu olarak neredeyse tüm araştırmacılar aşamalı olan bir açlık modeli ortaya koymuşlardır veya görüşlerini açıklayabilmek için bir model yada modelleme yapılması gerektiğini kabul etmişlerdir. Ancak hiçbir araştırmacı modelinin kesin doğru olduğunu ve her şeyi izah edebileceğini asla ileri sürmemiştir.

### **3.3.6. Kemirgenlerde (Rodentlerde) açlık**

#### **3.3.6.1. Kemirgenlerde açlığın etkileri**

Açlık ve tokluk hissi muhtemelen insanlar için olduğu kadar hayvanlar için de önemlidir; bu his yalnızca mide şişliğinin derecesinden değil başka bir çok faktörden de etkilenir. Beslenme alışkanlığını yönlendiren faktörler konusundaki bilgi eksikliği açlığın etkilerini değerlendirmeyi zorlaştırmaktadır; bu da yine erişkin hayvanların dahi vücut ağırlığı ve besin alımında sıklıkla belirgin farklılıklar

göstermesi sebebiyle karmaşıktır. Örneğin, genetik açıdan özdeş fareler (B6C8F1) bile ağırlık açısından 30 ila 48 g arasında değişebilir. Ayrıca, besin alımı ve kalori ihtiyacı da genetik akrabalar, yaş grupları, çevreler (başka şeyler dışında, oda sıcaklığının etkileri), fizyolojik durum ve fiziksel egzersiz yapabilme olanaklarına bağlı olarak farklılık gösterebilir. Özellikle çok fazla yapacak bir şeyleri yoksa sürekli fazla miktarda besin bulduklarında hayvanlar da sıklıkla gereğinden fazla yiyeceklerdir. Vücudun aşırı su toplanmasını önlemeye yönelik mekanizmaları, aşırı yemeyi sınırlamaya yönelik olanlara göre daha iyi çalışmaktadır (48).

### **3.3.6.2. Kemirgenlerde açlığın sindirim kanalının boşaltılması ve vücut ağırlığı üzerindeki etkileri**

Araştırmacılar gastrointestinal kanalın bazı bölümlerini boşaltmak için hayvanların aç kalmasını gerekli görüyorlarsa, amaçlarına ulaşmak için hayvanın ne kadar süre aç kalması gerektiğine dair bilgi toplamak önemlidir. Bu yolla, aç kalma süresi çalışma için tamamen gerekli olan süreye indirilebilir ve böylelikle gereksiz stres ve acı önlenir. Daha önce belirtildiği gibi, ağızdan besleme yapıldığı durumlarda midenin aşırı doldurulmasını önlemek için bazen belirli bir açlık düzeyi gerekli olabilir. Vermeulen ve ark. erkek ratların midelerinin (200-250 g) açlığın başlangıcından 6 saat sonra boş olduğunu ortaya koymuştur. 6 ya da 18 saat aç kalan hayvanlar arasında intestinal boşalma açısından anlamlı bir fark yoktur. Vücut ağırlığında açlığı takiben büyük değişiklikler bildirilmiştir: Vermeulen ve ark. 18 saatlik besin yoksunluğunun ardından yaklaşık %10'luk ağırlık düşüşü kaydetmiştir. Diğerleri 264 g ağırlığındaki erkek ratlarda vücut ağırlıklarının %18'inden fazlasına tekabül eden 48 g'a kadar kilo kaybı olduğunu bildirmiştir. Dohm ve ark. ile Claassen ise 24 saat sonra ratlarda kilo kaybının %3,3 ve %18 arasında değiştiği

araştırmalar aktarmaktadır ancak kilo kaybının aynı zamanda su yoksunluğundan olup olmadığını belirlemek tüm vakalarda mümkün olmamıştır. Açlık sırasında karaciğer ağırlığındaki düşüş, vücut ağırlığındaki düşüşten görece daha fazla olabilir ve karaciğerdeki serbest yağ asitleri miktarı önemli ölçüde artar (48).

Ayrıca 1,5,9 günlük olarak yapılmış bir açlık çalışmasında ratlarda, bir günlük açlıkla tüm vücut fraksiyonel protein degradasyon oranının artmaya başladığı, protein harcama fazı olarak kabul edilen açlığın beş günü boyunca ise tüm vücut protein degradasyon oranının azalmaya başladığı ancak protein tüketiminin had safhaya ulaştığı dokuz günlük açlıktan sonra ise tüm vücut fraksiyonel protein degradasyon oranının artmadığı ama tam aksine tüm vücut ve doku protein sentezinin % 14-34 oranında azaldığı saptanmıştır (49).

Açlığın azalmış bazal metabolik hıza yol açabileceğinin bilincinde olmak ayrıca önemlidir; besin yeniden verilmeye başlanınca vücut ağırlığı normal aralığa geri dönerken, bu durum devam edebilir. Bir hayvanın besin yoksunluğu sırasında kilo kaybedip kaybetmeyeceği ayrıca yatak veya yuva malzemesi varlığına ya da yokluğuna bağlıdır zira aç bir hayvan bunları da yiyebilir. Vücut ağırlığı bir deneyde sağlık göstergesi ya da beşeri bir amaç olarak kullanılacaksa bu faktörü de göz önünde bulundurmak önemlidir. Bu ayrıca gastrointestinal kanalın tamamen boşalmasını sağlamak için, hayvanların içinde böyle malzemeler olmayan kafeslerde barındırılması gerektiği anlamına gelmektedir. Buna ek olarak, koprofajiyi (kendi dışkısını yemek, çekotrofların yeniden oral alınımı) önlemek için boyunluk ya da benzeri cihazlarla donatılmalıdırlar. Bu yöntemlerin her ikisinin de hayvanlar için stresli olması muhtemeldir (48).

### **3.3.6.3. Kemirgenlerde açlığın farmakolojik parametreler ve davranış üzerindeki etkileri**

Claassen açlığın bir sonucu olarak farmakokinetikteki değişiklikleri ortaya koyan birçok araştırma aktarmaktadır. Farmakolojik ve nörofizyolojik araştırmada kullanılan hayvanları etkileyen faktörleri açıklayan kapsamlı bir ders kitabı yazmıştır. Şöyle bitirmektedir (13. bölümden özet):

Açlık, hayvanın fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerinde besin yoksunluğu süresinin daha uzun olmasıyla birlikte daha ağır hale gelen ciddi değişikliklere sebep olmaktadır. Ancak sıklıkla kullanılan açlık süreleri olan 16-24 saat de deneysel uyarana duyarlılığı anlamlı ölçüde etkileyebilecek önemli değişiklikler meydana getirmektedir. Açlığın etkileri türler ve bireyler arasında büyük ölçüde farklılık gösterebilir. Bu yüzden, deneylerde açlık çeken hayvanların kullanımına yalnızca besleme durumu deneysel tasarımda bir faktör işlevi gördüğünde izin veriliyor gibi görünmektedir (48).

Açlığın, başka şeylerin dışında, vücut ağırlığında, vücut sıcaklığında ve plazma glukoz seviyelerinde düşüşün yanı sıra strese ve agresif davranışa (bu da dolayısıyla birçok kemirgen için stresli olan bireysel barınak ihtiyacına neden olabilir) sebep olması beklenebilir. Bazal metabolik hızda açlık döneminden sonra devam eden bir düşüş bildirilmiştir. Besin yoksunluğu hayvanların en aktif olduğu karanlık safhada meydana geldiğinde etkisi en yüksek seviyeye ulaşmaktadır; 3 saat sonra gliserol, serbest yağ asitleri ve asetoasetat seviyelerinde artışın yanı sıra karaciğer ağırlığında ve glikojen içeriğinde anlamlı düşüşler kaydedilmiştir. Claassen sempatetik sinir sisteminde arttırılmış aktiviteye ilaveten glikozun, ürenin, laktatın ve amino asitler ile ve insülin, glukagon ve kortikosteron da dâhil olmak üzere bir dizi

hormonun plazma seviyelerindeki değişimi gösteren birtakım araştırmayı dikkat çekmektedir. Vermeulen ve ark. hayvanları videoya alarak ve onları hareketlerini (titreşimleri) kaydeden platformlara yerleştirilmiş kafeslere koyarak açlık dönemi boyunca ratlardaki aktivite paternlerini araştırmıştır. 18 saat boyunca aç kalan hayvanlar lokomotor davranışlarda ve aynı zamanda midede önemli ölçüde tüy birikmesine yol açan kendi kendini temizleme süresinde bir artış sergilemişlerdir. Daha kısa yoksunluk süreleri hayvanların fizyolojisi ve davranışında daha küçük değişikliklere sebep olmuştur. Toth ve Gardiner, sempatik sinir sisteminin aktivasyonu ve plazma glukokortikoidlerindeki ılımlı artışların 24 saat aç bırakılmış ratlarda ölçülebileceğini ortaya koyan birçok yayından bahsetmiştir. Ancak bu değişiklikler hayvanlar diğer uyaranlarla strese sokulduklarında gözlemlenen değişikliklerden daha azdır. Bu yüzden, bu değişiklikler azaltılmış besin stokuna normal adaptif tepkiler olarak yorumlanabilir. 48 saatlik besin yoksunluğu sonrasında glukokortikoid seviyeleri önemli ölçüde artar ve hayvanın doğal günlük ritmi bozulur. Bu, 24 saati aşan açlık sürelerinin artan metabolik stres ve belki de psikolojik stresin kötüleşmesiyle ilişkili olduğunu göstermektedir (48).

Ani ve öngörülemeyen besin yoksunluğu dönemiyle karşılaştıklarında hayvanların besine odaklanması artıyor mu yoksa “fizyolojik olmayan bir duruma” giriyor ve bundan ciddi biçimde etkileniyor mu sorusu hâlâ yanıtlanmayı beklemektedir. Kısa süreli bir açlığın etkisi de karanlık safhada (kemirgenlerin en çok yediği dönem) gerçekleşip gerçekleşmediğine göre değişecektir. Claassen gliserol ve serbest yağ asitleri artarken glukoz, üre, laktat ve amino asitler de dâhil olmak üzere birçok plazma değerinin azaldığını ve aydınlık safhanın başında öldürülen ratların yalnızca 3 saat açlık sonrasında anlamlı ölçüde düşük karaciğer

değerleri ve karaciğer glikojen seviyelerine sahip olduğunu gösteren araştırmalar bildirmiştir. Bu değişiklikler hücre içini yani hücre biyokimyasını etkileyecektir ve bu yüzden aç bırakılmış ya da bırakılmamış hayvanlardan alınan preparasyonlarda izole hücreler, dokular veya organlar üzerindeki etkilerde farklılıklar beklenmelidir (48).

### 3.3.7. Açlıkta vücut kitlesi/kütlesi

Starvasyonla ilgili bilimsel çalışmalar arasındaki tek ortak özellik, deneye dahil edilen hayvanın yemek yemesine izin verilmemiş olmasıdır. Ancak yine de vücut kitlesi ( $m_b$  -Body mass) azalması, starvasyon durumunda görülen en net ve en sık belgelenebilen tepkidir. Starvasyon sırasında ortaya çıkan organik kütle kaybı kaçınılmazdır ve termodinamiğin birinci ve ikinci yasalarının bir sonucudur. Starvasyon fazlarının ilk tanımları, hayvanların (yüksek oranlı bir  $m_b$  kaybına geri dönmeye önce (Faz III) düşük oranlı bir  $m_b$  kaybını takiben (Faz II) başlangıç olarak maruz kaldıkları  $m_b$  nin hızlı düşüşü (Faz I) şeklinde raporlanan)  $m_b$  oranlarındaki ardışık bir dizi değişikliğe dayanmaktadır. Starvasyonun gelişimini göstermek için kullanılan bu yöntem, invaziv yöntemleri önlemek suretiyle hayvanlar için uygun olsa bile, bu fenomeni net bir biçimde gösteren gerçek veri setleri oldukça nadirdir (25).

Hatta birçok balık ve omurgasız, uzun süren starvasyon sırasında  $m_b$  kaybetmez. Starvasyon yaşayan hayvanların  $m_b$  kaybı oranları ikigene faktörden dolayı oldukça yüksek değişkenliğe sahiptir. Bunlardan birincisi şudur; hayvanlar,  $m_b$ , vücut ısısı ( $T_b$  -Body temperature) ve filogenetik aidiyetlerine bağlı olarak şekillenen genel enerji gereksinimlerine göre farklılaşmaktadır. İkincisi ise;

hayvanlar belirli sürede verilen belirli yiyecek ve içecek maddesini, değişken yakıt kaynaklarını nasıl kullandıklarına ve kullanım şekillerine göre farklılaşırlar (25).

Kütle kaybı olgusunu tam anlayabilmek için şu örnek dikkate değerdir: İyi beslenmiş 1 kg (1000 gr) lık iki hayvanı, A ve B yi düşünelim. Bu iki hayvanın da enerji gereksinimleri aynıdır. Deneyin başında her iki hayvan da toplam  $m_b$  lerine göre (örn; 700 g) % 70 sudan oluşmaktadır. Hayvanların kuru kütleleri (örn; 300 g) ise 2/3 oranında yağ ve proteinden (sırasıyla 120 g ve 180 g) oluşmaktadır. Starvasyon süresince A hayvanı yağ kaynaklarının (ör: 60 g) % 50 sini oksitler ve bu durum 940 g lık son vücut kütlesi ile sonuçlanır (şekil 1). Aynı metabolik enerjiye ihtiyaç duyan B hayvanı ise bu süre esnasında izoenerjetik miktarda protein ve yağ (ör: sırasıyla 60 ve 30 g) oksitleyerek ihtiyacını karşılar. Protein kaybının % 70 lik organik su ile bağlantılı olduğu farz edilirse, B hayvanı da 42 g su kaybedecektir. Deneyin sonuna kadar A hayvanı %6, B hayvanı ise % 13'ün üzerinde  $m_b$  kaybedecektir. B hayvanının yaşadığı  $m_b$  kaybının oranı A hayvanınıninkinden iki kat daha fazla olsa bile, B hayvanı deneyin sonuna gelene kadar A hayvanından % 50 daha fazla yağ korumuştur. Her iki hayvanın da vücuttaki bağıl su içeriği artmıştır. Bu noktada, yaklaşık bir kompozisyon oluşturmeyen starvasyon kaynaklı  $m_b$  karşılaştırmalarının ne kadar yanıltıcı olabileceği ortadadır (25).

Açlık vücut kütle kaybı ile ilişkili bir diğer kavram ise “ $dm/m dt$ -specific daily body mass loss” (spesifik günlük vücut kütle kaybı)dır. Vücut kütle kaybı birinci safhada (Faz I) hızlı, ikinci safhada (Faz II) daha yavaş ve üçüncü safhada (Faz III) tekrar hızlıdır. Benzer şekilde, spesifik günlük “ $dm/m dt$ ” (vücut kütle kaybı) birinci safhada azalır, ikincisinde minimum seviyede kalır ve üçüncüsünde artar (43).

### 3.3.8. Açlıkta vücut temperaturü

Açlığın tetiklediği hipometabolik durumların genellikle protein döngüsünde ve adenozin trifosfat (ATP) kazandırıcı yollarda yavaşlamalara yol açtığı düşünülmektedir, ancak bu durum  $T_b$  ve  $m_b$ 'de açlıkla tetiklenen azalmalarla ilgili olabileceği gibi başka faktörlerdende etkileniyor olabilir.  $T_b$ 'de açlıkla tetiklenen düşüşler insanlarda ve ratlarda her zaman kanıtlanmıştır ancak farekulaklı yarasalarda (*Myotis myotis*) ve çayır köpeklerinde de (*C. ludovicianus*) olduğu raporlanmıştır. Kuşlar arasında, açlık çeken güvercinlerde (*Columba sp.*) ve bıldırcınlarda (*Coturnix sp.*) azalmış  $T_b$  defalarca ortaya konmuştur ancak başka türlerde de meydana geldiği bilinmektedir. Açlık çeken balık, amfibiyan ve sürüngenlerin aktif olarak  $T_b$ 'lerini azaltmalarına imkan sağlayacak daha serin mikrohabitatları seçtikleri gözlenmiştir (25).

Açlık sırasında anlamlı enerji tasarruflarının gerçekleşmesi için  $T_b$ 'de büyük miktarda düşüslere gerek yoktur ve 1-3 °C'lik  $T_b$  azalması dahi hayvanların metabolik hızlarında dramatik değişikliklere yol açabilir. Örneğin, 2,0 ve 3,0 metabolik hızları için termal duyarlılık ( $Q_{10}$ ) değerleri verildiğinde,  $T_b$ 'de 3°C'lik bir düşüş metabolik hızı sırasıyla %19 ve %28 oranında düşürmektedir. Dahası, Newton'un soğutma kanununa göre  $T_b$ 'deki açlıkla tetiklenen düşüslere ayrıca çevreye ısı kaybı meyilini azaltma işlevi görür, böylelikle endotermilerin metabolik gereksinimlerini daha da azaltır. Azalmış  $T_b$ 'nin enerjik avantajlarına karşın, enerji harcamasındaki düşüslere aynı zamanda gelişme oranlarını, yırtıcılardan kaçınma ve kurtulma davranışlarını ve bağışıklık fonksiyonunu negatif olarak etkileyebilecek dengeleyici düzenlemeleri de içermektedir (25).

### 3.3.9.Açlıkta metabolizma hızı

Yapılan pek çok açlık çalışmasında metabolizma hızının düşük olduğu varsayılmıştır veya klasik olarak vücut metabolizma hızının açlıkta düştüğü kabul edilmektedir (29,44,52-55). Hatta durum öyle hal almıştır ki açlıkla ilgili olarak ‘‘Bölüm 3-Açlık ve Karşılaştırmalı fizyoloji. 2012- Chapter 3- Comparative Physiology of Fasting, Starvation and Food Limitation. 2012’’ kitabında ilgili bölümde, açlık esnasında ki metabolizma hızını hipometabolik olarak tanımladığına atıfta bulunulan ve kaynak gösterilen araştırmacı, aslında atıfta kaynak olan 2010 yılı içerisinde yayınlanmış açlık fizyolojisi ile ilgili tek yazarlı makalesinde tam tersine kanıtları ile birlikte bu hipometabolik kabulün aslında pek de doğru olmayabileceğini ayrıntıları ile belirtmiştir. Araştırmacı ‘‘Endoterm ve ekzotermdeki metabolik oranlarla ilgili birçok çalışmada hipometabolizmanın, starvasyon sonucu geliştiği rapor edilmektedir, ancak ne var ki bunların birçoğu hipometabolizmayı, neredeyse her zaman çok daha düşük çıkan starvasyon sonrası  $m_b$  den ziyade başlangıçta beslenen  $m_b$  yi baz alarak tanımlamaktadırlar. Starvasyon esnasında  $m_b$  deki konkomitant değişikliklerle düzeltilen metabolik oranların post hoc hesaplamaları hemen hemen her zaman başlangıçta rapor edilenden daha yüzeysel bir hipometabolizma ile sonuçlanır (25).

Metabolik oranlar ve  $m_b$  arasındaki allometrik ilişkilere göre düzeltildiğinde, starvasyon sonucu ortaya çıkan hipometabolizma raporlarının çoğu temel hipometabolik etkileri belgelemede başarısız olur ve aslında starvasyon sonucu ortaya çıkan hipermetabolizma için kanıt sunar’’ diyerek aslında açlıkta hipermetabolik durumda varolabileceğini belirtmiştir (25). Aynı kaynakta bu durumu allometrik hesaplamalarla ve göreceli örnekler ve tablolarla ayrıntılı olarak

anlatmıştır (25). Yine yapılan çalışmalarda açlık esnasında metabolik hızın farklı türlerde farklı olabileceği hatta aynı türde bile değişik metabolik hızların ölçülebileceği belirtilmiştir. Örneğin, dört farklı planktonik rotifer türünde açlık boyunca bir kısmının metabolik hızı düşerken bir kısmınınki tam tersi yönde değişim göstermiştir (52). Ektodermlerde yapılan çalışmalarda ise normal beslenme süresinde bile metabolizmanın kimi türlerde yüksek kimi türlerde yavaş olduğu saptanmıştır. Bu konuda dikkat çeken bir diğer gözlem metabolizma düzeyi yüksek olan hayvanların daha kısa yaşadıklarıdır. Derinlerde yaşayan çift kabuklu yumuşakçaların ise 400 yıla varan olağan dışı uzun ömürlülüğünü açıklamak için ise geçici metabolik depresyonları olduğu ileri sürülmüştür. Benzer ilişkilerin endotermlerde de görülebileceği önermesi ise türler arasında kütle spesifik metabolik hızları düşük olan hayvanlarında uzun yaşadığını gözlemleyen (Kütle spesifik metabolik hız-Mass specific metabolic rate) Rubner'in (1908) öncül çalışmasına kadar geri bir tarihe uzanmaktadır. Aslında kütle spesifik metabolizma hızı ve ömür süresinin üretimi, vücut kitlelerinin geniş dağılım yelpazesine karşılık belirgin ve değişmez olarak görünmektedir. Bu gözlemlerde, biriktirilen ömürlük metabolizmanın sabit bir düzeyinin olabileceğini düşündürmüştür. Bu bulgular "yaşam hızı" teorisi haline gelmiş 50 yıldan fazla bir süre yaşlanma çalışmalarına yön vermiştir. Ancak kuşların ve yarasaların yüksek metabolizma hızlarına rağmen çok uzun süre yaşadıklarının gözlenmesi ve toplam enerji harcaması, istirahat metabolizma hızı (RMR -Resting metabolism rate) yerine tercihli olarak yaşam süresi ile çarpılırsa, sonucun vücut ebadından bağımsız olmayacağını ve daha uzun çıkmayacağını ispatı ve ilave olarak farklı türler arasındaki yaşam sürelerini kıyaslamak yerine türlerin kendi içlerinde bireysel yaşam süreleri kıyaslandığında yüksek

metabolizmalıların daha uzun yaşadığının gözlemlenmesi bu teorinin defalarca çürütülmesine neden olmuştur. Yine de % 20'lik kalori kısıtlaması (Caloric restriction) yapılan farelerdeki doğrudan RMR ölçümleri, azalan RMR'nin toplam enerji tasarrufuna yaklaşık %24 lük bir katkı sağladığını göstermektedir (29).

Bu örnekler ve açıklamadan sonra açlık koşullarında hipometabolizma veya hipermetabolizma olgusuna yeniden farklı bir gözle bakmak gerekir. Şöyleki;

Belirli bir açlık periyodu boyunca  $m_b$ 'sinin %50'sini kaybeden ve metabolik hızında %33,3 düşüş sergileyen, başlangıç metabolik hızı  $100 \text{ kJ gün}^{-1}$  olan beslenmiş  $1 \text{ kg}$ 'lık bir hayvan düşünün. Bu durum artık kesinlikle 'eski' gibi algılanamaz çünkü süreci tamamlayan ve artık yeni ve daha küçük olan hayvan metabolik hızını önemli ölçüde  $66,6 \text{ kJ gün}^{-1}$ 'e düşürmüştür ancak şu anda %32 daha yüksek ( $0,132 \text{ kJ gün}^{-1} \text{ g}^{-1}$ ) kütleye özgü metabolizma hızına sahiptir. Bu hayvan metabolik hızın  $m^{-0,25}$  ile değiştiği tipik paterni takip etseydi, toplam metabolik hızını %33,3 olarak değil %40,5 oranında düşürmüş olacaktı. Bu hayvan açlıkla tetiklenen hipometabolizma sergilememiştir ancak yalnızca  $m_b$ 'siyle tahmin edilenden %12 daha yüksek metabolik hıza sahiptir (25).

Bu sefer  $T_b$ 'yi ölçerek yukarıdaki farazi deneyi tekrarlırsak açlık süresince hayvanın aynı zamanda  $T_b$ 'sini kademeli olarak  $38^\circ\text{C}$  'den  $36,1^\circ\text{C}$ 'ye düşürdüğünü fark ederiz. Hayvanın metabolik hızı yine  $66,6 \text{ kJ gün}^{-1}$ 'e düşmüştür ancak 2,5 tutucu  $Q_{10}$  değerini varsayarsak bu hayvan artık beklenenden ( $50,0 \text{ kJ gün}^{-1}$ ) %33 daha yüksek bir metabolik hıza sahip olmaktadır. Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar, bazal veya dinlenme metabolik hızında açlıkla tetiklenen düşüşler olduğu iddialarında bulunmadan önce  $T_b$  ve  $m_b$  etkisini açıklamaya başlamıştır ancak pratik standart değildir (25).

### 3.3.10. Açlığın hormonal görünümü

Açlık durumunda organizmanın hormonal durumunda da değişiklikler meydana gelmektedir. Açlığa karşı hormonal yanıt, glukokortikoidlerin, katekolaminlerin, ghrelin ve glukagonun plazma seviyelerinin artması ve tam aksine insülin, growth hormon, gonadotropin ve tiroid hormonlarının azalması şeklinde klasik bir profile sahiptir. Plazma leptin seviyeleri ise erken açlık dönemi boyunca düşmektedir. (8,33,34,43,56). Ancak çelişki olarak literatürde, farklı açlık sürelerinde yapılmış değişik çalışmalarda, growth hormonun arttığı veya değişmediği (köpeklerde yapılan çalışmalarda ) ve tetraiodotironin ( $T_4$ ) konsantrasyonlarının normal kalırken triiodotironin ( $T_3$ ) düzeylerinin önemli ölçüde azaldığı fakat reverse-triiodotironin ( $rT_3$ ) düzeylerinin ise açlık boyunca artmadığı bildirilmiştir (köpeklerde) (57,58). Ayrıca tiroid hormonlarının memelilerde büyüme ve gelişmeyi etkilediği, lipid metabolizmasının düzenlenmesine yardım ettiği, aç kalan kişilerde plazma  $T_3$  düzeyinin, ilk 24 saatte %10-20, 3-7 günde yaklaşık %50 azaldığı bu arada  $rT_3$ 'ün arttığı ve daha uzun süren açlıkta,  $rT_3$ 'ün normale dönüp, fakat  $T_3$ 'ün düşük kaldığı ama aynı zamanda bazal metabolizma hızının düştüğü, bir protein yıkımı göstergesi olan idrarla azot atılımının arttığı yani  $T_3$ 'deki azalmanın organizmanın kalori ve proteinini koruduğu belirtilmiştir. İlave olarak açlık sırasında glukagon salgılanmasının artmasına ve glukoneogenezin azami olduğu açlığın üçüncü gününde doruğa ulaşmasına rağmen bunu takiben, plazma glukagon düzeylerinin, yağ asitleri ve keton cisimlerinin, enerjinin temel kaynağı olmasıyla birlikte düştüğü raporlanmıştır (7). Kalori kısıtlaması yapılan kısmi açlık koşullarında ise hem  $T_4$  hemde  $T_3$  düzeylerinin azaldığı bununla birlikte karaciğer tip 1 deiyodinaz aktivitesinin ve tiroid stimulan hormon (TSH) seviyelerinin düştüğünde rapor

edilmiştir (29). Açlıkta gastrin seviyeleri azalırken somatostatin düzeyleri ise değişmemektedir (59,60).

### **3.3.11. Açlıkta melanokortinerjik sistem ve enerji homeostazisi**

12 saatlik süre ile yapılan kısa süreli bir açlık çalışmasında, standart bir glikoz yüklemesinin yanı sıra mini kesim lazer görüntüleri kullanılarak hem arkuat çekirdek (ARC) nöronlarındaki nöropeptitler hem de 12 saat beslenen Wistar ratlarına karşı 12 saat aç bırakılan ratlar incelenmiştir. ARC tek nöronları (tek nöron popülasyonu) ARC hücre katmanlarıyla karşılaştırıldığında magnitüde artan büyüme (sırasıyla %23 ve %125), açlık durumlarında AgRP regülasyonunun hipoinsülinemi ve hipoleptinemi ile yakından ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. İlginç bir şekilde, açlık durumunda ne ARC hücre katmanlarında ne de ARC tek nöronlarında (%6 ya karşı %9) POMC'in aşağı regülasyonda olduğu görülmemiştir (61).

Ancak yeniden glikoz ile besleme, ARC tek nöronlarda (%+128) de POMC ifadesinin güçlü nöronal yukarı regülasyonuna ve AgRP'de (% -50) ise aşağı regülasyona sebep olmuştur. Sonuç itibariyle, deneysel, topografik ve analitik olarak belirli ve standart durumlar, POMC'nin sadece periferik glikoz yüklemesinden sonra (yukarı) regüle olduğunu ortaya koyarken, ARC nöronlarındaki AgRP'nin, genel besin durumuna bağlı olarak, sırasıyla yukarı ve aşağı regülasyona uğradığını doğrulamıştır. Bulgular, ARC nöronlarındaki POMC'nin, glikoz aracılığıyla, özellikle de hiperglisemiye tepki gösteren 'anti-oreksijenik' bir nörohormon olarak görev yaptığını öne sürmektedir (61).

Genel anlamda yapılan deneysel açlık çalışmalarına göz atıldığında ise, Faz III 'de leptin infüze edilen ratlarda AgRP (ve NPY) mRNA düzeyleri kontrol grubundaki hayvanlardan daha yüksektir. Temel molekül olmasına rağmen, leptin

açlık esnasında hipotalamik gen ifadesinin tek düzenleyicisi olmayabilir. Periferal sinyallerin sadece birkaçı, enerji homeostazı ve besin alımı düzenleyicisi olarak beyne metabolik bilgiyi iletebilir ve bu sebeple de açlık durumunda hipotalamik çekirdekteki oreksijenik ve anoreksijenik nöropeptit ekspresyonuyla enerji homeostazisi ve gıda alımı kontrolü oluşabilmektedir. Uzun süreli açlık esnasında hipotalamik genlerin regülasyonu, yakıt mevcudiyeti ve ilgili endokrin değişikliklerde dahil olmak üzere çeşitli etmenlerin eşgüdümsel hareketinden meydana gelmektedir (43).

Hipotalamik AgRP ve/veya POMC nöronlarının; ghrelin, gut hormonu peptidi YY<sub>3-36</sub> ve kolesistokinini de içeren doyumluk etmenleri gibi sinyallere tepki verebildiği rapor edilmiştir. Aslında ghrelin, hipotalamik POMC nöronları üzerinde önleyici etkilere sahiptir ve eşzamanlı olarak da AgRP nöronlarını aktive etmektedir. Hipotalamustaki YY<sub>3-36</sub> peptidi ve beyin sapındaki kolesistokinin POMC nöronlarını aktive eder. Dahası kolesistokininde bulunan iştah bastırıcı özellikler, MCR-4'nin aktivasyonunu gerektirmektedir. YY<sub>3-36</sub> ya da kolesistokinin gibi pek çok gastrointestinal hormonun aksine, açlık durumunda ghrelin plazma seviyesi oldukça artar ve yeniden besin alındığında aniden bazal seviyeye döner. Bu varyasyonların, potansiyel olarak melanokortin sisteminin regülasyonu aracılığıyla, uzun süreli besin yoksunluğu süresince, beslenme davranışını harekete geçirmesi beklenir (43).

Bahsi geçen verilerin hepsi, metabolik ve enerji durumu ile ilgili çok sayıda sinyalin melanokortin sistemiyle konverjansını ele almaktadır. Uzun süreli açlık durumunda hipotalamik tepkiye katılan diğer merkezi efektörleri (1) ve vücut rezervlerinin kullanımına göre humoral sinyallerin bu etkilere ne ölçüde aracı olduğunu (2) belirlemek için daha fazla inceleme yapılması gerekmektedir. Aslında,

enerji alımının daha fazla sürdürülmediği durumda güvenlik sınırlarını gösteren sinyallerin bulgusu ve mekanizmaların daha iyi kavranışı, vücut enerjisinin tüketimi ile bağdaştırılan ciddi yeme bozuklukları konusunda fikir sahibi olmamıza yardımcı olur (43).

### **3.3.12. Açlık ve toklukta hücrel metabolizma regülasyonu**

Henüz çok yeni çalışmalarda öğrenilmiştir ki aşağı sınıf ökaryotlarda, kronik açlık, metabolik yolların ve strese karşı direnç yollarının yeniden programlanması yoluyla yaşam süresini uzatır. Üstelik, intermittant veya periyodik açlığın, insanlarda romatoid artrit, astım, hipertansiyon ve obeziteyi azaltırken, rodentlerde nörodejenerasyon, kalp hastalıkları, kanserler ve diabet türlerine karşı koruyucu olduğu görülmüştür. Ayrıca açlık potansiyel olarak diet uygulamaları ile veya kalori kısıtlaması şeklinde -yan etkileri minimize edilerek- hayata geçirildiğinde yaşlanmayı geciktirir ve önler ve ayrıca pek çok hastalığın tedavisine katkı sağlar (62).

Ayrıca doğrudan açlık ve uzamış açlık koşullarında gerçekleştirilen veya açlık koşullarına yakın etkinin sağlandığı kalori kısıtlaması çalışmalarında yapılan gözlemler, açlığın hücre içerisinde, hücreyi esas olarak içinde bulunduğu şartlarda (patolojik veya fizyolojik stres) kendi ihtiyaç ve olanak durumunu karşılaştırarak, eldeki olanaklarla ihtiyaçlarını karşılayabilmek için gerekli homeostazisi sağlamak ve bu yolla canlılığını sürdürebilmesi için anlık seçmesi ve kullanması gereken metabolik yolları belirleyecek fosforilasyon/defosforilasyon (aktif hale getirme/aktif halden çıkarma) olayları üzerinde etkili olan ve çoğu kez çoklu metabolik yolların kavşağında bulunan ana/terminal/ düzenleyici konumundaki kritik sinyalizasyon yollarını ‘yeniden programlamaya’ sevkettiği anlaşılmıştır.

Bu yeniden programlama (metabolik reprogramming ) süreci kavramsal olarak işlevsel bir mekanizma ortaya koymak için pek çok bileşeni bünyesinde barındırır.

Sırasıyla bu bileşenler, şu anda bilindiği kadarıyla ya fizyolojik (uzun ömür, hastalıklardan korunma, apoptozis vb) veya patolojik (katabolik stres, uygunsuz çoğalma (kanser), apoptozis vb.) bir sonuca götüren, mitokondrial biojenez (mitokondrial biogenesis), transkripsiyonel düzenleme ve otofajidir (29, 62). Bu bileşenlerin yeniden programlanması ise fosforilasyon/defosforilasyon statüsünü belirleyen sinyalizasyon yolak ve/veya yolaklarının /proteinlerinin/moleküllerinin üzerinden gerçekleştirilir.

Bunlar konumuzla ilgili esas olarak adenosin monofosfat (AMP) ile aktiflenen Protein Kinaz (AMPK - AMP-activated protein kinase ), memeli rapamisin hedefi (mTOR -Mammalian target of rapamycin), ribozomal protein S6 kinaz 1 (S6K1/P70S6K1-Ribosomal protein S6 kinase beta-1), insülin/insülin benzeri büyüme faktörü I sinyalizasyonu (IIS kaskad - Insulin/Insulin-like growth factor I signaling), insülin reseptör substrat proteinleri (IRS -İnsulin receptor substrate proteins), mitojen aktive eden protein kinaz (MAPK - Mitogen-activated protein kinase) ve aynı zamanda mitojen aktive eden kinaz/ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz (MAPK/ERK - Mitogen activated protein kinase/ Extracellular signal-regulated kinase) olarak adlandırılan ve kısaca MEK olarak gösterilen (MAPK/ERK kinaz - MAPK/ERK kinase ) sinyal yolakları ve sinyal molekülleridir (63-69).

### **3.3.13. Açlıkta proteolitik ve lipolitik olaylar**

Ubikuitin proteozom sistemi (UPS) ve iki farklı lizozomal proteoliz yolağı (makrootofaji ve Kaperon aracılı otofaji (CMA - Chaperon Mediated Autophagy)) daha starvasyon (açlık ) koşullarında aktive olur (34).

#### **3.3.13.1. Lizozomal otofaji**

Aslında 'kendi kendini yeme' anlamına gelen otofaji, her biri ATP gerektiren mikrootofaji, makrootofaji ve chaperon aracılı otofaji de dahil olmak üzere pek çok farklı süreçten oluşmaktadır. Bu otofajik süreçler dış (starvasyon) ve iç (hasarlı organeller, oksidatif stres, protein agregasyonu) uyarıcılarla bağlantılı olarak görev yaparlar. Starvasyon durumunda aktive olan iki otofaji sınıfının dışında üçüncü bir lizozomal proteolitik yolak olan mikrootofaji starvasyonla aktive olabilir de olmayabilir de (34).

#### **3.3.13.2. Makrootofaji**

Makrootofajide hedef bileşenler, proteinleri, şekerleri, yağları ve nükleik asitleri kapsar. Lizozomlar, tüm bu bileşenleri sindirebilen hidrolitik enzimleri içermektedir. Makrootofaji, ilk 24 saatlik starvasyon boyunca kısa bir süreliğine geçici olarak aktive edilir. Karaciğerdeki makrootofaji insülin ve aminoasitler tarafından inhibe edilir ve glukagon ile harekete geçirilir. Her aminoasit makrootofajiyi eşit şekilde inhibe etmez. Örneğin karaciğerde, lösün makrootofajiyi, diğer herhangi bir aminoasidin yaptığından çok daha etkin bir şekilde inhibe eder ancak azami inhibisyonu elde etmek için lösünle birlikte fenilalanin, tirozin, glutamin, prolin, histidin, triptofan, metiyonin ve alanininde mevcut ve hazır bulunması gerekir. Aminoasitler yalnızca karaciğerde değil iskelet kasında, böbrekte

ve kalpte de protein degradasyonunu durdurur. Bu durumlarda, lösin ve fenilalanin tek başlarına iskelet kasında maksimum inhibisyonu gerçekleştirir (lösin ve glutamin en çok böbreklerde etkindir) ve lösin tek başına kalpte maksimum inhibisyon gösterir (34).

### **3.3.13.3. Chaperon Aracılı Otofaji (CMA)**

Uzun süreli starvasyon esnasında CMA, hepatosit, renal hücreler ve fibroblastlar gibi hücre türlerindeki sitozolik proteinlerin yaklaşık olarak % 30'unun yıkımından sorumludur. Lizozomlar, CMA aracılığıyla proteinleri seçilmiş bir şekilde degrade ederler. Bu seçim KFERQ olarak adlandırılan bir pentapeptit motifle yakından ilişkilidir. KFERQ pentapeptit motifi ise (lizin (K)-fenilalanin (F)-glutamat (E)-arjinin (R)-glutamin (Q)) bazı proteinlerin degradasyon amacıyla mitokondri ve diğer organellere taşınması için onların yüzeyinde yer alan belirli sinyaller olarak tanımlanmaktadır (34,70,71).

### **3.3.13.4. Starvasyon durumunda oluşan lipolitik tepkiler**

Starvasyonda metabolizmanın kalori ihtiyacını karşılamak için yağ yakımı/yıkımı önemlidir. Üstelik sürekli ve ısrarlı lipoliz, Serbest yağ asit (SYA)'lerini metabolize etmeyen dokulardaki CMA'yı harekete geçirecek olan keton cisimciklerinin oluşumuyla sonuçlanır ve bu da starvasyonun esas lipolitik safhasında düşük proteoliz düzeyinin devamını sağlar (Faz II) (44).

## **3.4. Açlıkta Histolojik (IM ve EM) ve İmmünohistokimyasal Çalışmalar**

Açlığın morfolojisi (histolojisi ve immünohistokimyası) üzerine deneysel çalışmalar hemen neredeyse açlık fizyolojisi ve biyokimyası ile ilgili çalışmalara paralel bir seyir izlemiştir. 1970'li yıllarda belirginleşmeye başlayan çalışmalar

günümüze kadar artan laboratuvar imkanları ve histolojiye katkı sağlayan yardımcı bilim dallarının geliştirdiği yeni tekniklerle devam ettirilmiş ve bu sayede oldukça ciddi bir bilimsel birikim sağlanmıştır. Bu deneyler özellikle ratlar ve insanlar üzerine yoğunlaşsa da diğer türlerle yapılan çalışmalarda bu süreçte hız kazanmış ve açlık morfolojisinin türlerden bağımsız olan ortak ve değişmez parametreleri aydınlatılmaya çalışılmıştır. Son yıllarda genetik biliminin sağladığı katkılarda, henüz yetersiz olmakla birlikte, açlıkta hücrede ve hücre içi düzeyde meydana gelen moleküler süreçleri göz önüne sermeye başlamıştır. Açlığın mekanizmasını tam olarak anlayabilmek için bu morfolojik (histolojik ve immünohistokimyasal), fizyolojik, biyokimyasal ve genetik çalışmaları birlikte ele almak gerekmektedir. Bu sistematik bakışta bir başlangıç/referans noktası ve ortak zemin olarak histolojik (Işık mikroskopik (IM) ve Elektron mikroskopik (EM)) ve immünohistokimyasal (IHK) çalışmalar oldukça belirleyici ve değerlidir.

1975 yılında Morozov ve ark., tedavi amacıyla yiyecek kısıtlaması (therapeutic food deprivation) uygulanan ve hastanede yatmakta olan 18 hastada aynı gastrik mukozal alanlarda meydana gelebilecek pH değişiklikleri ile fundusun parietal hücrelerindeki submikroskopik değişiklikleri kıyaslamalı olarak incelemişlerdir. 36 saatlik kısa açlıktan sonra ne parietal hücrelerde ultrastrüktürel değişiklikler ne de muköz membranda pH farklılığı saptanmamıştır. Ancak açlık süresi arttıkça (20-30 gün açlığı takiben ve 3 günlük açlıktan sonra) pH değişikliklerine paralel olarak parietal hücrelerde, tubuloveziküllerde sonradan meydana gelen görünüm kaybı ile birlikte düzleşme, intrasellüler kanalların lümeninde daralma ve mikrovillüslerde kısalma ortaya çıkmıştır. Ortaya çıkan bu

submikroskopik değişiklikleri, parietal hücrelerin fonksiyonel aktivitesinde, açlığa bağlı olarak ortaya çıkan bir depresyon olarak yorumlamışlardır (72).

1975 yılında Butterfield tarafından kaleme alınan bir derlemede deneysel stress ülserleri değerlendirilmiş ve bu tip ülserlerin mekanizmasında midenin mukozal tabakasındaki mitotik aktivite azalmasının, mukus ve glikoproteinlerdeki ekskresyon azalmasının, mukozal sirkülasyondaki değişikliklerin ve gastrik asit varlığının kendi aralarındaki etkileşiminin rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. Soğuk, açlık, artmış asidite, yanıklar, safra reflüsü, endotoksinler ve hemoraji gibi faktörlerin stres ülserlerini artırdığı aksine vagotomi, antikolinerjikler, elemental dietler, vitamin A, antasitler, safra reflüsünün önlenmesi, kortikosteroidler, adrenalin ve noradrenalin, serotonin antagonistleri ve kan kaybını önlemek için düşükmolekül ağırlıklı dextran verilmesinin ise ülser oluşumunu engellediği bunun yanısıra intrakranial zedelenmeden kaynaklanan ülserlerin genellikle gastrik asit sekresyonu ile ilişkili olduğu, ortaya çıkan vagal stimulasyonla direkt veya indirekt olarak hipotalamus uyarılmasının ise artmış asiditeden sorumlu mekanizma olabileceği belirtilmiştir (73).

1975 yılında Zaviacic ve ark. tarafından, 24. saatten başlayarak 240 saatlik sürelele kadar ulaşan açlığa maruz kalmış, 7 sağlıklı ve gönüllü deneğin gastrobiopsi materyalleri üzerinde, elektron mikroskopik ve seçilmiş histoenzimolojik yöntemle yapılan insanın gastrik mukoza yapısı ile ilgili, açlığın etkilerini inceleyen çalışmada fundal mukozaya ait şef hücrelerde (chieff cells), açlık boyunca (240 saat açlıktan sonra) asit fosfataz aktivitesinin arttığı, nonspesifik esteraz (naftil esteraz) aktivitesinin ise azaldığı belirlenmiştir. Açlık boyunca şef hücrelerde yapılan elektronmikroskopik incelemede ise lizozomlarda çok sayıda kıvrılma ve

katlanmalar (multiplikasyon) ve granular endoplazmik retikulumda daralmalar gözlenmiştir. Açlık boyunca bir kısım şef hücrelerde zimogen granül birikimi görülürken diğer şef hücrelerde yalnızca birkaç granül izlenmiştir. Açlığın 72 ile 240. saatinden sonra ise parietal hücrelerde ve insan gastrik bezlerinin diğer hücrelerinde aşırı miktarlara ulaşan bir yağlanma görülmüştür. Bu durumun diğer faktörlerin muhtemel katılımıyla birlikte esas olarak dirençli açlık lipemisi zemini üzerinde meydana gelmiş olabileceği ileri sürülmüştür. İnsan gastrik mukozasının parietal ve diğer hücrelerine ait mitokondrial yapıda ise hafif derecede belirgin değişiklikler gözlemlendiği bildirilmiştir. Histokimyasal olarak incelenen yağlanmış parietal hücrelerdeki dehidrojenaz aktivitesinin azalmasının ancak ve yalnızca bu yağlanmış hücrelerde geniş miktarda lipid damlacıkları birikimine sebebiyet veren bulgularla açıklanabileceği belirtilmiştir. Açlığın 72 ile 240. Saatinden sonra, muhtemelen HCL üretiminin azalması ile ilişkili olarak, parietal hücrelerde kollaps, intrasellüler kanaliküllerde az gelişmişlik ve tubuloveziküllerde daralma ile ifade edilebilecek bir profil izlenmiştir. Ve genel olarak gözlemlenen bu morfolojik değişikliklerin, açlık boyunca insan gastrik mukoza hücrelerinin fonksiyonlarında meydana gelen azalmanın sonuçları olabileceği ve bu gerileyici değişikliklerin reversibl olduğu, tüm bu sonuçlara yetersiz gıda alımının yani açlığın sebep olduğu belirtilmiştir (74).

1976 yılında Zaviacic ve arkadaşları tarafından ardışık bir diğer çalışmada ise, 168 saatlik açlık periyodunda rat gastrik endokrin hücrelerin ultrastrüktürü ve belirli sitokimyasal parametreleri üzerine açlığın etkileri incelenmiştir. Dekapitasyondan önce, aç bırakılan hayvanların bazılarında peroral alkol veya yiyecek uygulaması yapılmıştır. Bu çalışmada elektron mikroskobu kullanılmak suretiyle Enterokromafin hücreler (EC hücreleri -Enterochromaffin Cells),

Enterokromafin-benzeri hücreler (ECL hücreleri -Enterochromaffin-Like Cells), A - benzeri hücreler (AL hücreleri - A-Like cells), Somatostatin hücreleri (D1 hücreleri - Delta-1 Cells) ve Gastrin hücreleri (G hücreleri -Gastrin cells)identifiye edilmiştir. Ancak bunlardan yalnızca EC, ECL ve G hücreleri uygun histokimyasal teknikle ışık mikroskopunda değerlendirilebilmiştir. Açlık boyunca EC ve ECL hücrelerinin ultrastrüktürel resimlerinde belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir. D1 hücrelerinde ise sekretuar granül birikimi ortaya çıkmıştır. Ancak bunlardan bazılarının parçalanmış ve ortadan kaybolduğu izlenmiştir. AL hücrelerinde de açlık esnasında granüler birikim görüldüğü ama bu granüllerin sıklıkla lizozomların içinde yutulmuş/sindirilmiş olarak bulunduğu ve ayrıca açlık boyunca granüllerin degradasyonuna lizozomların katılımının, AL hücrelerinde G hücrelerinden daha belirgin olduğu saptanmıştır. Lizozomların varlığı EC ve D1 hücrelerinde kuşku ile karşılanırken, ECL hücrelerinde hiç lizozom gözlenmemiştir. Karşıyırım yöntemiyle değerlendirme yapıldığında ise, aç bırakılmamış hayvanların G hücrelerinde, gastrin granüllerinin yerinin yarısından fazlasının boş olduğu, oysaki aç bırakılmış hayvanların G hücrelerinin birikmiş (aglomere) yoğun granüllerle dolu dolu olduğunu ve ayrıca bu hücrelerin aynı zamanda sindirilmiş sekretuar granül parçacıkları içeren lizozomlar ihtiva ettiğini bildirmişlerdir. Hayvanların dekapitasyonundan 3 saat önce gıda uygulanmasını (Larsen's diyeti) takiben iyi korunmuş membranlara sahip granüllerin içeriğinin dağıldığı ancak kesinlikle emiyositozis meydana gelmediği ve gıda uygulamasının EC hücrelerinin ultrastrüktürel görünümünde değişikliklere yol açmadığı görülmüştür. Alkolün peroral uygulamasının ise AL ve G hücrelerinin ultrastrüktürel yapısında değişiklik meydana getirmediği gözlemlenmiştir (75).

1976 yılında yine Zaviacic ve ark. tarafından devam ettirilen seri halindeki ardışık bir diğer çalışmada ise açlık boyunca rat gastrik mukozasındaki histokimyasal bulgular rapor edilmiştir. Bu çalışmada açlık boyunca parietal hücrelerde, belirgin olarak asit fosfataz ile E-600 rezistant esteraz enzimlerinin ve daha az miktarda ise beta-glukuronidaz enziminin aktivitesinde artış meydana gelmiştir. Makrofajlardaki yüksek lizozomal enzim aktivitesi ise açlık esnasında değişmemiştir. Aynı zamanda kapiller endotelindeki alkalın fosfataz aktivitesinde bir değişiklik meydana gelmemiştir. Açlık ve kontrol olmak üzere her iki gruba ait hayvanların şef hücrelerinde insan gastrik mukozasına bir tezat olarak herhangi bir non-spesifik esterazın yer almadığı belirlenmiştir. Dehidrojenazlarla ilgili olarak ise, hem kontrol hem açlık grubundaki hayvanların parietal hücrelerinde bu grup enzimlerin farklı bir aktiviteleleri izlenmiştir. Ve açlığın rat gastrik mukozasında, hücrelerin önemli organellerini işaretleyen enzimlerin aktivitelerini indüklediği sonucuna varılmıştır (76).

1976 yılında Sano tarafından gastrik mukozanın hem endokrin hemde exokrin hücrelerini ele alan ve açlık, yeniden doyurulma, elektriksel vagus uyarımı ile parietal ve şef hücrelerde oluşan değişiklikleri inceleyen bir çalışma daha yapılmıştır (77).

1977 yılında Zaviacic ve arkadaşları tarafından seri çalışmalar devam etmiş olup, bu kez insan antral G hücrelerinin yapısı incelenmiştir. Çalışmada yine 7 sağlıklı ve gönüllü denekden (açlık şartı sağlanarak) gastrobiopsiler elde edilmiş ve 24 saatten 240 saate ulaşan bu açlık koşulları altında insan antral G hücrelerinin ultrastrüktürel değişiklikleri incelenmiştir. Aç bırakılmış hayvan gastrik G hücrelerine tam bir tezat olarak, açlık boyunca insan antral G hücrelerinde

granüllerde emiyositozis olmaksızın gastrin granüllerinin muhteviyatının dağıldığı gözlenmiştir. Ancak otörler bu duruma yalnızca gastrobiopsi tekniğinin kendisinden kaynaklanan sebeplerinde yol açmasının muhtemel olduğunu ileri sürmüşlerdir (78).

1977 yılında Zaviacic ve ark. nın ardışık seri çalışmaları devam etmiş ve bu kez rat gastrik mukozasında 168 saatlik açlığın etkilerini ışık ve elektron mikroskopik olarak incelemişlerdir. Foveolar hücrelerin herbirinde deskuamasyon artışı tespit etmişlerdir. Ayrıca açlık süresince, foveolanın korunmuş hücrelerinde, PAS pozitif mukosubstansların muhteviyatının niteliği ile hacminin değişmediğini ve elektron mikroskopik incelemede ise müköz granüllerin miktarı ve görünümünde bir değişiklik meydana gelmediğini saptamışlardır. Esas olarak parietal hücrelerde olmak üzere, açlık zarfında mitokondrilerin genişlediğini ve mitokondrial kristalların seyrekleştiğini gözlemlemişlerdir. Bazı mitokondrilerin ise bütünlüğü bozularak dağıldığını ve lizozomlar tarafından ortadan kaldırıldığını bildirmişlerdir. Parietal hücrelerde ise (esasını sitosergrezomlar teşkil etmek üzere)lizozomların sayısında bir artışın meydana geldiğini, intrasellüler kanaliküllerde kollaps oluştuğunu ve tubuloveziküler profilde bir daralma olduğunu kaydetmişlerdir. Aynı zamanda şef hücrelerin profilinde granüler endoplazmik retikulumun ve golgi aparatının azaldığı belirlenmiştir (79).

1979 yılında Mortensen ve arkadaşları tarafından açlık koşullarında gastrin ve G hücrelerinin ultrastrüktürü çalışılmıştır. Çalışmada radyoimmünoassay yöntemi ve kantitatif elektron mikroskobu kullanılmıştır. Ratlar 24,48,72 saatlik açlığa maruz bırakılmışlardır. Denekler gün başına (24 saatte) progressif olarak vücut ağırlıklarından 20 gr kaybetmişlerdir. Serum gastrin seviyeleri aç hayvanlarda belirgin ölçüde azalmıştır. Aynı zamanda 48 ve 72 saatlik açlıktan sonra antral

gastrin konsantrasyonlarında da önemli ölçüde azalma saptanmıştır. Bu durumun, özellikle 48 saate doğru en yüksek düzeyde olmak üzere, her bir G hücresinin sitoplazmik hacmi ve granül içeriğinin azalması ile de ilişkili olduğu belirlenmiştir. 72 saat aç kalmış hayvanlardan elde edilen hücrelerin golgi zonlarında elektron yoğun/dens granüllerin relatif yokluğu dikkate alındığında yeni forme olmuş granüllerin azlığının ileri sürülebileceği belirtilmişse de bir bütün olarak granül popülasyonu ele alındığında açlığın bu granül popülasyonunun elektron dansitesinde belirlenebilir bir değişiklik meydana getirmediği saptanmıştır. Sonuç olarak, açlık zarfında, gastrinin salınımının ve sentezinin inhibe edildiği öyleki granül depolarının azaldığı ve hücre ölçülerinin küçüldüğü saptanmıştır. Gastrinin antral içeriği ve G hücrelerinin granül içeriği arasındaki ilişkinin, hormon salınımının, granüllerin içeriğindeki herhangi bir değişiklikten daha çok, ekzozitoza benzediğini ve bu şekilde salındığını söylemek için yeterli olacağını belirtmişlerdir (80).

Yine 1980 yılında Zaviacic ve ark. tarafından gastrik mukozanın sıçan parietal hücrelerinin ultrastrüktürü, günün yirmi dört saati boyunca araştırılmıştır. Erkek sıçanlar, karanlık gecede normal ışık koşulları altında serbest yemleme ile beslenmişlerdir. Hayvanlar, standart 24 saatlik açlık sonrasında her biri 5 hayvan içeren gruplar halinde sırasıyla saat 6. 00,12. 00,18. 00 ve 24. 00'de dekapite edilmişlerdir. Literatür verilerine dayanarak parietal hücreler, salgılayıcı parietal hücreler (Secreting parietal cells-S, toplamın %38'i), dinlenme evresine geri dönen salgılayan parietal hücreler (Secreting parietal cells returning to Resting state-SR, toplamın %18'i), dinlenen parietal hücreler (Resting parietal cells-R, toplamın %35'i) ve erken salgılama evresine girme eğiliminde olan dinlenen parietal hücreler (Resting parietal cells tending to early Secreting state - RS, toplamın %9'u) olarak

belirlenmiştir. Bazı parietal hücre tipleri, sirkadyan ritim esnasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı düzeyde eşit olmayan şekilde dağılmıştır: S, saat 6. 00 (toplamin %2'si) ve saat 12. 00'de (toplamin %4'ü) beklenenden daha az (sırasıyla %7 ve %10) ve saat 18. 00 (toplamin %11'i) ve saat 24. 00'de (toplamin %21'i) beklenenden daha yüksek (sırasıyla %8 ve %13) çıkmıştır. Aksine R, sabah örneklerinde daha yüksek çıkmıştır (%7 ve %9 yerine sırasıyla %13 ve %15) ve akşam örneklerinde daha azalmıştır (%7 ve %12 yerine sırasıyla %4 ve %3). Dağılım farkları, saat 6. 00 - 12. 00 arası ve S-RS kombinasyonları haricinde tüm hücre-hücre ve saat-saat kombinasyonları için istatistiksel olarak kanıtlanmıştır. Dağılımdaki en büyük farklar, saat 6. 00 ve 24. 00'de ve saat 12. 00 ve 24. 00'de S ve R miktarları arasında bulunmuştur. Bu nedenle, özellikle asit üretiminde işlevsel olan ince hücre yapılarında olmak üzere parietal hücrelerin belirgin sirkadyan ritmi gösterilmiştir. Sonuçlar, sıçanlarda gastrik asit üretiminin ritmikliğine dair daha fazla kanıt ortaya koymuştur (81).

1980 yılında Bertrand ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, açlıktan sonra doyurulma durumunda antral gastrin hücre proliferasyonunun indüksiyonunu çalışmışlardır. Kantitatif histolojik metodu gastrin hücre sayısını ve tritie edilmiş timidin enjeksiyonunu takiben radyootografik tekniği ise yeni forme olmuş gastrin hücrelerinin kantitatif değerini saptamak için kullanmışlardır. 4 günlük açlık periyodundan sonra total gastrin hücresi sayısı %68 oranında azalırken, 4 gün açlığı takiben 6 gün doyurulan ratlarda ise gastrin hücre kitlesinde % 79 luk bir artış saptamışlardır. Doyurulma periyodu boyunca 6 gün tritie timidin enjeksiyonları yapılan etiketlenmiş gastrin hücrelerinin indeksinde ise, kontrollerle kıyaslandığında dikkate değer artış belirlenmiştir. Doyurulma süresince izlenen proliferatif yanıtta

yoğunluğunda yine doyurulma boyunca izlenen gastrin hücre sayısındaki artışla uyduğu gözlenmiştir. Bu gözlemler sonucunda, ratlarda açlığı takiben yeniden doyurulmadan sonra, antral bezlerde forme olan gastrin hücrelerinin, yeni bir popülasyonunun ortaya çıktığını bildirmişlerdir (82).

1981 yılında Siniavskaia ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise immatür ratlardan elektron mikroskobu ile gastrik mukozaya ait altı tip endokrin hücre elde edilmiş (G, D, D1;EC, ECL ve A-like) ve sekretuar granüllerinin salınımı, matürasyonları, formasyon biçimleri ve yapıları ayırtedilmeye çalışılmıştır. Bu hücrelere ait diğer sitoplazmik yapıların gelişim derecesi de ayırt edilmiştir. 48 saatlik açlıktan sonra doyurulmanın, sentetik süreçlerin aktivasyonunun yoğunluğunda ve ölçüsünde değişikliğe yol açtığı belirlenmiştir. Bu olguların ışığında, sindirimin erken aşamalarında gastrik sekresyonun stimülasyonunda bu hücrelerin ve ürünlerinin (gastrin, histamin) oldukça önemli rolü olduğu görüşüne varmışlardır (83).

1982 yılında Jacobs ve ark. tarafından yapılan çalışmada 24 saatlik zaman diliminin altı farklı noktasında gastrik parietal hücrelerin ultrastrüktürü çalışılmıştır. Ratlar ya 4 saatlik bir ılımlı doyurulma periyoduna ya da 40 saatlik açlığa maruz bırakılmıştır. Her farklı ölçüm zamanında bezlerin bazal ve boyun bölgesindeki sekretuar kanaliküllerin hacim yoğunluğu, düz endoplazmik retikulumun ve mikroveziküllerin yüzey dansitesi ve multiveziküler cisimciklerin numerik dansitesi ölçülmüştür. Her iki deney grubunda da bu dört değişkenin günlük varyasyonu incelenmiştir. Normal bir biçimde istirahat fazında olan ratların beslenmesinde kısıtlamaya gidilmesinin bu günlük ritimde 180 derecelik bir faz kaymasına neden olduğu gözlenmiştir. Bu durumda ilave faktörlerin hücrel aktivite kalıbını

etkileyebileceğini düşündürmüştür. Günün tüm ölçüm zamanlarında boyun bezlerindeki her iki deney grubuna ait hücrelerin kanaliküllerine ve düz endoplazmik retikulumlarına ait değerler bezlerin basalindeki hücrelerinkinden daha yüksek bulunmuştur. Bu durumda araştırmacıların boyun bezlerinde bulunan parietal hücrelerin mide lümeninden daha uzakta yerleşmiş bulunanlardan daha aktif olabileceğini düşünmelerine yol açmıştır. Ayrıca hücrelerin bez lokasyonu ve multiveziküler cisimciklerin numerik dansiteleri arasında bir korelasyon saptanmamıştır (84).

1986 yılında yine Schwarting ve ark. ları tarafından açlığın rat mide dokusundaki endokrin hücreler (gastrik G hücreleri, D hücreleri ve parietal hücreler) üzerindeki etkisi çalışılmıştır. Bu çalışmada Tok olan kontrollerle 12 ve 96 saat aç kalmış rat grubunun G, D ve parietal hücre dansiteleri ile hem antral hem fundik numunelerdeki somatostatin ve gastrin konsantrasyonları ve serum gastrin düzeyleri kıyaslanmıştır. Uzun süre aç kalmış ratlarda antral mukozadaki gastrin, serum gastrini ve G hücresi yoğunluğu tıpkı antral D hücresi yoğunluğunda olduğu gibi, sırasıyla %52,%90,%58 ve %42 oranında azalmıştır. Fundik D hücresi yoğunluğu ise değişmeden kalmıştır. 96 saatlik açlıktan sonra somatostatin konsantrasyonu antral mukozada hafifçe artmış (+%35) fundik mukozada (-%40 ) azalmıştır. Parietal hücre dansitesi ise uzamış açlıktan etkilenmemiştir. Bu bulgular mukozal somatostatin içeriği ve D hücre morfolojisindeki değişikliklerin paralel olmadığını ve aynı zamanda rat gastrik D hücrelerinin, G hücrelerinden daha az oranda gastrik lümendeki yiyeceğe bağımlı olduğunu ortaya koymuştur. Araştırmacılar tarafından değişmemiş olan fundik D hücre yoğunluğunun ise gastrik lümendeki gıdaların

varlığı veya yokluğundan etkilenmemiş olduğu aşikar şekilde tespit edilmiş olan gastrik D hücre fonksiyonel aktivitesini yansıttığı ileri sürülmüştür (85).

1986 yılında yine Solomon ve ark. tarafından yapılan aç ve tok ratlarda pentagastrinin gastrointestinal traktus üzerine trofik etkileri başlıklı çalışmada öncelikle, tuz solusyonu içerisinde pentagastrin injekte edilmiş ratlarda 30 ve 60. dakikalarda ortaya çıkan zirve gastrik asit yanıtları incelenmiştir. 48 saatlik aç ve tok ratlara 8 saatlik aralarla farklı dozlarda (mikrogram/kg) pentagastrin enjekte edilmiştir. Açlık vücut ağırlığını (tokluğa karşı % 30), serum gastrinini (% 90) ve kolon, ince barsaklar, pankreas ile hem oksintik hemde pilorik bez sahalarındaki protein içeriği ve ağırlığını azaltmıştır. DNA içeriği veya timidin birleşimi, kolon hariç tüm organlarda azalmıştır. Pentagastrinin en düşük dozları aç kalmış ratların ince barsağında tok ratların ise oksintik bez sahasında timidin birleşimini önemli ölçüde artırmıştır. Buna rağmen organ ağırlığı, protein veya DNA içeriğini ise artırmamıştır. Araştırmacılar bu bulgulara dayanarak kısa süreli açlığın gastrointestinal organ büyümesi üzerine dramatik etkileri olduğunu ve pentagastrinin ise bu değişikliklerin bir kısmının tam tersi yönünde etki ettiğini belirtmişlerdir (86).

1986 yılında Oomori tarafından 7,14,21 ve 28 günlük açlıktan sonra rat pilorik antrumundaki G hücreleri elektron mikroskop ve immünohistokimya yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Işık mikroskobu için, peroksidaz anti-peroksidaz yönteminde, açlık boyunca gastrin immünreaktif hücreler sayı ve ölçü bakımından belirgin şekilde azalmıştır. Kantitatif elektron mikroskopi değerlendirmesi ise açlık boyunca elektron-lusent granüllerin sayısının büyük miktarda azaldığını, aksine elektron-dens granüllerin sayısının ise arttığını açığa çıkarmıştır. G hücrelerindeki intermediyat granüllerin sayısı ise dikkate degecek bir şekilde değişmemiştir. Bu

sonuçlara bakarak uzun süreli açlığın granül matürasyonunu ve gastrin sentezini önemli ölçüde inhibe ettiği ileri sürülmüştür (87).

1987 yılında Alvares tarafından yapılan çalışmada da açlık ve tokluk şartlarında rat gastrik mukozasındaki mitotik aktivitenin sirkadien ritmi incelenmiştir. Ad libitum beslenen hayvanların mitotik indekslerinde 1200. saatte bir zirve ve gece bir düşüş grlmştir. A kalan ratlarda ise 1200. saatte mitotik zirve değerleri korunmakla birlikte daha düşük indeks değerleri saptanmıştır. Her iki grupta indeks değerleri 24 saatlik bir ritim göstermemiştir. Ad libitum beslenen grupta (tok ratlar) 24 saatlik bir ritim saptanmış oysaki a kalmış ratlarda basit kosinr analizinde elde edilen değerlerde 24 saatlik bir ritim saptanmamıştır (88).

1989 yılında Matsumoto ve arkadaşları uzun süreli açlıkla indüklenmiş gastrik ülserler üzerine bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmalarında uzun süreli açlıktan sonra gastrik ülserlerin sıklığı üzerinde intragastrik pH ve Periodic Acid Schiff (PAS) pozitif mukusun rolünü incelemişlerdir. Sırasıyla gastrik ülserler n mide ve korpusda açlıktan 4 ve 6 gün sonra saptanmıştır. Açlıktan 1,2,3,4,6 ve 7 gün sonra intragastrik pH önemli miktarda azalmış ancak 8. gün kontrol seviyelerine dönmeye eğilimli olarak gözlemlenmiştir. PAS pozitif mukusta 2 ve 7. günlerde önemli miktarda artış olmasına rağmen 8. günde önemli bir değişiklik olmamıştır. Bu sonuçlara bakılarak, ağressif faktörler dahil edilmediğinde, bu tip ülserlerin sıklığı üzerinde savunma faktörlerinin zayıflamasının önemli rol oynar gibi göründüğü ve bu defansif zayıflamanın sebeplerinden birinde gastrik mukusun volümündeki azalma olduğu ileri srlmştir (89).

1990 yılında Uspenskii ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise düzenli beslenme alışkanlığı olan sağlıklı kişilerde, midenin muköz membranının bağ doku

(stromal) hücrelerinin morfolojik durumu araştırılmıştır. Midenin muköz membranında sindirim esnasında, sindirimle ilgili olarak değerlendirilen reaksiyonel bazı değişiklikler meydana gelir. Kesin morfolojik göstergeleri olan sindirim reaksiyonunun üç aşamasının yanı sıra morfometri ve matematiksel analiz yoluyla belirtilen bağlantıları da bulunmuştur. I. aşamanın (hazırlık), ılımlı bir nötrofilik lökopedez ile ılımlı bir lenfositik infiltrasyon, muköz membranın süperfisyal ++ epitelinin altındaki mast hücrelerinde degranülasyon ve ılımlı bir vasküler reaksiyon ile karakterize olduğu; II. aşama (gelişim)'nin, mikrosirkülatuar yatağın kesin şekilde demonstre edilebilen reaksiyonu, muköz membranın tüm seviyelerinde mast hücrelerinin yoğun degranülasyonu, nötrofilik granüositler ve lenfositlerin stromanın içine kitlesel deşarjı olarak ayrıldığı; III. aşama (restoratif)'nin ise fibrosit ve fibroblastların baskınlığı, mast hücrelerinin onarımı, stromanın nötrofil granüositlere doygunluğunun azalması, lenfositler ve eozinofilik granüositlerde artışın meydana gelmesiyle karakterize olduğu saptanmıştır. Elde edilen veriler, normal ve gastroduodenal patolojik açıdan midenin muköz membranının fonksiyonel morfolojisi hakkındaki bilgilerimizi arttırmıştır. (90).

1992 yılında Yamazaki ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise Hem kontrol sıçanlarının hem de aç sıçanların gastrik fundik mukozasında nötral musin ve asidik musinlerin lokalizasyonu, mikroskopik ve elektron mikroskopik histokimyasal yöntemlerle incelenmiştir. Carnoy fiksasyonu ile kontrol sıçanlarının gastrik fundik mukozasının yüzey muköz kaplamasının, asidik musinlerin ve nötral musinlerin değişen katmanlarından oluştuğu bulunmuş ve bunların senkronize ve siklik sekresyonları gösterilmiştir. Fundik bezlerin birçok gastrik çukurcuklarında asidik musinlerin, tıpkı volkanlar gibi derin foveolar bölgelerden fişkırdığı bulunmuştur. Bu

olgu, asidik musinlerin, geçişi boyunca HCl'ye karşı pit hücrelerinin korunmasında temel bir rol oynadığını ve yüzey kaplamasındaki nötral musin ve asidik musin katmanlarının, gastrik lümendeki HCl'ye ve sindirim enzimlerine karşı bir emniyet tedbiri olduğunu göstermektedir. A olan sıçanların gastrik fundik mukozasında mide suyunun asiditesi ve miktarı anlamlı lde azalmıştır ve musinlerle HCl'nin baskılanan sekresyonları gösterilmiştir. Slfomusunin azalan üretimi, doğrudan gösterilmiştir. Kontrolde gösterilmeyen alsiyan mavisipozitif ama yüksek demirdiyamin-negatif siyalomusun birikiminden ötürü; parietal hücrelerle yakından ilişkili olarak mevcut olan çoğu muköz boyun hücresi şişmiştir. şişmiş muköz boyun hücrelerinde bulunan siyalomusunin sekretuar granülleri, asit mukopolisakkaridleri gösterebilmek için kakodilat-ferrik koloid ile ultrastrüktürel olarak pozitif boyanmıştır (91).

1992 yılında Alvares ve arkadaşları tarafından emme dönemindeki 14 günlük ratlarda açlığın gastrik mukozadaki hücre proliferasyonu üzerine yapılan çalışmada:

1. Açlığın gastrik mukozada hücre proliferasyonu üzerindeki etkisi, 14 günlük henüz emme dönemindeki Wistar sıçanlarında araştırılmıştır.

2. Mide korpusunun epitel hücrelerinin yenilenmesi, 18-21 saat boyunca a bırakılmış olan elli adet 14 günlük sıçanda ve aynı yaşta olan elli adet kontrol (henüz emen) sıanında durdurulmuş metafazlar sayılarak, DNA etiketlemesi ile değerlendirilmiştir. Hayvanlar, 24 saatlik dönem üzerinden 3 saatlik aralıklarla dekapite edilmişlerdir.

3. Metafaz durdurma yöntemi aynı zamanda hem besleme hem de açlık koşullarındaki 26 sıçanın gastrik bezlerinde hücrelerin mitozaya geçiş oranının tahmin

edilmesi için de kullanılmıştır. Proliferatif indekslere ilaveten epitel hücrelerin sayısı ile bezlerin ve mukozanın yükseklikleri, 20 sıçanda morfometrik olarak ölçülmüştür.

4. Açlık grubunda ve kontrol sıçanlarında hücrelerin mitoza geçiş oranında (aç bırakılan sıçanlardaki hücrelerin sayısı =  $0.49 \pm 0.077$  hücre 100 hücre-1 h-1), epitel hücrelerin sayısında (aç bırakılan=  $241.2 \pm 24.3$  hücre/0.023 mm<sup>2</sup>) ya da gastrik bezlerin yüksekliğinde (aç bırakılan=  $194 \pm 5.4$  mikron) anlamlı farklar görülmemiştir. Hem etiketleme hem de metafaz indeksleri (ortalama  $\pm$  ortalamanın standart hatası (SEM - standard error of the mean)), kontrollere kıyasla (sırasıyla  $7.9 \pm 0.39\%$  ve  $0.9 \pm 0.05\%$ ) aç bırakılan emme dönemindeki sıçanlarda (sırasıyla  $13.9 \pm 0.57\%$  ve  $1.3 \pm 0.07\%$ ) anlamlı olarak daha yüksek çıkmıştır. ( $P < 0.01$ ).

5. Bu veriler açlığın; yetişkin sıçanlar için söz konusu olduğu şekilde proliferasyonu düşürmekten ziyade emme dönemindeki sıçanların gastrik mukozasında hücre proliferasyonunu stimüle ettiğini (uyardığını) göstermiştir. (92).

1993 yılında yine Alvares ve ark. tarafından yapılan ve açlığın gastrik hücre proliferasyonu üzerindeki etkisini olgunlaşan midenin postnatal gelişimi esnasında inceleyen bir çalışma daha yapılmıştır. Metafaz indeksleri, vinkristin ile bloke edilen mitotik hücrelerin sayımından sonra elde edilmiştir. İndeksler, farklı beslenme biçimlerine (sırasıyla yalnız süt, süttten kesilmiş ve yemek yiyen, yakın zamanda süttten kesilmiş, yalnız yemekle beslenen ve tamamen süttten kesilmiş) sahip olan her yaştan (10,18,22 ve 30 günlük) 16 Wistar sıçanında günün farklı saatlerinde (10:00 ve 18:00) incelenmiştir. 10 ve 18 günlük hayvanlar için birlikte ele alınan her iki dönem için metafaz indeksleri (ortalama  $\pm$  SEM), yalnız bir dönem için (18 sa) anlamlı olarak farklı olmasa dahi aç bırakılan (sırasıyla  $2.25 \pm 0.22\%$  ve  $2.49 \pm 0.28\%$ ) hayvanlarda, kontrol grubundaki beslenen hayvanlara (sırasıyla  $1.67 \pm 0.$

09% ve  $1.84 \pm 0.05\%$ ) kıyasla anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. 22 günlük sıçanlar için indekslerde anlamlı bir fark görülmemiştir (aç olan sıçanlar =  $1.65 \pm 0.28\%$ ). 30 günlük sıçanların metafaz indeksi, aç bırakılan hayvanlara ( $0.20 \pm 0.03\%$ ) kıyasla beslenen hayvanlarda anlamlı olarak daha yüksek çıkmıştır ( $1.02 \pm 0.16\%$ ). Açlığın, yetişkin hayvanlarda gözlenen inhibitör etkisine kıyasla süt alım dönemi esnasında mide epitelindeki hücre proliferasyonunu arttırdığı sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak süttten kesilme döneminde açlık, bilinen ve beklenen etkisinin tam aksine (örneğin; 30 günlük ratlarda açlığın sebep olduğu hücre proliferasyonunun azalması) bir durum yaratır (93).

1999 yılında Çolakoğlu ve arkadaşları ise on dört adet sıçandan oluşan ilk grubu 1,2,3,5,9,11 ve 14 gün boyunca aç bırakarak Wistar cinsi ratlarda mide mukozası değişikliklerini ışık mikroskopik olarak incelemişlerdir. On altı adet sıçandan oluşan ikinci grup ise 14 günlük açlığı takiben 1,2,5,6,7,8,10 ve 12 gün boyunca doyurulmuştur. Günlük tartımlar sonucunda, açlık süresinin artışı ile birlikte deneklerin vücut ağırlıklarında dikkat çekici bir azalma olduğu görülmüştür. 1 gün ve 2 gün süreyle aç kalan deneklerin mide mukozalarında kriptaların yapısının çoğunlukla kontrol grubuna benzediği saptanmıştır. Ancak bazal kısımda homojen boyanmış bez hücrelerinin yer aldığı ve parietal hücrelerin kontrole göre daha yoğun boyandığı görülmüştür. 3 gün aç olan gruptaki deneklerin birinde bezlerde genişlemeler gözlenmiştir. 5 gün aç kalan grupta mukozada ve bağ dokuda kan damarlarının dolgunlaştığı, yüzey mukoza hücrelerinin lümene hafif çıkıntı yaptığı; 9 gün açlık sonrası bu yüzey- müköz salgılayan- hücrelerin lümene bombeleşmesinin daha belirgin seçildiği; yüzeye yakın bazı bölgelerde hücrelerde boyanmama, bozulma gözleendiği; 11. günden itibaren bazı deneklerin mukozalarında hücrelerin

dejenerasyonu, ödem, iltihabi hücre infiltrasyonu varlığı ve mukozada kanama odakları olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular açlığın 14. gününde biraz daha şiddetli gözlenmiş ve dejenerasyonun artmış olduğu, mukoza katının hemen hemen ortadan kalktığı, iltihabi hücrelerin yoğunlaştığı, lokal olarak ülseratif alanların varlığı görülmüştür. Kan damarlarında dolgunluk artmış ve PAS ile yüzey müköz hücrelerinin boyanması açlık günü ilerledikçe azalma eğilimi göstermiştir. Doyurulduktan sonraki günlerde ise mukozal düzelmelerin yaklaşık 7. günde başladığı, 8. günde yer yer kriptlerin düzensizliğinin devam ettiği, kriptlerde genişlemelerin hala dikkat çektiği ve ancak 12. günde yapısal bozuklukların düzeldiği, hemen hemen kontrol grubuna benzediği kaydedilmiştir. Bu bulgulara dayanılarak açlığa bağlı stres şartlarında mide mukozasının etkilendiği ve lokal olarak ülseratif değişikliklerin ortaya çıktığı, doyurulmaya bağlı olarak bu dejeneratif değişikliklerin büyük oranda düzeldiği sonucuna varılmıştır (28).

2000 yılında Eşrefoğlu ve ark. tarafından on adet Wistar albino farenin mide korpusundan, duodenumdan, jejunum ve ileumdan, proksimal ve distal kolondan alınan parçalar sindirim kanalı müsinlerinin histokimyasal özelliklerini belirlemek üzere incelenmiştir.

Çalışmacılar tarafından müsinlerle ilgili olarak literatürlerden derlenmiş bilgiler verilmiştir. Müsinlerin, bazı epitel ve bağ dokusu hücrelerinin sekresyon ürünü olduğu; bunların muko- substans, proteoglikan veya glikoprotein olarak da adlandırıldığı; kabaca müsinin, değişik miktarlarda protein ve lipid ile kovalent olarak bağlanmış heksozamin şekerinden oluştuğu; başlıca nötral ve asit olmak üzere iki tip müsin tanımlanmış olmakla beraber, bunların karışımından oluşan mikst müsinlerin ve farklı özellikte alt gruplarında bulunduğu; reaktif asit radikaller

içermeyen müsinlerin nötral müsinler olduğu; asit müsinlerin ise kabaca sülfatlı ve slfatsız (karboksilli veya sialomsinler) olmak üzere iki gruba ayrıldığı; histokimyasal olarak msinleri saptamak ve asit müsinlerle nötral msinleri birbirinden ayırmak için kullanılan en yararlı histolojik tekniklerden birinin alcian blue-PAS tekniği olduğu; aldehyde fuchsin-alcian blue tekniğinin ise sülfatlı müsinler ile sialo-msinleri histokimyasal olarak ayırmak için kullanılan etkin bir metod olduğu belirtilmiştir.

Ayrıca gastrointestinal sistemde mukus üreten hücrelerin midenin mukozal yüzeyinde görüldükleri; ince barsaklardan kalın barsaklara gidildikçe artan miktarlarda prizmatik epitel hücreleri arasında yer aldıkları; müsinin, hücreden salgılandıktan sonra mukozayı lüminal içeriğin yol açtığı fiziksel hasar ve bakteriyel invazyon gibi dış etkenlere karşı koruyan bir bariyer olarak hizmet ettiği ve bunun yanısıra, epitel hücrelerine bağlanıp bu hücreler tarafından alınacak olan maddeleri seleksiyona tabii tuttuğu, epitelial hidrasyonu regüle ettiği ve antikor ve antitoksin etkisi oluşturmak üzere sekretuar İmmunglobulin A ile etkileştiği; çeşitli patolojik ve deneysel koşullarda gastrointestinal sistemden salgılanan müsinlerin kimyasal yapısının değiştiğini; barsak epitel hücreleri, hücre farklılaşması ve karsinogenez sırasında farklı tür glikoproteinler salgılandığını; son yıllarda duodenum, jejunum, ileum ve kalın barsağı ilgilendiren premalign ve malign lezyonlarda msin histokimyasının değiştiğinin saptandığını ve bu nedenle msin histokimyasının gnmzde gastrointestinal sistemin premalign ve malign lezyonlarının erken teşhisinde kullanılan kolay ve etkili bir metot olduğunu bildirerek kayda geçirmişlerdir.

Çalışmacılar deney sonunda genel olarak, midede nötral müsünlerin baskın olmakla beraber, yüzeyde az miktarda mikst ve sialomüsünlerin gözleendiğini; duodenumun goblet hücrelerinde nötral, asit ve mikst müsünler izlenirken; jejenum ve ileumun goblet hücrelerinde nötral ve mikst müsünlerin izlendiğini; duodenum, jejenum ve ileumun goblet hücrelerinde değişik oranlarda sülfatlı ve sialomüsünler bulunduğunu; Brunner bezlerinin başlıca nötral müsün içermekle beraber kanalların lümeninde az miktarda sialomüsün gözleendiğini; proksimal ve distal kolonda kriptaların üst bölümlerinde nötral ve mikst müsünler baskınken, alt bölümlerinde sadece asit müsünlerin bulunduğunu ve kolonun kriptalarının üst bölümlerinde sülfatlı, alt bölümlerinde ise sialomüsünlerin baskın olduğunu tespit etmişlerdir (94).

2000 yılında Kinoshita ve ark. tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise diabetik sıçanlarda açlık yoluyla gastrik mukoza bütünlüğünün hasarlanmasının indüklenmesi incelenmiştir. 18 saatlik açlığın hem db/db sıçanlarda ve hemde db/m sıçanlarda glukoz seviyelerini düşürmesine rağmen yalnızca db/db sıçanlarda hemorajik gastrik lezyonlara ve gastrik yapışkan müküsün azalmasına yol açtığı gözlenmiştir. Açlıktan sonra, etanol uygulaması ile indüklenen şiddetli gastrik hasar ise db/db sıçanlarda db/m sıçanlardan çok çok daha fazla olarak saptanmıştır. Örneğin, hemorajik lezyonlar gibi açlıkla indüklenmiş gastrik hasarın üzerine müsünün kaybının, (diabetin süresi uzadıkça zaten var olan )etanolle karşı duyarlılığı artırarak durumun daha da kötüleşmesine yol açtığı gözlemlenmiştir. Açlık boyunca içilen suyla alınan glukozun, karşıt bir etki yaratarak kan glukozunu düşürdüğü ve bu yolla (db/db sıçanlarda) hem mukozal lezyon oluşumunu engellediği hemde müsün miktarının azalmasını önlediği belirlenmiştir. Bu bulgulara dayanarak çalışmacılar, açlıkla uyarılmış glukoz defisitlerinin yalnızca mukozal lezyonlara

neden olmakla kalmayıp db/db sıçanlardaki mukus glikoprotein kaybından dolayı zararlı ajanlara karşı mukozal duyarlılığı da artırdığını ve uzamış diabetin açlıkla uyarılmış gastrik mukozal bozulmayı şiddetlendirebileceğini belirtmişlerdir (95).

2000 yılında Igarashi ve ark. larınca yapılan bir diğer benzer çalışmada ise Streptozotosin (STZ) ile diabet indüklenmiş ratlarda, 4 hafta boyunca kan glukoz seviyeleri 350 mg/dl ve üzerinde tutularak gastrik mukus glikoproteinlerinin yanıtı çalışılmıştır. Normal ratlarda açlığın ne gastrik mûsin içeriğini nede gastrik mukozal hasar oluşumunu etkilemediği gözlenirken tam tezat olarak STZ-diabetik ratlarda açlığın, mukozal lezyonların formasyonundan önce total gastrik mukus glikoprotein miktarının azalmasına yol açtığı saptanmıştır. 9 saatlik açlığı takiben, diabetik ratların % 70'inde gastrik hasar geliştiği, belirgin biçimde mukus glikoprotein miktarının azaldığı ve ayrıca epitelde mevcut nötral ve asidik mûsin kitlesinin küçüldüğü kaydedilmiştir. Araştırmacılar, tüm bu bulgular birlikte ele alındığında, STZ diabetik ratlarda, açlığın gastrik mukus glikoprotein kaybına yol açtığını ve bu kaybında gastrik mukozal lezyonların oluşumunda rol oynayan patolojik mekanizmalarla ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir (96).

2001 yılında Fukuyama ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise ratlarda, apoptozis oluşumu yönünden iskemi-reperfüzyon ve açlık koşullarında kıyaslamalı olarak mide mukozası ve ince barsak mukozası incelenmiştir. Anestezi ile çöliak arter ve süperior mezenterik arter oklüze edilmiş ve iskemi-reperfüzyon koşulları sağlanmıştır. İlave olarak mukozal apoptozis üzerine açlığın etkilerini değerlendirebilmek için ratlar 48 saat aç bırakılmıştır. Fragmante DNA ile total DNA oranlaması, elektroforez ve immünohistokimyasal inceleme yöntemleri kullanılarak açlık ve iskemi-reperfüzyon sonrası değerlendirme yapılmıştır. İskemi-

reperfüzyon sonrasında, intestinal mukozada dramatik bir şekilde apoptozis artmasına rağmen, mide dokusunda önemli sayılabilecek bir apoptozis artışı saptanmamıştır. 48 saatlik açlıktan sonra ise ince barsaklarda apoptozisin indüklendiği, mide dokusunda ise bir değişikliğin olmadığı gözlenmiştir. Bu sonuçların, rat gastrik mukozasının iskemi-reperfüzyon ve açlıkla uyarılan apoptozise karşı ince barsak mukozası kadar duyarlı olmadığına işaret ettiği belirtilmiştir (97).

2003 yılında Svestka ve ark. laboratuvar ratları üzerinde açlığın gastrik mukoza kalınlığına etkilerini çalışmışlardır. 8 ve 24 saatlik açlık periyotlarında gastrik mukusun kalınlığında meydana gelen değişiklikleri ölçmeyi amaçlamışlardır. Grup I olarak, 8 saat açlıktan sonra 279 laboratuvar ratında, Grup II olarak ise 24 saat açlıktan sonra 70 laboratuvar ratında mikroelektrodlarla mukoza kalınlığı ölçülmüştür. Her iki homojenite yönünden istatistiksel analizi yapıldıktan sonra gastrik mukus kalınlığının 24 saat açlıktan sonra azaldığı tespit edilmiştir. Değerlendirmede mukus tabakasındaki % 11'lik değişim önemli istatistiksel farklılık olarak kabul edilmiştir. Meydana gelen bu değişikliğin anlamlılığı  $P < 0.01$  olarak saptanmıştır. Araştırmacılar tarafından bu sonuç spesifik koşullar altında bu durumun gastrik mukoza hasarını kolaylaştıracağı yönünde ifade edilmiştir (98).

2003 yılında Ogawa ve ark. tarafından açlıkta gastrik parietal hücrelerde dev boyutlu mitokondri formasyonu konulu bir ilk çalışma yapılmıştır. Mitokondrinin, bazen metabolik yaralanmaya karşılık olarak boyut açısından artış gösterdiği rapor edilmiştir. Çeşitli çalışmalar, çeşitli hastalıklardan muzdarip olan hastalarda ve metabolik yaralanmaları olan hayvanlarda dev mitokondrilerin görüldüğünü bildirmiştir. Ancak fizyolojik şartlar altında normal hücrelerde gelişen dev

mitokondriler üzerine ise az sayıda çalışma mevcut olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada, normal gastrik parietal hücrelerdeki dev mitokondriler ele alınmıştır. Serbest şekilde beslenen, aç bırakılan veya önce bırakılıp ardından histamin enjekte edilen guinea domuzlarının mideleri elektron mikroskopik olarak incelenmiştir. Ana ekseninin çapı >2 mikron olan dev mitokondriler, 60-72 saat süreyle aç bırakılan hayvanların gastrik bezlerinde dinlenme tipi (resting-type) parietal hücrelerde görülürken, serbest şekilde beslenen hayvanların asit-salgılayan tipteki parietal hücrelerinin, dev mitokondriler içermediği saptanmıştır. Dev mitokondriler, özellikle kristalarında olağan dışı yapılar göstermişlerdir: çok sıkı/çok yoğun (closely packed), tübüler ve konsentrik krista ve ayrıca matrislerinde amorf ve pleomorfik inklüzyon cisimler içerdikleri gözlemlenmiştir. Araştırmacılar çeşitli normal boyutlu mitokondrilerin füzyonunu ortaya koyarak dev mitokondrilerin çeşitli segmentlerden oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Histamin enjeksiyonu, dinlenme tipi parietal hücrelerin frekansındaki azalmayla uyumlu olarak dev mitokondrinin frekansında da azalmaya yol açmıştır. Bu çalışmanın, fizyolojik ya da fizyolojik benzeri koşullar altında gastrik parietal hücrelerdeki dev mitokondriler üzerine ilk rapor olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar sonuç olarak, gastrik parietal hücrelerin, asit-salgılayan tipten dinlenme-tipine kadar uzanan yelpazede membran sistemindeki hücrelerin morfolojik değişimine eşlik eden fizyolojik koşullarda mitokondriyal füzyon ve füzyonun incelenmesi için iyi bir model olabileceğini belirtmişlerdir (99).

2004 yılında da Uçar ve ark. tarafından kısa ve uzun süreli açlığın sıçan mide mukozasında oluşturduğu histolojik ve histokimyasal değişiklikler incelenmiştir. Deneyde 35 adet Wistar albino cinsi dişi sıçan kullanılmış olup, deney boyunca

deneklere sadece su verilmiştir. Doyurulmayı takip eden 1,6,12,36,48,96 ve 168. saatlerde, mideden parçalar alınmıştır.

Hematoksilen eozin boyama yöntemi ile boyanan preparatlarda son doyurulmayı takip eden 1. saatte mide mukozasının normal histolojik görünümde olduğu; son doyurulmayı takip eden 6. saatin sonunda lamina propriyanın derinlerinde bez lümeninde genişleme izlendiği; 12. saatin sonunda yüzey epitelinde ve bez epitelinde yassılaşıma ve dejenerasyon izlendiği; lamina propria ve submukozada lenfosit ve eozinofil infiltrasyonu gözlemlendiği; 36. saatin sonunda bu bulgulara ilaveten yüzey epitelinde yer yer parçalanma ve bezlerde bol mitoz figürü ve bezler arasında lamina propriada eozinofil infiltrasyonu gözlemlendiği; bez epitelinde heterokromatik veya piknotik nükleuslu, asidofil sitoplazmalı çok sayıda hücre izlendiği; 2. günün sonunda 36. saatte izlenen histolojik değişikliklerin ve yüzey epitelinde parçalanmanın belirginleştiği; bez epitelinde piknotik nükleuslu, şeffaf sitoplazmalı hücreler izlendiği belirtilmiştir.

Yine 4. günün sonunda yukarıda zikredilen bulgulara ilaveten bez epitelinde çok miktarda heterokromatik nükleuslu, asidofil sitoplazmalı hücre izlendiği; bu dönemde bezlerin boyun bölümünde şeffaf sitoplazmalı hücrelerin yoğun olduğu bir alan görüldüğü; 7. günün sonunda histolojik bulguların iyice belirginleştiği; yüzey epitelinde yassılaşıma, parçalanma, dökülme izlendiği ve yüzey epiteli ile bez epitelinin hücrelerinin yassılaşıması sonucunda yüzeyde çok sıralı yassı hücrelerden oluşan tabakalar oluştuğu; bez epitelinde piknotik nükleuslu, koyu asidofil sitoplazmalı hücre sayısının arttığı; PAS-Asiyan mavisi boyama yöntemi ile 1 saatlik açlık sonrasında mide epitelinin yüzeyinde yer alan, menekşe renkte boyanan

müsin tabakasının 7. günün sonunda belirgin olarak azalmış olduğu gözlenmiştir (100).

2004 yılında Ogawa ve ark. ları tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise 60-72 saatlik açlık koşullarında Guinea domuzlarının gastrik parietal hücrelerinde normal ölçülü ve reversible olarak dev boyutlara ulaşabilen mitokondriler çalışılmıştır. Zaman zaman mitokondrilerin büyüklüklerinin metabolik bir hasara yanıt olarak arttığı bilindiği belirtilerek, sayısız çalışmada metabolik hasara uğramış hayvanlarda ve değişik hastalıklar ile hastalarda dev mitokondrilerin rapor edildiği bildirilmiştir. Ve ayrıca bir kaç çalışmada fizyolojik koşullar altındaki normal hücrelerde de dev mitokondrilerin rapor edildiği vurgulanmıştır. Bu çalışmada ise guinea domuzlarının gastrik parietal hücrelerindeki normal boyutlu ve reversible dev formasyonlu mitokondrilerinin çalışıldığı ve rapor edildiği açıklanmıştır. Çalışmada, serbestçe doyurulmuş (kontrol grubu), 60-72 saat boyunca aç kalmış (açlık grubu) ve aç kalmış sonra histamin enjekte edilmiş (histamin grubu) guinea domuzlarında, parietal hücrelerin ultra ince kesitleri üzerinde mitokondrial sahaların dağılım sıklığının morfometrik olarak analiz edildiği belirtilmiştir. Söz konusu bu dağılımın hem kontrol ve açlık grubu arasında hem de açlık ve histamin grubu arasında önemli derecede farklı olduğu ancak açlık grubu histogramının, histamin ve kontrol gruplarınınkilerle kıyaslandığında önemli miktarda geniş mitokondrilere doğru kaydığını belirtmişlerdir. Öyleki  $2 \mu\text{m}^2$  boyutundaki mitokondri sıklığının, açlık grubunda kontrol ve histamin grubundan önemli derecede daha yüksek bulunduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca bu makalenin açlık koşulları altında gastrik parietal hücrelerde dev mitokondrilerin varlığını ve histamin uygulandıktan sonra normal ölçülere dönecek şekilde mitokondrial iyileşmeyi

demonstre eden ilk rapor olduğunu beyan etmişlerdir. Asit sekresyonunun durumuna göre parietal hücrelerin membranlarında meydana gelen değişikliklerden dolayı ve bu çalışmadan elde edilen mevcut bilgiye dayanarak, gastrik parietal hücrelerdeki değişikliklere yönelik yeni bir bakış açısı kazanılmış olabileceği öne sürülmüştür (101).

2005 yılında Sönmez ve ark. tarafından yapılan ayrıntılı tez ve makale çalışmalarında ise ratlarda 7 günlük açlık ve sonrasında doyurulmayı takiben gastrik mukozada oluşan değişiklikler ışık mikroskopik ve immünohistokimyasal olarak incelenmiştir.

Kontrol grubuna ait olan mide dokusu kesitlerinde Tunika Mukoza, Tunika Submukoza, Tunika Muskularis ve Tunika Serozanın normal olarak gözleendiği; mukozanın lamina propria kısmında bulunan pariyetal hücreler ve diğer bez hücrelerinin normal yapıda izlendiği; PAS boyamasında yüzey epitel ve boyun müköz hücrelerinde pozitiflik saptandığı bildirilmiştir.

Yedi gün açlık sonrasında mide dokularından alınan kesitlerin apikal mukozasında yer yer bozulmalar ve dökülmeler ayırt edildiği; bazı gastrik bezlerin lümenlerinde genişlemeler ve köpüksü görünüm izlendiği; piknotik çekirdekli pariyetal hücreler, apoptotik görünümlü hücreler ve pariyetal hücrelerin eozinofilik boyanmasında kontrol grubuna göre azalma izlendiği; gastrik bezlerin tabanında lenfosit hücrelerinde yoğunlaşma ve submukozada oldukça fazla sayıda eozinofilik boyanan hücreler gözleendiği; yüzey epitel ve boyun müköz hücrelerinin PAS pozitif boyandığı saptanmıştır.

Yedi günlük açlığı takiben doyurulmanın birinci gününde apikal mukozadaki yapısal bozuklukların devam etmekte olduğu; bu grupta mukozadaki damarlarda

konjesyon ve dilatasyon tespit edildiği; gastrik bezlerin lümenindeki genişlemelerin açlık grubuna göre daha ileri düzeyde olduğu ve lümendeki köpüksü görünümün kaybolduğu; pariyetal hücrelerin açlık grubuna göre oldukça eozinofilik boyandığı; bazı hücrelerdeki apoptozisin, submukozadaki ve bezlerin bazal bölgesindeki eozinofilik boyanan hücre artışının devam etmekte olduğu ve PAS pozitifliğin açlık grubuna göre daha yoğun ve daha geniş bir alanda olduğu tespit edilmiştir.

Doyurulmanın üçüncü gününde ise apikal mukozadaki yapısal bozuklukların büyük oranda düzeldiği; gastrik bezlerdeki genişleme ve pariyetal hücrenin eozinofilik boyanmasının bu grupta da gözleendiği; submukoza ve lamina propriadaki eozinofilik boyanan hücrelerin belirginliklerini sürdürmekte olduğu; bu grupta PAS pozitiflik açlık grubuna göre daha yoğun düzeyde gözlenirken doyurulmanın birinci gününe oranla yoğunluğunda azalma olduğu belirtilmiştir (7,102).

Doyurulmanın beşinci gününde apikal mukozadaki yapısal bozuklukların düzelmiş olduğu; gastrik bezlerdeki genişlemenin devam etmekte olduğu; submukoza ve bezlerin bazal kısmındaki eozinofilik hücrelerin bu grupta da gözleendiği; pariyetal hücrelerdeki yoğun eozinofilik boyanmanın devam ettiği; mukozadaki damarlarda küçük çaplı konjesyon ve dilatasyon saptandığı ve PAS pozitifliğinin doyurulmanın üçüncü günüyle aynı olarak tespit edildiği vurgulanmıştır.

Doyurulmanın yedinci gününde apikal mukozanın düzenli olarak ayırt edildiği; gastrik bezlerdeki genişlemelerde ve PAS boyanmasında doyurulmanın beşinci gününe göre herhangi bir değişiklik saptanmadığı belirtilmiştir.

2007 yılında Koç ve ark. tarafından Mus Musculus familyasından 18 sıçan kullanılarak açlık ve susuzluk stres koşulları altında mide dokusunda meydana gelen

değişiklikler ışık mikroskobu ile çalışılmıştır. Deneklerin mide dokusu açlık ve susuzluk periyodunu takiben 24. saat, 2., 3., 4., 5., günlerde çıkarılarak incelenmiştir.

Doyurulmayı takip eden ilk 24 saatin sonunda yüzey epitelinde ve bez epitelinde bir miktar düzleşme ve dejenerasyon gözleendiği; yine incelenen mide dokusu bölümünde kan hücrelerinde bir miktar artış olduğu; muskular tabakanın ise normal histolojik görünümde olduğu saptanmıştır.

48 saatin sonunda bu değişikliklerin daha belirgin olduğu ve ilave olarak yüzey epitelinde kısmi destrüksiyon gözleendiği; parietal hücre morfolojisinde de dejenerasyon olduğu bildirilmiştir.

3. günün sonunda deneklerin gastrik bezlerinde genişlemeler görüldüğü; mukus hücrelerinin bütünlüğünün bozulduğu ve parietal hücrelerde büzüşme meydana geldiği; kan damarlarında dilatasyonlar olduğu rapor edilmiştir.

5. günün sonunda ise muskular yapıda dejenerasyon oluştuğu; parietal hücrelerin yapısal harabiyetten dolayı katlandığı ve parietal hücre sayısında bir artış olduğu tespit edilmiştir.

Kontrol grubu deneklerinin gastrik mukozalarının normal histolojik görünümde olduğu; yüzey epitelinin altında tübüler bezlerin gözleendiği ve parietal hücrelerinde bez epiteli içinde yer aldığı bildirilmiştir (103).

### **3.5. Nesfatin**

#### **3.5.1. Keşif ve adlandırma**

Nesfatin-1 2006 yılında Oh-I ve Shimizu tarafından keşfedilmiştir. NEFA şifrelenmemiş doygunluk ve yağ etkileyen/etkileyici protein-1 (Nesfatin-1 - NEFA encoded satiety and fat-influencing protein 1) olarak adlandırması/kısaltması yapılmıştır. Nükleolar bağlanan-bağlayıcı (DNA bağlayan)/E helix-F helix

yanı/asidik amino asit zengin bölge (NEFA – Nucleobindin 2/DNA binding/EF-hand/acidic amino acid rich region) olarak adlandırılan molekül ise asıl öncül yapıyı temsil etmektedir (104-106). İlk olarak bu araştırmacılar tarafından nesfatin-1'in sıçanlarda iştahı kontrol eden hipotalamik çekirdeklerde eksprese edildiği gösterilmiştir. Yapılan çalışmada nükleolar bağlanan- bağlayıcı;E heliks-F heliks yanı kalsiyum bağlayıcı protein (NUCB2-Nucleobindin-2; EF-hand calcium binding protein)'nin icv enjeksiyonu, beslenmeyi azaltmıştır. Nesfatin-1'in icv enjeksiyonu doza bağlı olarak gıda alımını azaltırken nesfatin-1'i nötralize eden bir antikorun enjeksiyonu da iştahı stimüle etmiştir (104).

Aynı çalışmada nesfatin-1'in kronik icv enjeksiyonu vücut ağırlığını azaltırken diğer taraftan sıçanlar, NUCB2'yi kodlayan gene karşı antisens morfolino oligonükleotidin kronik icv enjeksiyonu sonrasında kilo almışlardır (104,107). Aksine  $\alpha$ -MSH'in santral enjeksiyonu ise paraventriküler çekirdekteki NUCB2 geni ekspresyonunu artırmış ve nesfatin-1 yoluyla sağlanan tokluk hissi MCR  $\frac{3}{4}$  reseptörünün bir antagonisti ile yok edilmiştir. Bu bulgulara dayanarak araştırmacılar nesfatin-1'i hipotalamustaki melanokortin sinyalizasyonu ile ilişkili bir tokluk molekülü olarak tanımlamışlardır (104).

Nesfatin-1 396 amino asitlik öncül protein NUCB2 'den türemiş 82 amino asitlik bir peptittir. Daha büyük proteinden (NUCB2) ayrılan nesfatin-1 peptidinin saptanması çok zor olduğu ve serebrospinal sıvıdan başka örneklerde yayınlanmadığı için literatürde sıklıkla nesfatin-1/NUCB2 terimi kullanılmaktadır (108). Literatürde nesfatin-1 ve NUCB2 terimlerinin sıklıkla birbirinin yerine kullanıldığına da rastlanılmaktadır. Nomenklatür ve bilimsel etimolojisi yönünden her iki isimde temel olarak genetik çalışmalara dayanmaktadır. Henüz keşfedilen ve

isimlendirilmek istenen bir protein, çoğunlukla yapısal analizi, DNA ile ilişkileri (translasyonel ve transkripsiyonel) ve özgün çalışma nitelikleri gözönüne alınarak isimlendirilmektedir. Örn; NEFA bir protein familyasını temsil etmekte ve özgün nitelik olarak E helix-F helix DNA kısmınca (HLH; Helix-Loop-Helix – sarmal – “U” şekilli bağlayıcı kısım-sarmal) kodlanmış iki translasyonel parça içermektedir. NUCB2 bu protein familyasına bağlı olduğundan “EF-yanı kalsiyum bağlayıcı protein” olarak da adlandırılmakta sakınca görülmemektedir. Aynı zamanda bu tanımlamaya uyulduğunda nesfatin-1 de NEFA’dan türediğinden neredeyse NUCB2 terimi ile NEFA ve nesfatin-1 terimleri özdeş olarak kullanılmaktadır. Adlandırmada kullanılan yöntem Carl Von Linnaeus (Linnè)’nin taksonomik terminolojisine uygundur. Aynı zamanda biyolojik kökenli bilim dallarının gelişimine büyük ivme sağlamış olan ancak hala tartışmalı yönleri bulunan evrim teorisinin mentalitesi de bu adlandırma yapılırken kendisini çağrıştırmaktadır (105-111).

### **3.5.2.Nesfatin-1’in yapısı**

Varsayımsal sinyal peptidi (24 aminoasitten ibaret) dizilimini izleyen 396 aminoasitlik bir dizge içeren NUCB2/nesfatin (esas olarak 420 aminoasitten oluşmuş temel protein NEFA’dır, NUCB2 ise 396 aminoasitlik ara türev bir dizge, nesfatin-1 ise NUCB2’nin n-terminal ucundan konvertaz etkinliği ile ayrılmış 82 aa (aminoasit)’lik asıl etkin ve işlevsel protein/peptid kısmıdır) proteini nöronal hücrelerin nükleusunda değil, sitoplazmada lokalizedir ve prohormon konvertazlarıyla (PC – Prohormon Convertase) eş zamanlı olarak ekspresyonu gerçekleştirilmektedir. NUCB2/nesfatin-1 47. 0 kDa molekül kütlesine sahiptir ve şu üç parçacığı üretmek için, muhtemelen PC’ler tarafından, işlenmektedir: 9,6

kDa'lık nesfatin-1 (aa 1-82), 27.0 kDa'lık nesfatin-2 (aa 85-163) ve nesfatin-3 (aa 166-396). Nesfatin-2 ve nesfatin-3'ün ise henüz fizyolojik bir etkinliği saptanmamış olup, anoreksijenik etkisinde gözlenmemiştir (112,113) (Şekil 6).

Ayrıca Nesfatin-1'in yapısına bakıldığında ise toplam olarak üç parçadan oluşmuştur. Karboksi-terminal uçdan başlayarak, N-terminal uca doğru; C29 segmenti (53.-82. aa arası), M30 segmenti (23.-53. aa arası ), N23 segmenti (1. -23. aa arası) olarak adlandırılan toplam üç peptid sekansına sahiptir (114). Nesfatin-1'in midsegmenti, muhtemelen periferel stimülasyon sonrası leptinden bağımsız bir mekanizma aracılığıyla NTS'deki POMC ve CART nöronlarını aktive ederek anoreksiyaya neden olmaktadır (115) ) (Şekil 6).

İnsanlarda nesfatin-1; kromozom 11'e eşlenmiştir; sıçanlarda ve farelerde ise sırasıyla kromozom 1 ve 7'ye eşlenmiştir (9). NUCB2/nesfatin 47. 0 kDa moleköl ağırlığına sahiptir. Nesfatin-1 ise 9.8 (veya 9.6) kDa moleköl ağırlığına sahip olup, 23. 5 dakikalık bir yarı ömre sahiptir (113,116). Expresyonu bir çok organ ve dokuda ubikuitözdür (117,118).

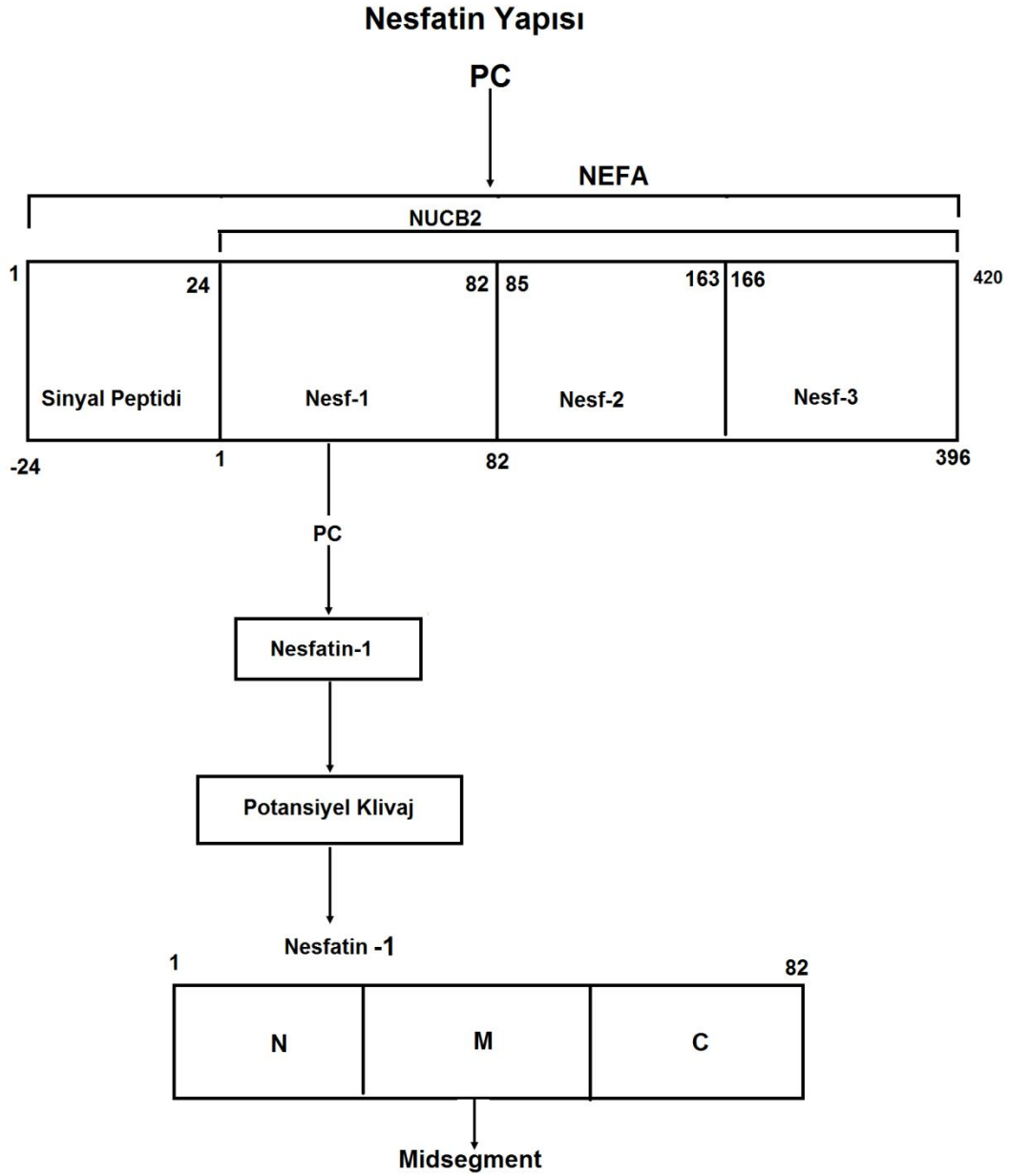
İnsan NUCB2 geni 14 ekson ve 13 intron içermektedir. Translasyonel başlama bölgesi ve varsayımsal sinyal dizgesi 3. eksonda yer almaktadır. Nesfatin-1 için kodlama dizgesi 3. ve 5. eksonlar arasındaki bölgede bulunmaktadır ve nesfatin-2/3 için kodlama dizgesi 5. ve 14. eksonlar arasındaki bölgede bulunmaktadır. 3' translasyon olmayan bölge 14. eksonda yer almaktadır (113).

(Troglitazon, birçok hedef gende retinoid X reseptörüyle bir heterodimer oluşturan ve PPAR $\gamma$  cevap elementi (PRE - PPAR $\gamma$  (PGC-1 $\alpha$  peroksizom çoğaltıcı- $\gamma$  reseptör aktive edici koaktivatör 1 –alfa) response element ) olarak gösterilen

promotör bölgeyi bağlayan PPAR $\gamma$ 'nin tiazolidindiondan türemiş bir ligandır ) (119).

NUCB2 gen ekspresyonu troglitazonla aktive edilebildiği için transkripsiyonel başlama bölgesinden -5889 bp kapsayan NUCB2 geni 5'-promotör bölgesi hazırlanmış ancak promotör bölgesinde PRE'ye karşılık gelen hiçbir ortak sıra saptanamamıştır ve troglitazonun eklenmesinin HTB185 hücrelerinde bu promotörü aktive edemediği gösterilmiştir. İlginç bir şekilde, troglitazon uygulaması ekstrasellüler sinyal ilişkili kinaz /ERK1/2 yolunu aktive ederek 3' translasyon olmayan bölgedeki adenilat/uridilat zengin elementler (AU zengin elementler - Adenylate/Uridylate-rich elements) yoluyla NUCB2 mRNA'yı stabilize etmekte ve arttırmaktadır; bu da, bir PPAR $\gamma$  ligandının genomik olmayan fonksiyonuna işaret etmektedir (119).

Sellüler düzeyde ise peptid hormonlarının çoğu klasik nörotransmitterler gibi etki gösterirken, nesfatin-1 akson terminallerinde gözlenmemiştir. Nöronlarda NUCB2/nesfatin-1, soma ve primer dendritlerde bulunur, sinir liflerinde bulunmaz (120). Ancak nesfatin-1; sekretuar veziküllerde de gözlenmiştir ve bu durumda bir çok araştırmacının; nesfatin-1'in dendritik olarak otokrin ya da parakrin olarak lokal nöronların aktivitesini düzenlemek üzere salındığı şeklinde yorum yapmasına yol açmıştır (9).



**Şekil 6.** Nesfatin-1'in öncülleri NEFA ve NUCB2'nin ve nesfatin-1'den türeyen N-terminal (N), orta (M) ve C-terminal (C) segmentlerin yapısı (113,116)

Aminoasidin insan NUCB2'si veya nesfatin-1'i ile homolojisinin oranı ratlarda %87.9, sıçanlarda (mouse) ise % 87.4'dür. PC: Proconvertaz etkinliği.

### 3.5.3. Nesfatin-1 yerleşimi

#### 3.5.3.1. Merkezi yerleşim

Rat hipotalamusunun immünohistokimyasal analizi nesfatin-1'in asıl olarak, tümü beslenme alışkanlığını kontrol ettiği bilinen PVN, SON, ARC ve periventriküler alan ile lateral hipotalamik alan (LHA)'ın / perifornikal alan (beyin

sapı) nöronlarında yer aldığını göstermiştir. NUCB2 mRNA için in situ hibridizasyon analizi ve hipotalamik nükleuslarda immünohistokimyasal analizle yapılan gözlemler aynı yerleşimi ortaya koymuştur. Nesfatin-1,PVN nöronlarındaki salgılayıcı granüllerde yer almaktadır ve oksitosin, vasopressin, kortikotropin salgılayan hormon (CRF) ve Tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) gibi çeşitli anoreksijenik moleküllerle kolokalizdir (113,121).

Yine erken dönem immünohistokimyasal çalışmalarda yapılan boyamalar ile; piriform ve insüler korteks, endopiriform çekirdeği, lateral septum, stria terminalisin yatak çekirdeği, santral amigdaloid çekirdeği, medial preoptik alan, dorsal rafe çekirdeği, ambiguus çekirdeği ve gigantoselüler retiküler çekirdek ile birlikte serebellumun Purkinje-hücrelerinin içerisinde NUCB2/nesfatin-1'in lokalizasyonu ortaya çıkarılmıştır. Spinal kordda nesfatin-1 immünoreaktivitesi ise, hem sempatik ve parasempatik pregangliyonik nöronal gruplarda hem de alt torasikten sakral segmentlere kadar olan dorsal alanda bulunmuştur (122).

İlaveten, hem NUCB2 mRNA hem de nesfatin-benzeri immünoreaktivite göstermiştir ki nesfatin bu en fazla konsantr olduğu ve esas olarak kabul edilen hipotalamik yerleşiminin dışında talamik parafasiküler çekirdekte, ventrolateral medullada, Edinger-Westphal çekirdeğinde, lokus serouleus, ventral rafe sistemi, soliter kanal çekirdeği ile spinal kordun pregangliyonik sempatik intermediolateral hücre kolonunda, vagusun dorsal motor nükleusunda, serebellumun purkinje hücrelerinde, hipofiz bezinin anteriorunda ve ara loblarda da gözlemlenmiştir. Bunlardan başka amigdaloid nükleus ve nükleus akkumbenste de yerleşimi mevcuttur.

Beyin sahaları olarak bakıldığında ise Piriform, insüler, singülat ve somatomotor kortekslerini içeren kortikal alanlarda, amigdaloid çekirdekler, hippocampus ve septumu içeren limbik sistemde, bazal ganglia'da, stria terminalis'in yatak çekirdeğinde ve ara dorsomedyal hipotalamus olarak adlandırdığımız daha önce tanımlanmamış bir bölgede de NUCB2/nesfatin-1 immünreaktivitesi ortaya koyulmuştur.

Ayrıca nesfatinerjik nöronlar, neredeyse NUCB2'yi eksprese eden tüm beyin bölgelerinde kokain ve amfetamin ile regüle edilen transkript (CART) nöronları ile traktus solitarius çekirdeğinde ise tirozin hidroksilaz ile geniş ölçüde kolokalizedir. Ayrıca arkuat nükleusda POMC nöronları ile de kolokalizasyonu mevcuttur. Bu veriler; bu proteinin metabolik etkilerinin yalnızca beslenme davranışları ile sınırlı olmayıp aynı zamanda enerji harcanması üzerindeki endokrin ve otonom denetimi de kapsayabileceğini akla getirmekte ve daha önceden bilinenden farklı olarak NUCB2/nesfatin-1'in daha geniş bir dağılımınının olabileceğini düşündürmektedir.

İlave olarak nesfatin-benzeri immünoreaktivitenin subselüler dağılımı, bu proteinin konvansiyonel olarak sekrete edilen bir nöromodülatör olarak işlem göremeyeceğini göstermektedir (104,113,121-129).

Aynı zamanda nesfatin-1 amfibilerde de çalışılmıştır. Bu çalışma immünohistokimya ve Western blot analizini kullanarak Microhyla ornata kurbağasının beyinde NUCB2/nesfatin-1 distribüsyonunu değerlendirmektedir. NUCB2/nesfatin-1 benzeri immünoreaktivite, olfaktor reseptör nöronlarında, Bowman bezlerinde ve mediyal divertikülümün olfaktor epitelinde bulunmuştur. Beyinde; anterior preoptik alan, magnosellüler nükleus, suprakiazmatik nükleus,

ventromedial talamik nükleus, posterior talamik nükleus, ve nükleus infundibularis ventralis ve dorsalis ve serebellar nükleusta immünoreaktif perikarya görülmüştür. NUCB2/nesfatin-1 benzeri immünoreaktivite ayrıca kurbağanın pineal ve hipofiz bezinde saptanmıştır.  nemli beyin bölgelerinde NUCB2/nesfatin-1'in varlığı, bu proteinin kurbağalarda fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde rolü olması ihtimalini akla getirmektedir (130).

### **3.5.3.2. Periferik yerleşim**

Başlangıçta nesfatin-1 hipotalamusta bir tokluk faktörü olarak tanımlanmıştır ancak yakın zamanda yapılan çalışmalar; daha geniş etki halkalarının ortaya çıkmasına neden olmuş ve bu peptidin kan-beyin bariyerini geçebiliyor olduğunun belirlenmesi hem nesfatin-1'in plazmadaki varlığının kaynağının neresi olduğu sorularının sorulmasına yol açmış hemde nesfatin-1/NUCB2'nin bir barsak-beyin peptidi olduğu konusunda kanıtlar sunmuştur. Oreksijenik bir hormon olan ghrelini üreten gastrik X/A benzeri (gastric X/A like ) endokrin hücrelerde aynı zamanda artmış nesfatin-1/NUCB2'inde belirlenmiş olması, gastrik mukozanın nesfatin-1/NUCB2'nin predominant kaynaklarından biri olabileceğini akla getirmektedir (108,131).

Mide mukozasının orta segmentindeki nesfatin-1 ekspresyonunun, X/A benzeri hücrelerdeki oreksijenik hormon ghrelle ortak lokalizasyona sahip olduğu gösterilmiştir. Aynı şekilde, gastrik bezlerin tabanında az miktarda hücrenin de birlikte nesfatin-1 ve somatostatin ekspresyonu yaptıkları gözlenmiştir. Ve doğal olarak bu geniş distrib syona uygun biçimde, nesfatin-1'in sayısız etkisi tanımlanmıştır (116). Ayrıca NUCB2/nesfatin-1 ekspresyonu oreksijenik ghrelle

içerenlerden farklı olarak mide mukozasındaki endokrin X/A benzeri hücrenin keseciklerinde gerçekleştirilmektedir (113).

Bunun yanısıra nesfatin-1 hipotalamus ve mide dışında, kemirgen ve insan pankreasının insülin üreten  $\beta$ -hücrelerinde lokalizedir. Duodenumdaki Brunner bezleri NUCB2/nesfatin ekspresyonu yapmaktadır. İlave olarak, NUCB2/nesfatin-1 ekspresyonu kalp ve üreme dokularında da yapılmaktadır (113).

Yine adipositlerde, arter ve venlerde, genel anlamda değişik bölgelerde olmakla birlikte başlıca hipotalamusta, böbrekte, leydig hücrelerinde, karaciğerde, over hücrelerinde, yine beyinde hipofiz bezinin anterior ve intermediat lobunda, tükrük bezlerinde, sertoli hücrelerinde, iskelet kasında ve spinal kordda da sentezlenmektedir (116).

Nesfatin-1; eklem dokularında da bulunur ve Osteoartrit (OA)'deki fizyopatolojik değişikliklere katkıda bulunabilir. Hatta nesfatin-1'in, OA progresyonunu tahmin etmek için yeni bir moleküler belirteç bile olabileceği düşünülmüştür (132).

NUCB2'nin beslenme davranışlarına ve regülasyonuna katılımı balıklar üzerinde de sınırlı olmakla beraber yeterli denilebilecek düzeyde çalışılmıştır. Balıklarda iki NUCB2 izoformu (NUCB2A ve NUCB2B) mevcuttur ve japon balığı (gold fish), Ya fish (Schizothorax prenanti) ve zebra fish'de nesfatin-1 saptanmıştır (133).

Doku distribüsyonu analizi Ya-fish NUCB2A mRNA'nın, tüm test dokularında sürekli ekspresyonunun gerçekleştiğini ortaya koymuştur ve hipotalamus, hepatopankreas, yumurtalık ve bağırsaklar dâhil olmak üzere çok çeşitli bölgelerde ekspresyon tespit edilmiştir. Aynı şekilde gold fish (japon balığı)'de

beyin, karaciğer, gastrointestinal kanal ve hipotalamusta, zebra fish (zebra balığı)'de ise benzer şekilde beyin, barsak, gastrointestinal kanal ve karaciğerde nesfatin-1 doku ekspresyonu saptanmıştır. Alabalıkta ise yalnızca plazma nesfatin düzeyi çalışılmıştır. Bu çalışmaların sonucunda beslenme durumu değişikliğine bağlı olarak NUCB2A mRNA ekspresyonu yanıtının değişebileceği ve bu yanıtında sistematik veya yalnızca bir dokuya özgü olabileceği tespit edilmiştir (133-136).

#### **3.5.4.Nesfatin-1 reseptörleri**

Kemirgenlerdeki fonksiyonel çalışmalar ile ortaya konan mRNA ve protein seviyesinde NUCB2/nesfatin-1'in beyin dağılımı; leptinden bağımsız mekanizmalar vasıtasıyla hareket eden yeni bir tokluk molekülü olarak NUCB2/nesfatin-1'in rolünü sergiler. İlaveten nesfatin-1,hipofiz bezi-adrenal eksenini ve sempatik sinir sistemini stimüle etmek ve viseral fonksiyonları ve duyguları etkilemek için geniş bir santral etki spektrumunu da indükler. Çeşitli stresörler tarafından da beyinde NUCB2/nesfatin-1 nöronlarının aktivasyonu ile birlikte ortaya çıkabilen bu santral etkiler (reaktif görünüm);esas olarak stresli koşullar altında adaptif rolün bir göstergesidir (137).

Bu bulgulara ilave olarak periferde elde edilen kanıtlar, nesfatin-1'in pankreatik adacıkların  $\beta$ -hücreleri üzerinde direkt glukozaya bağlı bir insülinotropik etki uyguladığını ortaya koymaktadır. Ancak tüm bu çalışmalara rağmen nesfatin-1'in etkisinin selüler mekanizmaları halen anlaşılamamıştır, bunun kısmi nedeni ise nesfatin-1'in pleiotropik etkilerini uyguladığı reseptörün henüz tanımlanmamış olmasıdır (137).

Nesfatin-1'in etkileri ile doğrudan ilgili olan reseptör farmakolojisi ve sinyalizasyon mekanizması henüz açıklanmamıştır. Ancak bilinmektedir ki birkaç

istisna dışında, açlık ve/veya toklukla ilgili moleküller (peptidler) sinyalizasyon işlemleri için G protein-eşleşmiş reseptör (GPCR - G protein-coupled receptor)'yi yani G reseptör familyasını kullanmaktadır. G reseptörlerle birlikte  $Ca^{++}$  'un da kendine özgü alt tip iyon kanallarıyla bu iletimde ve sinyalleme sürecinde rol oynadığı düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar, periferal nesfatin-1'in beyne sinyaller gönderebildiği olası yolak veya aracı molekülleri göstermek suretiyle (örnek olarak, nesfatin-1'in N-tipi kanallar yoluyla  $Ca^{++}$  influksunu stimüle ederek vagal afferent nöronları aktive etmesi gibi) doğrudan kanıtlar sunmaktadır (138,139). Yine aynı çalışmada, nesfatin-1 reseptörünün (reseptörlerinin) GPCR reseptör familyası subgrubu ( $G_i$ )'na bağlı bir reseptör olduğu varsayılarak, nesfatin-1 kaynaklı kalsiyum mobilizasyonu, varsayılan reseptörler pertusis toksinine maruz bırakılarak engellenmiştir (9,138).

### **3.5.5. Kan beyin bariyeri ve nesfatin**

Nesfatin-1'in hem kan-beyin hem de beyin-kan yönlerinde doymamış (doymamış - non-saturable) mekanizmalar yoluyla kan beyin bariyeri (KBB)'nden geçtiği gösterilmiştir (140). Farklı bir çalışmada ise nesfatin-1,intravenöz enjeksiyondan sonra en az 20 dakika kanda stabil halde kalmıştır ve doymamış (non-saturable) bir mekanizma yoluyla KBB'den geçmiştir. İntravenöz iletim sonrasında nesfatin-1'in influks hızı,  $0.27\pm 0.11 \mu\text{l/g-dak}$ 'dır ve %0.3 nesfatin-1,enjeksiyondan 10 dakika sonra beyin parankimine ulaşır. İntraserebroventriküler enjeksiyon sonrasında nesfatin-1,23.8 dak'lık yarı zamanlı yokolma süresine sahiptir; bu da, albüminin yarı zamanlı yok olmasından anlamlı olarak farklı değildir. Dolayısıyla fizyolojik koşullar altında sınırlı penetrasyon, potansiyel bir terapötik ajan olarak bu tokluk peptidinin farmakolojik iletimini kısıtlamamaktadır (141).

### 3.5.6. Plazma nesfatini

Neonatal sıçanlarda embriyonik dönemin 21. gününde, postnatal yaşamın 1. gününde ve 13., 20. ve 27. postnatal günlerde yüksek olmasının yanı sıra serum nesfatin-1; büyüme ile artmaya devam etmektedir ve bu da organ gelişimine ilişkin olarak gastrointestinal sistem ve pankreas yoluyla nesfatin sentezini göstermektedir. NUCB2/nesfatin-1; tüm gelişim aşamalarında pankreasın beta hücrelerinden salgılanan insülin ile kolokalizedir. Kolokalizasyon oranı, yaşa göre değişir. Bu da; NUCB2/ nesfatin-1'in yaş ve dokuya özgü olduğunu ve sıçanların gelişim fizyolojisinin büyüme kısmında kritik bir molekül olduğunu gösterir (117).

Biyolojik sıvılarda Nesfatin-1 seviyesi, bazı patolojik koşullarda azalma ya da artış gösterir ya da hiç değişiklik göstermez. Birçok biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonları olmasına rağmen, ilgili hormon temel olarak gıda alımının redüksiyonu ve vücut ağırlığındaki azalmayla ilişkilendirilmiştir. Polimorfizm verilerine dayanarak aynı zamanda NUCB2 geninin kalıtımla aktarılabilen defektlerinin de insan obezitesinin etiopatolojisinde rol alıyor olabileceği bildirilmiştir (117).

Nesfatinin plazma seviyeleri ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça geniş bir spektrum ortaya çıkarmıştır. Nesfatin plazma seviyesi artışları veya azalışları değerlendirilip bazı hastalıkların tanı, takip ve progresinin belirlenmesinde bir biogösterge, marker veya belirteç olup olmayacağı araştırılmıştır. Ancak çalışmalardan elde edilen sonuç nesfatin-1'in fizyolojik veya bazı patolojik durumlarda veya hastalıklarda tam anlamıyla bir biogösterge olamayacağıdır.

Örneğin; bir araştırmacı derlemesinde retrospektif çalışmaları tümünden değerlendirirken bile ancak 'NUCB2/nesfatin-1,majör depresyon ve epilepside hastaları sağlıklı popülasyondan ayırabilmektedir. Özellikle, antiepileptik tedavi

miktarını düşürmüş olmasına rağmen, nesfatin-1 konsantrasyonları kontrol grubundakinden yine de daha yüksektir. Bildirilen bu özellikler nesfatin-1'i hastalığın diyagnozu ve takibinde kullanılabilir potansiyel olarak önemli bir biyogösterge yapar. Ancak, bu olasılık daha fazla deneysel ve klinik çalışmayla onaylanmalıdır. ” şeklinde görüş belirtirken, bir başka araştırmacı grubu yaptıkları akut pankreatit ve pankreatik nekroz çalışmalarında karşılaştırmalı nesfatin, leptin ve ghrelin seviyelerini analiz ederek “Hem Vücut kitle indexi (VKİ) hem plazma leptin seviyeleri pankreatitin şiddetiyle ilişkilidir. Pankreas nekrozu tahmininde leptin seviyeleri VKİ'ne kıyasla daha iyi eğri altı alan, duyarlılık ve özgüllük değerleri sergilemiştir. Nesfatin-1 ve ghrelin seviyeleri hastalığın şiddetini tahmin unsuru olarak tespit edilmemiştir. ” şeklinde görüş belirtmişlerdir (116,142).

Daha çarpıcı bir örnek ise 2012 yılında yapılmış olan bir çalışmada polikistik over sendromu (PCOS) hastalarında, sağlıklı kontrollere ( $2.22 \pm 1.14$  ng/mL) kıyasla daha düşük nesfatin-1 seviyeleri ( $0.88 \pm 0.36$  ng/mL) ölçülmüşken, 2014 yılında yapılan bir çalışmada ise nesfatin-1 seviyeleri,  $371,43 \pm 2,50$ 'ye karşı  $275,55 \pm 1,74$  pg/mL değerleri ile kontrol grubuna kıyasla PCOS'da anlamlı ölçüde daha yüksek ölçülmüştür (143,144).

Bir başka çarpıcı örnek ise pek çok çalışmada VKİ ile serum nesfatin-1 değerleri arasında pozitif veya negatif yönde korele bir ilişki olduğu kabul edilirken yeni çalışmalarda ise (örn; ilerlemiş akciğer kanserli hastalarda yapılan ölçümlerde) serum nesfatin-1 değerleri ile VKİ arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır (145).

Aynı çelişkili durum iki farklı araştırma grubunun aynı hastalığa sahip ama farklı iki popülasyonda yaptığı ölçüm sonuçlarının zıtlığı ile de literatürdeki yerini

almıştır. Aynı hastalıkla ilgili çalışılmış ama farklı sonuçlar elde edilmiştir. Şöyle ki;” Yakın zamanlarda tanı konulan tip-2 diyabet hastalarının ve bozulmuş glukoz toleransı olan bireylerin serumunda Nesfatin-1 seviyelerinin arttığı bulunmuştur (146)” denilirken aynı hastalık grubundan diğer bir çalışmada ise ‘‘ Ancak açlık plazma nesfatin-1 seviyeleri sağlıklı deneklere ve tip 1 DM hastalarına kıyasla tip 2 DM hastalarında anlamlı olarak daha düşüktü. (147)” denmiştir (146, 147).

İnsan kanındaki normal nesfatin-1 konsantrasyonlarına dair bir fikir birliğine varılmamıştır. İstisnalar olmasına rağmen, nesfatin-1'in normal kan değeri bir çalışmada 0,16 ng/mL olarak, bir başka çalışmada ise 5,4 ng/mL olarak bildirilmiştir. Bu farklılıklar hastaların ırkına, laboratuvarların analiz öncesi hatalarına veya aynı örneklerin farklı kitlerle farklı ölçümlerine bağlanabilir. Şu anda birçok firma ELISA ve RIA kitlerini üretmektedir ve herhangi bir fikir birliği yoktur. Bir fikir birliğine varılırsa sonuçlar daha stabil olacaktır ve nesfatin-1'in klinikteki potansiyel rolü netleşecektir (116).

Serebrospinal sıvı (CSF - Cerebrospinal fluid) /plazma nesfatin-1/NUCB-2 oranı anlamlı olarak VKİ, vücut ağırlığı, yağ kitlesi ve CSF glukoz ile negatif ilişkilidir. VKİ; CSF/plazma nesfatin-1/NUCB2 oranının belirleyicisidir. CSF nesfatin-1/NUCB-2; anlamlı düzeyde plazma nesfatin-1/NUCB-2 ile pozitif ilişkilidir (148).

Ancak plazma nesfatin-1'inin kaynağı, ilgili birikmiş literatür dikkate alındığında henüz daha tam anlamıyla net ve güvenilir bir biçimde tespit edilememiş ve ortaya konamamıştır. Buna rağmen pek çok patolojik ve fizyolojik durumla ilgili olarak nesfatin-1 plazma seviyelerini ölçen çalışma yapılmıştır.

### 3.5.6.1. Plazma nesfatinini artıran durumlar

Yakın zamanda Ramanjaneya ve ark. tarafından insülin, deksametazon ve inflamatuvar sitokinlerin etkileri ve nesfatin-1 ekspresyonu üzerinde obezite ve gıda deprivasyonunun etkisi araştırılmıştır. NUCB2 mRNA ( $P<0.001$ ), nesfatin-1 intraselüler protein ( $P<0.001$ ) ve sekresyonun ( $P<0.01$ ), diğer depolar ile kıyaslandığında subkutan adipoz dokularda anlamlı olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir ve nesfatin-1'in obez bireylerde ve suni olarak düzenlenmiş besin deprivasyonu olan bireylerde tercihen adipoz dokular yoluyla üretilen depoya özgü bir adipokin olduğu vurgulanmıştır (117, 149).

Anne sütünde bulunan bileşenler üzerinde yapılan son araştırmalarda leptin, adiponektin, rezistin, obestatin, nesfatin, ghrelin ve apelinler de dâhil olmak üzere birçok adipokin tespit edilmiştir (150). Gestasyonel diyabetik emziren kadınların serum ve sütlerinde ki apelin, ghrelin ve nesfatin-1 konsantrasyonları, kontrol örneklerine kıyasla daha düşük bulunmuştur (151).

Yakın zamanlarda tanı konulan tip-2 diyabet hastalarının ve bozulmuş glukoz toleransı olan bireylerin serumunda Nesfatin-1 seviyelerinin arttığı bulunmuştur ve bu nedenle diyabeti olan deneklerde bu ve benzeri çalışmalarda gözlemlenen nesfatin-1 konsantrasyonundaki ölçülebilir (artma veya azalma) değişiklikler, bu peptitlerin glukoz metabolizmasının kontrolündeki rollerinin bir kanıtı olarak ileri sürülmüştür (146).

2012 yılında PCOS denekleriyle yapılan çalışmalarda uygulanan korelasyon testleri; nesfatin-1 seviyeleri ile VKİ, açlık kan şekeri, insülin seviyeleri ve İnsülin direnci saptaması için homeostatik model değerlendirmesi (HOMA-IR - Homeostatic model assesment-insulin resistance) indeksi arasında negatif bir korelasyon olduğunu

ortaya çıkarmıştır (143). 2014 yılında PCOS denekleri ile yapılan çalışmada da benzer şekilde nesfatin-1, vücut kitle indeksi ve homeostaz modeli değerlendirme indeksini içeren çok değişkenli lojistik regresyon analizi PCOS'un varlığıyla nesfatin-1 arasında anlamlı bir ilişkiyi açığa çıkarmıştır ( $p < 0,05$ ) (144).

Yine ortalama nesfatin-1 seviyeleri, kontrol grubuna kıyasla majör depresif bozukluğu olan hastalarda anlamlı olarak daha yüksek ölçülmüştür ( $p < 0.001$ ) (152).

NUCB2 mRNA seviyelerinin depresif intihar kurbanları ile kontroller arasında cinsiyete özgü bir fark sergileyeceği hipotezi ile yapılan bir çalışmada ise yazarların hipotezi doğrulanmış ve NUCB2 mRNA içeriği (cinsiyet farkı göstererek) kontrollere (her hangi bir tanı konmuş nörodejeneratif veya psikiyatrik bozukluğu olmadan ölen kişiler) kıyasla erkek intihar kurbanlarında daha yüksek ( $\times 1.8$ ), kadın intihar kurbanlarında ise kontrollere kıyasla daha düşük ( $\times 2.7$ ) olarak belirlenmiştir (153).

Metabolik sendrom (MetS)'u olan havyanların üreme organı dokularındaki nesfatin-1 miktarlarının; kontrol grubuna kıyasla arttığı bulunmuştur (117).

Taşikardili hasta popülasyonunda da plazma nesfatin-1 değerleri ölçülmüştür. Nesfatin-1 seviyeleri; kontrol grubuna kıyasla paroksizmal supraventriküler taşikardi grubunda anlamlı şekilde daha yüksek ve kalp atım hızı ile pozitif korele olarak bulunmuştur ( $P < 0.001$ ) (154).

Hiperemesis gravidarum grubundaki Nesfatin-1 konsantrasyonları, kontrol (gravida) grubuna kıyasla daha yüksek bulunurken diğer taraftan gebelik esnasındaki leptin konsantrasyonları; kontrol (gravida) grubuna kıyasla hiperemesis gravidarum grubunda daha düşük bulunmuştur (155).

İleri kistik fibrozisli hastalarda ve düşük yağ kitlesi eşliğinde nesfatin-1 plazma seviyeleri anlamlı olarak artmıştır ve yağ kitlesi ile ters olarak koreledir. Yine elde edilen bulgular nesfatin-1'in, tümör nekrotizan faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$  – Tumor necrotisan factor- $\alpha$ ) ya da İnterlökün -6 (IL-6- İnterleukin-6)'dan bağımsız olarak bu etkilerini ortaya koyduğunu da göstermiştir (156).

Aşikar ve subklinik hipertiroidizimli vakalarda nesfatin-1 düzeyleri değerlendirilmiş ve sonuç olarak kontrol grubundaki nesfatin-1 seviyeleri yaş ve vücut kitle endeksi için uyarlandıktan sonra subklinik ve aşikâr hipertiroid grubundan farklı çıkmamıştır. Bu veriler serum nesfatin-1 seviyelerinin aşikâr ve subklinik hipertiroidizmde büyük değişiklikler meydana getirmediğini göstermiştir (157).

Ratlar üzerinde Roux-En-Y Gastrik Bypass (RYGB) ve Sleeve gastrektomi (SG)'de dâhil olmak üzere obezite ameliyatları gerçekleştirilmiştir. Ameliyattan iki ay sonra plazma nesfatin-1 seviyesi ve ratların farklı organlarındaki nesfatin-1 ekspresyonu test edilmiştir. Plazmada ve ilgili organlarda nesfatin-1 ekspresyonu tip 2 DM ratlarda azalmıştır ve RYGB'den sonra tekrar artmıştır ancak SG'de bu patern ortaya çıkmamıştır. SG'den sonra nesfatin-1 enjeksiyonu insülin direncini anlamlı biçimde düzeltmiş ve kan şekeri seviyelerini düşürmüştür. Sonuç olarak nesfatin-1'in tip 2 DM'lu ratlarda insülin duyarlılığını düzeltebileceği ve bu yüzden RYGB'den sonra tip 2 DM gerilemesinde çok önemli bir rol oynayabileceği düşünülmüştür. Obezite cerrahisi için bu peptidin, cerrahi sonrası iyileşme sürecinde üzerinde durulması gereken bir hedef olduğu vurgulanmıştır (158).

Uzun süreli kronik vagus siniri stimülasyonu, kontrol hayvanlarına kıyasla Vagal sinir stimülasyonu (VNS -Vagal nerve stimulation) alan hayvanlarda anlamlı

düzyeyde gıda alımını, kilo alımını ve epididimal yağ pedinin ağırlığını azaltmıştır. Benzer şekilde yani yüksek frekanslı (10 Hz) elektriksel VNS ile de çalışmalar yapılmış ve VNS'yi takiben NTS'de anlamlı nöronal tepkiler gözlenmiştir. Öyleki ghrelinin serum konsantrasyonları arttırılırken leptinin serum seviyeleri azaltılmıştır. Anlamlı olmasa dahi serum nesfatin-1 seviyeleri de arttırılmıştır. Bu bulgular; vagal aferentler yoluyla iletilen beyin tokluk sinyallerini arttırarak VNS'nin gıda alımı, kilo alımı ve adipoz dokularda redüksiyona neden olduğu teorisini desteklemektedir. VNS aynı zamanda nesfatin-1'in artan kan konsantrasyonları da dahil olmak üzere beslenmeye ilişkin hormonal tepkiye de neden olur (159).

Gastrik X/A like hücrelerde, farklı vezikül havuzlarında ghrelin ile kolokalize ve yeni bir anoreksijenik hormon olan nukleobindin2/NUCB2)/nesfatin-1'in prominent ekspresyonu da değerlendirilmiştir. Bakteriyel lipopolisakkarit (LPS), intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir (ip,100µg/kg) ve kan numunesi; enjeksiyondan önce ve enjeksiyondan 2,5,7 ve 24 saat sonra alınmıştır. LPS; muhtemelen anoreksijenik etkiye katkıda bulunan dolaşımdaki Ghrelin-O- asil transferazın (GOAT)'ın azalan konsantrasyonları ile ilişkili olan açil ghrelini düşürür. Benzer şekilde, gastrik NUCB2 protein konsantrasyonu; taşıyıcıya (vehiküle) kıyasla LPS injeksiyonu sonrasında %62 oranında artmıştır (p<0. 01). Bu veriler; gastrik NUCB2 üretiminin ve salımının LPS'ye karşılık olarak arttığını göstermektedir. Bu değışiklikler; immün sataşma yoluyla, aynı hücrede türetilen NUCB2/nesfatin-1 ve ghrelin ekspresyonunun differansiyel gastrik bir regülasyonu olduğunu kanıtlar şekilde, LPS'ye karşılık ortaya çıkan ghrelin yanıtına karşı nesfatin-1 yanıtıdır (160).

Açlık plazma nesfatin-1 seviyelerinin hipertansiyon hastalarında-özellikle aşırı kilolu/obez hipertansiyon hastalarında-kontrol grubundakilerden, anlamlı ölçüde daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlara dayanarak nesfatin-1'in obezite hipertansiyonunda önemli bir rol oynayabileceği ve artışının obeziteyle bağlantılı hipertansiyon için bir risk faktörü olabileceği belirtilmiştir (161).

Plazma nesfatin-1 seviyeleri obez yetişkinlerde düşmüştür ve akupunkturdan sonra artmıştır. Akupunkturun obeziteye yararlı etkisinin artan plazma nesfatin-1 seviyesiyle bağlantılı olabileceği vurgulanmıştır (162).

### **3.5.6.2. Plazma nesfatinini azaltan durumlar**

Yaygın anksiyete bozukluğunda düşük nesfatin-1 seviyeleri ölçülmüştür (163). Nesfatin-1'in tip-2 diyabeti olan insan deneklerde tip-1 diyabeti olanlara kıyasla önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir ve gözlenen azalmanın, diyabetik hiperfaji ile ilişkili olabileceği varsayılmıştır. Ayrıca yapılan çalışmada plazma nesfatin-1 seviyelerinin cinsiyetten bağımsız olduğu ve cinsiyetler arasında fark saptanmadığı belirtilmiştir (147).

Gestasyonel diabetes mellitus (GDM)'lu annelerin kanında ve sütündeki Nesfatin-1 konsantrasyonlarının azaldığı bulunmuştur. Bebeklerde de varlığı tespit edilmiş olan bu peptidin; infantlarda büyümeye, enerji regülasyonuna ve gastrointestinal sistemin maturasyonuna katkıda bulunduğu bildirilmiştir (151). Yine GDM'lu annelerle yapılan bir diğer çalışmada; GDM'lu annelerin maternal kan nesfatin-1 değerleri ve GDM olan kadınların kordon kanı nesfatin-1 değerleri kontrol grubunun maternal ve kordon nesfatin kan değerleri ile kıyaslandığında daha düşük bulunmuştur (164).

Yapılan bir diğerk çalışmada nesfatin-1'in periferal konsantrasyonları; VKİ, vücuttaki yağ oranı, vücuttaki yağ ağırlığı ve kan şekeri ile anlamlı olarak negatif korelasyon göstermiştir. Nesfatin-1 konsantrasyonları, Oral glukoz tolerans testi (OGTT) uygulaması ve öğünler ile anlamlı olarak değışmemiştir. Açlık nesfatin-1 seviyeleri, obez olmayan deneklere kıyasla yüksek VKİ olan deneklerde anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (165).

VKİ'ya ilişkin serum nesfatin-1 seviyeleri  $5.2 \pm 0.9$  ( $<18.5 \text{ kg/m}^2$ ),  $5.6 \pm 0.9$  ( $18.5-24.9 \text{ kg/m}^2$ ),  $5.8 \pm 1.7$  ( $25-29.9 \text{ kg/m}^2$ ),  $4.2 \pm 2.1$  ( $30-39.9 \text{ kg/m}^2$ ), ve  $4.4 \pm 0.9$  ng/mL ( $>40 \text{ kg/m}^2$ )'dir. Nesfatin-1 seviyeleri, düşük kilolu bireylerden aşırı kilolu bireylere doğru artış göstermiştir ancak daha sonra obez bireylerden morbid obez olanlara doğru azalmıştır (117).

Ayrıca nesfatin-1'in intravenöz enjeksiyonunun hiperglisemik db/db (genetik olarak diabetik) farelerde anlamlı olarak kan şekerini azalttığı bulunmuştur. Nesfatin-1'in bu anti-hiperglisemik etkisinin zaman, doz ve insüline bağlı ve periferal olduğu bildirilmiştir (166).

MetS'u olan sıçanların serumundaki Nesfatin-1 miktarlarının, kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir (MetS dişi sıçanların nesfatin-1 miktarı hariç) (117).

Sağlıklı kontrollere kıyasla Bipolar Bozukluğun manik epizotunda nesfatin 1 seviyelerinin belirgin olarak daha düşük olduğu ortaya koyulmuştur (167).

Sınırlayıcı tip Anoreksiya nervosa (AN-R); çarpık özsayđı gibi çeşitli kognitif biaslardan ötürü şiddetli emasiyasyon ve kronik gıda kısıtlaması ile karakterize edilir. Geçmiş çalışmalar, ghrelin gibi beslenme düzenleyici peptitlerdeki değışikliklerin anoreksiya ile ilişkili olduğunu göstermiştir. AN-R'deki rolünü belirlemek için AN-

R hastalarında plazma nesfatin-1 seviyeleride incelenmiştir. Elde edilen bulgular, plazma nesfatin-1 seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla AN-R grubunda anlamlı olarak daha düşük olduğunu göstermiştir (sırasıyla  $6.23 \pm 0.70$  ng/ml vs.  $8.91 \pm 0.85$  ng/ml,  $P < 0.05$ ). AN-R; uzun bir dönem için emasiyasyon ile ilişkili olmasına rağmen raporlanan bulgular, nesfatin-1 seviyelerinin beslenme durumu ve açlığa tepki ile düzenlenebileceğini düşündürmektedir (168).

Non-alkolik yağlı karaciğere sahip hastalarda serum nesfatin-1 konsantrasyonları sağlıklı kontrollerle kıyaslandığında daha düşüktür (sırasıyla  $0.26 \pm 0.14$  ng/ml,  $0.38 \pm 0.18$  ng/ml ve  $p = 0.008$ ). Nesfatin-1 ve açlık glukozu ile vücut kitle indeksi arasında negatif bir korelasyon vardır. Obez deneklerde ise serum nesfatin-1 konsantrasyonları; obez olmayan deneklerle kıyaslandığında anlamlı olarak daha düşüktür (sırasıyla  $0.26 \pm 0.12$  ng/ml,  $0.37 \pm 0.19$  ng/ml;  $p = 0.014$ ). İlaveeten, insülin direnci olan deneklerde nesfatin-1 konsantrasyonlarının, insüline karşı duyarlı olanlara kıyasla anlamlı olarak daha düşük olduğu gösterilmiştir (sırasıyla  $0.27 \pm 0.17$  ng/ml,  $0.38 \pm 0.17$  ng/ml;  $p = 0.015$ ) (169).

İleri akciğer kanseri hastalarında da serum nesfatin-1 seviyeleri araştırılmıştır. Kilo kaybı olan akciğer kanserli hastalarda nesfatin-1 seviyeleri; kilo kaybı olmayan hastalara kıyasla azalmıştır ( $0.44 \pm 0.16$  ng/ml vs  $0.63 \pm 0.18$  ng/ml;  $p < 0.001$ ). Serum nesfatin-1 değerleri ile VKİ arasında ise anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır. Sonuç olarak yağ kitlesi kaybının; kilo kaybı olan akciğer kanseri hastalarında serum nesfatin-1 seviyelerini düşürebileceği öne sürülmüştür (145).

Kordon kanı ile yapılan bir başka araştırmada ise nesfatin-1 seviyeleri, uygun gestasyonel yaş (AGA–Appropriate gestational age) fetüslerine kıyasla büyük gestasyonel yaş (LGA - Large gestational age) fetuslarında azalmıştır. Fetal nesfatin-

1 konsantrasyonları, GDM durumlarında daha yüksektir ve kordon kanındaki nesfatin-1 konsantrasyonları, vajinal yolla doğum vakalarında daha düşüktür. Maternal ve göbek bağı seviyelerinde insülin ile nesfatin-1 arasında anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır (170).

Değişik gestasyon yaşına ait yenidoğanlarda yapılan çalışmalarda ise Nesfatin-1, ghrelin ve insülin konsantrasyonları AGA infantlarına kıyasla küçük gestasyonel yaş (SGA–Small for gestational age) grubunda daha yüksek bulunmuştur. SGA infantlarındaki Nesfatin-1 seviyeleri, AGA infantlarına kıyasla Postnatal 0. günde (PNDO - Postnatal day of 0) daha yüksek ve PND7 ve PND28 de ise daha düşük bulunmuştur (116,171).

Çeşitli anorektik ve oreksijenik hormonlar üzerinde fiziksel egzersizin etkileri bildirilmiş olsa dahi, nesfatin-1'in sirküle eden konsantrasyonları üzerinde egzersizin etkileri ve değişen egzersiz koşullarında nesfatin-1 seviyeleri mütemadiyen yeniden çalışılmıştır. Metabolik stresten etkilenen diğer hormonlar ve nesfatin üzerinde akut yorucu (strenuous) ara egzersizin ve sirkui (circuit) egzersizin etkileri araştırılmıştır. Egzersiz protokolleri sirküle eden glukoregülatuar hormonlar, plazma glukozu ve laktatını anlamlı olarak değiştiren metabolik strese neden olsa da, plazma nesfatin-1'de anlamlı bir değişiklik olmamıştır. Egzersiz protokollerine nesfatin-1 yanıtının olmamasının, kısmen açlık durumundan ötürü meydana gelmiş olabileceği düşünülmüştür (172). Bilindiği üzere nesfatin-1, anti-hiperglisemik özelliklere sahiptir (166). Dolayısıyla yorucu interval egzersizin; kısmen kan glukozunu düşürdüğü görülmektedir, bu da neden seviyelerin değişmeden kaldığını açıklayabilir (172).

Çeşitli beslenme rejimleri ile birlikte egzersiz koşullarında veya egzersiz olmadan değişik gruplara ayrılmış farelerde yapılan çalışmalarda, egzersiz olmayan ve yüksek yağlı beslenen gruptaki plazma adiponektin ve nesfatin-1 seviyeleri, egzersiz olmayan ve normal beslenen gruba kıyasla azalmıştır ( $P < 0.05$ ). Yüksek yağlı diyet altında yapılan egzersizler ise nesfatin-1 seviyesinde anlamlı düşüşü tersine çevirmiştir (antagonize). Yüksek yağlı diyet ile birlikte egzersiz; adiponektin ve nesfatin-1'in plazma seviyelerini etkilemiştir. Bu nedenle yüksek yağlı diyet ile birlikte egzersizin, adiponektin ve nesfatin yoluyla çeşitli hastalıkların prognozunu etkileyebileceği öne sürülmektedir (173).

Fokal epilepsili veya primer jeneralize epilepsili hastalarda; paroksizmal olaylar (psikojenik) yaşayan hastalara ve kontrol deneklerine kıyasla bir krizden (nöbetten) 5 dakika, 1 ve 24 saat sonra daha yüksek serum prolaktin ve nesfatin-1 ve daha düşük ghrelin seviyeleri ölçülmüştür. Veriler benzerdir ancak 48 saat sonra istatistiksel olarak anlamlı değildir (174).

Nesfatin-1 seviyeleri, hemodiyaliz hastaları ve kronik böbrek hastaları ile sağlıklı denekler arasında farklılık göstermez ve protein alımı ile negatif olarak koreledir. Bu yolak, muhtemelen üremide disregüle olmamaktadır (175,176).

MetS bağımlı olan ve olmayan vakaların çeşitli Obstrüktif uyku apnesi sendromu (OSAS - Obstructive sleep apne syndrome) parametreleri ve laboratuvar bulguları karşılaştırılmıştır. Nesfatin-1 seviyeleri MetS olan ve olmayan tüm OSAS hastalarında değerlendirilmiştir. Tüm gruplarda anlamlı ölçüde daha fazla erkek katılımcı gözlenmiştir. Ancak nesfatin-1 seviyeleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık belirlenememiştir. Nesfatin-1 seviyeleri MetS olmayan gruba kıyasla MetS grubunda anlamlı ölçüde daha düşüktür. Bu verilere dayanarak insülin

direncinin patofizyolojisinde rol oynadığı bilinen nesfatin-1'in gelecekte obezite hastalarının hiçbir toksik etki olmadan tedavi edilmesi için yeni terapötik hedefler geliştirmede faydalı bir ajan olabileceği ileri sürülmüştür (177).

Son elde edilen kanıtlar enflamasyonun OSAS mekanizmasında yer aldığını ortaya koymaktadır. Çok değişkenli lojistik regresyon analizi serum nesfatin-1 seviyelerinin OSAS'ın varlığıyla ters ilişkili olduğunu göstermektedir. Azalan nesfatin-1'in serum seviyeleri OSAS'ın varlığı ve şiddetiyle ilişkilidir (178).

Açlık nesfatin-1 seviyeleri, obez olmayan deneklere kıyasla yüksek VKİ olan deneklerde anlamlı olarak daha düşüktür (165).

Serum nesfatin-1 seviyeleri istatistiksel olarak endometriyozlu hasta grubunda kontrol grubundakinden anlamlı ölçüde daha düşük ölçülmüştür. Nesfatin-1'in serum seviyeleri, endometriyoz hastalarında düşmüştür ancak endometriyozun etyopatogenezindeki tam rolü hâlâ açıklanmayı beklemektedir (179).

Ghrelin, obestatin ve nesfatin-1 ekspresyonu sitoplazmada yapılmıştır ve bu sentez ratların üreme dokularındaki epitel hücrelerinin apikal kısımlarının etrafında yoğunlaşmıştır. Ghrelin miktarı MetS'li hayvanların üreme dokularında daha düşükken aynı hücrelerdeki nesfatin-1 seviyeleri artmıştır. Seminal bezlerde olmasa bile obestatin ise azalmıştır (180).

Azalmış nesfatin-1'in serum seviyelerinin preeklampsinin varlığı ve şiddetiyle ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (181).

Ayrıca yanığı olan hastalarda serum nesfatin-1 seviyelerinin kontrol grubundan anlamlı ölçüde daha düşük olduğu gösterilmiştir. Nesfatin-1 ve yanık yara enfeksiyonu arasında gözlenen negatif ilişki, düşük nesfatin-1 seviyelerinin, nesfatin-

l'in enerji homeostazına olası katkısının bir göstergesi olabileceğini akla getirmiştir (182).

### **3.5.7. Nesfatin-1 GIS immünohistokimyası ve periferik (mide) işleyiş mekanizması**

Mide genellikle ilkel, besin öğütücü bir kas torbası olarak algılansa da bilimsel atılımlar bize beslenme aksında bu algının ötesinde mideyle ilgili gözle görülenden fazla daha başka şeyler olduğunu da göstermiştir. Midenin endokrin fonksiyonu, temel olarak bilinen ilk açılmiş peptid hormon ve şu ana kadar üzerinde en çok araştırma yapılmış endojen oreksijenik madde olan ghrelinin etkileri yoluyla anlaşılmaya çalışılmaktadır. Tokluk-açlık dengesi ghrelinin deacillenmiş formunda (desaçil ghrelin), aralarında olduğu birçok anoreksijenik bağırsak hormonu tarafından kontrol altında tutulur. Çoğu bağırsak hormonu kan-beyin sınırını geçtiğinden ve merkezi sinir sistemindeki ilgili reseptörlerine bağlandığından bağırsak hormonlarının aksiyonları ve devinimleri beyni doğrudan etkilemektedir. Obestatin ve nesfatin gibi diğer hormonlar ghrelinle birlikte mideden salgılanmaktadır ancak bunların fizyolojik fonksiyonu halen açıklanmayı beklemektedir (183).

Gastrik mukozanın saf küçük endokrin hücrelerindeki ekspresyon analizleri, bu alandaki NUCB2 mRNA seviyelerinin beyinde mevcut olan seviyelerden daha yüksek olduğunu göstermektedir. Sıçanların gastrik mukozasında yer alan orta segmentteki NUCB2/nesfatin-1 ekspresyonunun, X/A benzeri hücrelerdeki ghrelin oreksijenik hormonu ile ortak bir lokalizasyonunun olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde sıçanlardaki gastrik bezlerin zemininde yer alan az sayıdaki hücrenin, NUCB2/nesfatin-1 ve somatostatin ile ko-eksprese olduğu gösterilmiştir.

Somatostatin ve vazoaaktif intestinal peptit; köpeklerin sindirim sisteminde NUCB2/nesfatin-1 ile kolokalizedir. Köpeklerin sindirim sistemi hücrelerinde bulunan NUCB2/nesfatin-1'in fonksiyonu ise henüz bilinmemektedir. Midede ghrelin ile kolokalizasyonuna benzer şekilde NUCB2/nesfatin-1 aynı zamanda bazı diğer dokulardaki çeşitli hormonlar ile de kolokalizedir (117).

Hem farelerin hem de sıçanların İnsülin üreten  $\beta$ -hücre adacıklarında, insülinin pronesfatinle kolokalize olduğu belirlenmiştir. Farelerde glukagon ve pronesfatinin kolokalizasyonu bulunmamıştır ancak bazı glukagon pozitif hücreler, sıçan  $\beta$ -hücre adacıklarında pronesfatin içinde pozitifdir. Pronesfatin immünoaktivitesinin ve insülin ile kolokalizasyonunun fazla olması, kemirgenlerde pronesfatininde glukoz homeostazında potansiyel bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (184).

Sabah 09:00'da başlamak üzere 24 saat süreyle yem verilmeksizin suya serbest erişim sağlanarak oluşturulan bir grup ve gıdaya serbest şekilde ulaşmasına izin verilen sıçanlardan oluşan bir diğer grupla aynı zaman aralığında yapılan bir deneyde değişik dokularda hem NUCB2 mRNA ekspresyonu hemde nesfatin-1 immünreaktif hücreler çalışılmıştır. Gastrik oksintik mukozada midedeki NUCB2 ekspresyonu yüksek düzeyde tespit edilmiştir. Midedeki bu ekspresyon, beyin dokusu ile karşılaştırıldığında sıçan beynindeki total RNA ekstraktlarına kıyasla en az 10 kat yüksek çıkmıştır. Yeme serbest şekilde ulaşan sıçanların midesinde ki NUCB2 mRNA ekspresyonu incelendiğinde ise nesfatin-1 prekürsörü NUCB2'nin beyin ve kalbe göre gastrik oksintik mukozada anlamlı şekilde daha yüksek oranda eksprese edildiği tespit edilmiştir. Gastrik mukozadan elde edilen mRNA ekspresyon veri setlerinin ileri analizinde, %99 saflaştırılmış parietal hücreler ve oksintik

mukozaanın %90 saflaştırılmış küçük endokrin hücreleri gastrik mukozayla kıyaslandığında saflaştırılmış endokrin hücre fraksiyonu anlamlı şekilde daha yüksek ekspresyon göstermiştir. Gastrik parietal hücrelerde ise NUCB ekspresyonu bulunmamıştır (131).

İmmunohistokimyasal boyama gastrik oksintik mukozada nesfatin-1 immunreaktif hücrelerin varlığını teyit etmiştir. Bu hücrelerin, endokrin fenotip özellikler taşıdığı gösterilmiştir. Ve aynı zamanda bu hücreler özellikle oksintik bezin alt üçte bir ve orta bölümünde dağılmışlardır. Boyanma neredeyse sadece tamamen sitoplazmik veziküler kompartmanda gösterilmiştir. Antrum çok az sayıda nesfatin-1-immunoreaktif hücre gösterirken, özofagus, incebağırsak ve kalınbağırsakta nesfatin-1-immunopozitif hücre saptanmamıştır. Pankreas adacık endokrin hücrelerinde güçlü sitoplazmik veziküler boyanma gösterilirken, tam tersine anterior hipofiz bezi bir endokrin hücre alt kümesinde baskın şekilde nükleer boyanma göstermiştir. İlave olarak nesfatin-1 immunreaktif hücreler sıçan testisinin seminifer tübüllerinin komşuluğundaki interstisyumunda da belirlenebilirken karaciğer, böbrek, dalak, subkutanöz ve visseral adipoz doku, adrenal bez, kalp, gastrocnemius kası ve akciğerde nesfatin-1 immunopozitif hücre tespit edilememiştir. Nesfatin-1 immünreaktif hücreler mide korpusunun oksintik mukozasında da tespit edilmiştir. İmmünopozitif hücrelerin büyük bölümü oksintik bezlerin alt üçte bir ve orta bölümünde bulunmuştur. Adacık endokrin hücrelerinden oluşan bir alt kümede pankreas güçlü sitoplazmik veziküler boyanma gösterirken hipofiz bezi endokrin hücrelerinden oluşan bir alt kümede ise baskın şekilde nükleer boyanma saptanmıştır. 24 saat süreli açlık, sıçan mide korpus mukozasının küçük endokrin hücreden zengin fraksiyonunda NUCB2'nin anlamlı ölçüde down-regülasyonuna yol açmıştır (131).

Ayrıca tüm bunlara ilave olarak rodentlerde nesfatin-1'in kronik subkutanöz infuzyonla metabolik etkileri incelenmiş ve pankreas, mide ve barsakda prepronesfatin mRNA ve pronesfatin immünreaktivitesi bulunmuştur. Aynı çalışmada midede ve beyinde sirküle eden nesfatin seviyesinde ve prepronesfatin mRNA'da öğüne yanıtı olarak bir artış ve doyurulmanın indüklediği bir azalma saptanmıştır (185).

Nesfatin-1/NUCB2'nin fonksiyonu büyük oranda bilinmiyor olsa da, sekansı sıçanlar ve farelerden insanlara kadar yüksek oranda korunmuş olup bu özellik önemli bir biyolojik role işaret etmektedir. Bu role binaen keşfedildiğinden bu yana sürekli olarak yeni çalışmalar yapılmaktadır. Kemirgenlerin sindirim sisteminde nesfatin-1/NUCB2'yi inceleyen bir diğer çalışmada ise immünohistokimyasal ve HE boyama ile western blot yöntemi kullanılarak yine nesfatin-1/NUCB2 molekülünün olası ve yeni lokalizasyonları incelenmiştir (186).

İmmünohistokimyasal boyama, Nesfatin-1/NUCB2 immün reaktif (Nesfatin-1/NUCB2-IR) hücrelerinin pankreatik adacıkların ortak bölümünde, gastrik mukozal bezin alt üçte bir ve orta bölümünde ve duodenumun submuköz tabakasında bulunduğunu göstermektedir. HE boyaması ile de Nesfatin-1/NUCB2-IR hücrelerinin morfolojik yerleşim özelliklerinin temelde pankreasta adacık hücreleri, midede endokrin hücreler ve duodenumda Brunner bezleri olduğu saptanmıştır. Western blotlama ise, NUCB2 protein ekspresyonunun pankreas, mide ve duodenumda, özofagus, karaciğer, incebağırsak ve kolondan daha yüksek olduğunu ortaya çıkarmıştır (186).

Nesfatin-1/NUCB2-IR hücreleri pankreatik adacıkların merkezinde (ortasında) tespit edilmiştir; ancak pankreatik ekzokrin hücrelerde immunpozitiflik

tespit edilmemiştir. Nesfatin-1/NUCB2-IR hücreleri mide de ise sadece gastrik oksintik bezlerin alt üçte bir ve orta bölümünde ve duodenumun submukozasında (submukozal tabakadaki bezlerde) bulunmuştur. Kahverengi granüller şeklinde görülen Nesfatin-1/NUCB2-IR neredeyse özel olarak sitoplazmada yer almıştır; ancak nükleus veya hücre membranında bulunmamaktadır. Özofagus, karaciğer, incebağırsak veya kolonda Nesfatin-1/NUCB2-IR hücresi tespit edilmemiştir (186).

Ayrıca, HE boyaması kullanılarak Nesfatin-1/NUCB2-IR hücrelerinin özellikleri gözlemlenmiştir. Pankreastaki IR hücreleri adacık hücreleridir. Pankreasın histolojik kesitlerinde adacıklar koyu boyanan ekzokrin dokulardan oluşan bir bölge içerisine gömülü görece solgun boyanan hücre grupları şeklinde gözlenmiştir. Midede ise bunlar endokrin hücrelerdir ve bu hücreler şekil olarak yuvarlak, oval, üçgen, iğsi, mekik veya flask biçimindedir ve gastrik oksintik bezlerin bazal bölümündeki bazal membran ile glandüler hücreler arasında yerleşmişlerdir. Duodenumdaki submukozal bezlerse, farklı distal dalları bulunan epitelyal tübüllerden oluşan bileşik tübüler submukozal bezler olan Brunner bezleridir (186).

Nesfatin-1 ve prekürsörü NUCB2'yi hedef alan fare anti-nesfatin-1 monoklonal antikoru ile yedi sindirim organının ham proteinlerinin Western blot çalışması tam uzunluktaki NUCB2 proteinine (50 kDa) karşılık gelen bir bandı göstermiştir. Sprague-dawley (SD) ratlarında NUCB2 proteini pankreasta, midede ( $0.84 \pm 0.04$ ) ve duodenumda yüksek düzeyde eksprese edilirken özofagusta, karaciğerde, incebağırsak ve kolonda ekspresyonu düşük olarak saptanmıştır. Benzer bir ekspresyon paterni Kanser araştırma enstitüsü (ICR–Institute of Cancer Research) farelerinde belirlenmiş olup ancak pankreas, mide ve duodenumda NUCB2 ekspresyonu yüksek ve özofagus, karaciğer, incebağırsak ve kolonda ise ekspresyonu

düşük olarak tespit edilmiştir. Her bir immünpozitif organdaki (pankreas, mide ve duodenum) NUCB2'nin görece protein seviyeleri SD sıçanları ve ICR farelerinde immün negatif organlardaki (özofagus, karaciğer, incebağırsak ve kolon) seviyelerden anlamlı şekilde yüksek olarak belirlenmiştir (186).

İmmünohistokimyasal analiz de pankreatik ekzokrin hücrelerde anılan hücrelerin hiç bulunmadığını, ancak pankreatik adacıkların merkezinde bol miktarda Nesfatin-1/NUCB2-IR hücresinin bulunduğunu göstermiştir. Pankreastaki Langerhans adacıkları kan glukoz seviyelerini düzenlemektedir. Adacıklar dört türde sekretuar hücreden oluşur: glukagon üreten alfa hücreleri, insülin üreten beta hücreleri, somatostatin üreten delta hücreleri ve pankreatik polipeptidi içeren Pankreatik polipeptid (PP-Pancreatic Polypeptide) hücreleri. İlginç şekilde, bir adacık içerisindeki farklı hücre türleri rastgele dağılmamışlardır. Beta hücreleri adacığın merkezi bölümünde bulunmaktadırlar ve etrafında alfa ve delta hücrelerinin oluşturduğu bir katmanla çevrelenmişlerdir. Zikredilmekte olan çalışmada, nesfatin-1/NUCB2-IR hücrelerinin temelde adacıkların merkezi bölümünde yoğunlaştıkları belirlenmiştir. Bu nedenle, bu lokalizasyon temel alındığında, bunların beta hücreleri olduğu spekülasyonu ileri sürülmüştür. Bu spekülasyon, aynı zamanda fareler ve sıçanlarda insülin üreten beta hücrelerinin aynı zamanda nesfatin-1 immünreaktivitesi sergilediğini vurgulayan bir diğer temel çalışmayla uyumludur. Bu bulgular aynı zamanda nesfatin-1/NUCB2'nin karbonhidrat metabolizmasındaki muhtemel rollerine de dikkat çekmektedir (184,186).

Nesfatin-1/NUCB2'nin fonksiyonları bugün henüz büyük oranda bilinmiyor olsa da, sekansının sıçanlar ve farelerden insanlara kadar yüksek oranda korunmuş

olması bu molekülün oldukça önemli bir biyolojik role sahip olduğunu düşündürmektedir (186).

Yukarıda zikredilen çalışmada, tüm sindirim organlarında aynı şekilde 50-kDa NUCB2 proteini tespit edilmiştir ancak bu protein immünohistokimyasal yöntemlerle pankreas, mide ve duodenumda ölçülebilir miktarlarda tespit edilmiş olup, ilave olarak Western blot çalışmasıyla aynı dokularda tespit edilen yüksek NUCB2 protein seviyeleri ile de uyumludur. Nesfatin-1 82 aminoasitten oluşur ve öngörülen molekül ağırlığı 9.7 kDa'dır. Western Blot çalışmasında kullanılan antikor Nesfatin-1 ve prekürsörü NUCB2'yi hedef alıyor olmasına rağmen burada çalışılan tüm dokuların Western blotları sadece NUCB2'yi temsil eden yaklaşık 50 kDa ağırlığındaki tek bandı tespit etmiştir lakin 9.7 kDa ağırlığındaki esas bandı göstermekte başarısız olmuştur. Bu nedenle, daha önce Stengel ve arkadaşları tarafından açıklandığı üzere, bu çalışmada tanımlanan protein Nesfatin-1/NUCB2 olarak adlandırılmıştır (186).

Glisemik duruma uygun yanıtı saptamak için endokrin pankreasta yapılan bir diğer çalışmada ise öncelikle ekzokrin asinüsler ve kan damarlarında NUCB2 benzeri immün reaktivite gözlenmemiştir (112).

Pankreatik NUCB2'nin dağılımı ve regülasyonu araştırıldığında ise  $\beta$ -hücreleriyle sınırlı olan pankreas adacıklarında NUCB2'nin yaygın şekilde eksprese edildiği gösterilerek güncel raporlar hem doğrulanmış hem de genişletilmiştir. Öncelikle tip 2 DM modelinde adacıklara ait NUCB2'nin azaldığı gösterilmiştir. Şöyleki; beyin ve endokrin pankreasta sinyal moleküllerinin paralel ekspresyonu bir istisnadan ziyade bir kural olarak görünmektedir ve bu kural nöropeptidler, transkripsiyon faktörleri ve hücre içi sinyal mediatörlerinin yanı sıra sekretuar

süreçte yer alan proteinler içinde geçerlidir demek neredeyse mümkündür. Gonzalez ve ark. (2009) ve Stengel ve ark. (2009) tarafından yayınlanan güncel makalelerin yanı sıra bu çalışmada elde edilen veriler bunun NUCB2 için de geçerli olduğunu düşündürmektedir. Mevcut çalışmanın verileri sadece bir alt popülasyon yerine tüm sıçan  $\beta$ -hücrelerinin NUCB2-benzeri immünreaktivite (NUCB2-LI - NUCB2-Like Immunreactivity)'ye sahip olduğunu doğrulamaktadır. Glukagon içeren  $\alpha$ -hücrelerine ilaveten somatostatin (Delta-hücreleri) ve PP'e ait immünfloresansla gösterilmiş diğer adacık hücrelerinin NUCB2'den yoksun oldukları tespit edilmiştir ve bu bulgu NUCB2'nin spesifik ve insülinle eş ekspresyonu olabileceği fikrinin bir kez daha altını çizmiştir (112).

NUCB2'nin endokrin pankreastan salınıp salınmadığını değerlendirmek için, izole edilen sıçan adacıkları 3. 3 (düşük) ve 16. 7 (yüksek) mM (milimol) glukozda inkübe edilmiştir. Glukoz konsantrasyonları düşük düzeyden yüksek düzeye eleve edildiğinde Wistar rat adacıklarında (diabetik olmayan) NUCB2-LI salınımı hafifçe yükselmiştir. Ancak bu değişiklik dikkate değer olmakla birlikte aynı adacıklarda glukoz düzeyi değişimine yanıt olarak ortaya çıkan insülin yanıtının yanında daha küçük bir artış olarak kalmıştır (sırasıyla kontrollere göre %123 ve kontrollere göre % 816). Oysaki Goto-kakizaki (GK)ratlarında (diabetik rat adacığı)düşük glukoz düzeylerinde NUCB2 salınımı Wistar rat adacıklarından (diabetik olmayan) pekde önemli bir farklılık göstermemiştir. GK ratlarında NUCB2-LI salınımının, düşük glukoz konantrasyonları ile kıyaslandığında yüksek glukoz konsantrasyonlarında artma yönünde bir eğilim gösterdiği saptanmıştır. Ancak bu değişiklik istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir. GK rat adacıklarındaki insülin salınımı ise tipik

olarak daha önce rapor edilmiş tip 2 diabetik model insülin salınımı ile tamamen uyumlu olarak bulunmuştur (112).

Hem Wistar hem de GK sıçanlarında ise intraperitoenal oral glukoz testi (ipGTT) sonucunda, plazma immünreaktif-NUCB2 (ir-NUCB2) seviyeleri plazma glukoz konsantrasyonlarıyla ters bir ilişki gösteriyor gibi görünmüştür (112).

Yapılan gözlemlere ve deney sonuçlarına dayanarak, nesfatin-1 fragmanlarının kan-beyin bariyerini aştığı bulgusu (Pan ve ark. 2007, Price ve ark. 2007) ve serumda NUCB2-LI varlığı dikkate alındığında, anoreksijenik yönde ortaya çıkan merkezi sinir sistemi (MSS) etkilerinin (Oh-I ve ark. 2006, Stengel ve ark. 2009a) nöronlar tarafından lokal olarak üretilen santral NUCB2 proteiniyle neredeyse eşdeğer düzeyde beyne giren periferel NUCB2'den de kaynaklanabiliyor olabileceğini söylemenin cüretkar bir hüküm olmayacağı belirtilmiştir. Ancak GK ve Wistar ratlardaki sekretuar paternin incelenmesi ve  $\beta$ -hücre degranülasyonunun dikkate alınması durumunda ise nesfatin-1'in ana kaynağının pankreas olmayabileceğini vurgulamak gerektiği hatırlatılmıştır (112).

Bununla birlikte, hatta daha da önemlisi, mevcut çalışmada yer alan ve önceki literatürden elde edilen çeşitli verilerin nörohormonal odaklardan sekrete edilen NUCB2 veya nesfatin proteinleri konseptiyle uzlaştırılmasının güç olduğu belirtilmiştir. Çünkü öncelikle, in vitro adacık preparatlarındaki hücre dışı seviyeler glukoz yüklemesinin ardından hafif düzeyde artmış olsa da bu artış insülin için gözlenenden fark edilir şekilde daha düşüktür (sırasıyla %123 ve %816) ve zikredilen bulgu  $\beta$ -hücrelerinin degranülasyonunu uyarmaya yönelik bu standart protokolün önemli ölçüde NUCB2 salınımına yol açmadığını göstermiştir (112).

Yine yukarıda detaylandırılan ve tezimizin ana fikrine oldukça katkı ve kanıt sağlayan çalışmalara (112,131,186) ilave olarak dikkate değer bir diğer çalışma ise santral nesfatinin gece gıda alımını azaltmasının yanısıra öğün miktarını azaltması ve daha önemlisi öğün aralarını uzatması ile ilgili olan makaledir (187).

Belirtilen çalışmada nesfatin-1'in icv enjeksiyonundan sonraki 1-4 saatlik dönemde gıda alımını azalttığı dikkate alınarak beslenme mikroyapısının analizi gerçekleştirilmiştir. İntrakranioventriküler uygulama plasebo ile karşılaştırıldığında, icv enjekte edilen nesfatin-1 yemek sıklığını, nöbet-kriz sıklığını ve öğünün büyüklüğünü anlamlı şekilde azaltırken öğün süresi anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Nesfatin-1 enjekte edilen fareler, istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamakla birlikte, plasebo alan farelerle kıyaslandığında toplam öğün süresi ve öğünlerde harcanan süre yönünden azalma lehinde bir eğilim göstermiştir. İntrakranioventriküler nesfatin-1 ile tedavi edilen fareler icv plasebo alanlarla kıyaslandığında anlamlı şekilde bir öğünler arası sürenin daha uzadığı görülmüştür. Bunun yanı sıra plasebo ile karşılaştırıldığında 1-4 saatlik dönemin tamamında yeme hızı azalmıştır. İlaveten, icv nesfatin-1 plaseboyla karşılaştırıldığında enjeksiyon sonrası 1-4 saatlik dönemde tokluk oranını anlamlı şekilde artırmıştır (187).

Paraventriküler çekirdek ve NTS'den kaynaklanan nöronal projeksiyonlar gastrik refleksi regüle etmektedir. Nesfatin-1'in merkezi uygulaması doza bağlı olarak gastrik boşaltmayı ve gastroduodenal motiliteyi engellemektedir. Dahası, nesfatin-1 dorsal motor vagus çekirdeğinin aktivasyonu yoluyla vagal uyarımın tetiklediği gastrik asit salgılanımını engellemektedir. Buna karşılık, NUCB2/nesfatin ekspresyonu yapan gastrik X/A benzeri hücrelerde gastrointestinal fonksiyonların regülasyonunda yer almaktadır. Açlık, NUCB2/nesfatin-1 kan seviyelerinde eş

zamanlı değişikliklerle birlikte gastrik X/A benzeri hücrelerde NUCB2/nesfatin-1 ekspresyonu düşüşüne yol açmaktadır. mTOR kompleks sinyalizasyon yolunun gastrik hücrelerde NUCB2/nesfatin ekspresyonunda beslenmeyle tetiklenen değişiklikleri regüle ettiği öne sürülmüştür (113).

Nesfatin-1'in merkezi uygulaması karaciğerdeki IRS-1/ Protein kinaz B(Akt)/AMPK/mTOR kompleks 2 yolunu aktive eden insülin reseptörü fosforilasyonunu uyararak diyetle tetiklenen obezitede hepatik glukoz üretimini baskılamaktadır; bu da, insülin duyarlılığının gelişmesiyle sonuçlanır (113).

Nukleobindin-2 tedavisi; nötral lipid birikimini ve adiposit diferansiyasyonu için çeşitli belirteç/gösterge/markers genlerinin ekspresyonunu PPAR $\gamma$ , Adiposit protein 2 (aP2- adipocyte Protein 2; primer olarak adiposit ve makrofajlarda ekspresse edilen ve yağ asitleri için taşıyıcı görevi yapan bir protein) ve adipsin (diabette  $\beta$  hücre fonksiyonlarının düzenlenmesine katkı sağlayan bir adipokin) azaltmıştır. Adiposit diferansiyasyonunda salgılanan Nukleobindin-2'nin fonksiyonunu incelemek için, kültürlenmiş 3T3-L1 hücreleri kullanılmıştır. Nukleobindin-2 temel olarak kültürlenmiş hücre ortamına salgılandığında, siklik AMP (cAMP -Cyclic AMP) içeriği ve insülin uyarımlı cAMP yanıt elementi bağlayıcı protein (CREB - cAMP response element-binding protein) fosforilasyonu anlamlı olarak azalmıştır. Diğer tarafta ise ilgi çekici bir tezat olarak intrasellüler olarak aşırı üretilen (overekspresse edilen - overexpression) Nukleobindin-2; cAMP içeriğini ve CREB fosforilasyonunu etkilememiştir. Bu veriler bir araya getirildiğinde salgılanan Nukleobindin-2'nin cAMP üretimi ve insülin sinyalinin inhibisyonu yoluyla adiposit differansiyasyonunun bir supresörü (baskılayıcısı) olduğu ileri sürülebilir (188).

Ancak Nesfatin-1 yoluyla intraselüler sinyalizasyonun moleküler mekanizması henüz çözümlenmemiştir. Ancak sınırlı çalışmalarda sınırlı düzeyde farklı nöronal hücre dizilerinin Nesfatin-1'e tepki verme yetileri araştırılmış ve ayrıca Nesfatin-1'in sinyal transdüksiyon yolağı açıklanmaya çalışılmıştır. Sonuç olarak hem nesfatin-1'in hem de M30'un; bir fare nöroblastoma hücre dizisi olan NB41A3 içerisinde cAMP tepki/yanıt elemanı (CRE - cAMP response element) 'nin aktivitesini anlamlı şekilde arttırdığı bulunmuştur. Aynı zamanda western blotlama analizleri; nesfatin-1 ve M30'un intrasellüler cAMP seviyelerini değiştirmeden anlamlı şekilde CREB fosforilasyon seviyelerini arttırdığını ortaya koymuştur. Ayrıca MAPK kinaz inhibitörü ve bir L-tipi kalsiyum Ca<sup>++</sup> kanal blokörünün; M30'dan kaynaklanan CREB fosforilasyonunu ortadan kaldırdığı (durdurduğu) gösterilmiştir. Ayrıca nesfatin-1'in fare hipotalamusunun ve NB41A3 hücrelerinin membran fraksiyonlarına doymuş bir şekilde bağlandığı da ortaya konmuştur. Bu bulgular bir araya getirildiğinde NB41A3 hücrelerinin ve fare hipotalamusunun hücre yüzeyinde nesfatin-1'e özgü reseptörün varlığını belirtmektedir. Bu çalışma özgün reseptörü yoluyla Nesfatin-1'in CREB fosforilasyonunu indüklediğini ve böylece nöronlardaki intraselüler sinyalizasyon kaskadını da aktive ettiğini vurgulamaktadır (189).

Nukleobindin-2'nin biyolojik bir fonksiyonu olup olmadığını belirlemek için, insan insülin ve EGF (Epidermal büyüme faktörü - Epidermal growth factor) reseptörlerini eksprese eden kültürlenmiş hücreleri ve 3T3-L1 hücreleri kullanılarak yapılmış bir çalışmada ise Nukleobindin-2 ekspresyonundaki azalma; EGF uyarımlı MAPK kinazı ve ERK fosforilasyonunu inhibe etmiştir. Bu veriler bir araya getirildiğinde göstermektedir ki; nukleobindin-2,EGF-uyarımlı MAPK kinaz/ERK

sinyalizasyonunu, hücre proliferasyonunu ve adiposit diferansiyasyonunu regüle etmektedir (188, 190).

Enerji durumundaki değişiklikler esnasında gastrik mTOR sinyalizasyonu ile nesfatin-1/NUCB2 arasında paralel bir ilişki gözlenmiştir. Hem mTOR aktivitesi hem de gastrik nesfatin-1/NUCB2; açlık ile aşağıya doğru regüle edilmiş ve tekrar beslenme ile bazal seviyelere dönmüştür. Yüksek yağlı diyet kaynaklı obez farelerde gastrik mTOR sinyalizasyonu ve nesfatin-1/NUCB2 artmıştır (191).

Yapılan çalışmalar göstermektedir ki hipotalamusta mTOR sinyalizasyonu, enerji homeostazının kontrolüyle yakından ilişkilidir. DMNV nöronlarında fosforile-mTOR olduğu tespit edilmiştir ve seviyeleri, enerji deprivasyonu ile artmıştır. Rapamisin; önemli düzeyde mTOR aktivitesini inhibe etmiştir ve 4. Ventriküle uygulandığında gıda alımını azaltmıştır. DMNV nöronlarının ghreline olan maruziyeti; mTOR'un fosforilasyonunu arttırmıştır. Ghrelin'in dördüncü ventrikül enjeksiyonu, gıda alımını önemli derecede arttırmıştır. 15 dakika boyunca rapamisin ile ön tedavi, ghrelin'in oreksijenik etkisini atenüe (zayıflatmıştır) etmiştir. Nesfatin-1'in 4. intraserebroventriküler enjeksiyonunu takiben mTOR'un fosforilasyonunda azalma gözlenmiştir. 4. üncü ventriküle (icv) enjeksiyonu uygulanması halinde nesfatin-1; kontrol ile kıyaslandığında gıda alımını baskılamıştır. Nesfatin-1'in anoreksijenik etkisi 15 dakika boyunca lösin ile uygulanan ön tedavi ile belirgin şekilde atenüe edilmiştir. Tüm bu çalışmalar, DMNV nöronlarındaki mTOR sinyalizasyonunun, gıda alımının modülasyonu için hem beslenme hem de hormonal sinyalleri düzenlediğini ortaya koymuştur (192).

Yakın zamanda yapılan çalışmalar; mTOR'un bu endokrin hücrelerde kritik düzenleyici bir molekül olduğu ve aktivitesinin, ghrelin ve nesfatin-1/NUCB2'nin

üretimi ile bağlantılı olduğu konusunda kanıtlar sunmuştur. Bu bulgular; gastrik mTOR'un, ghrelin ve nesfatin-1/NUCB2 modülasyonu yoluyla gıda alımının ve tüm enerji metabolizmasının regülasyonuna dahil olduğunu ortaya koymaktadır. Yine bu çalışmalara dayanılarak ilk olarak organizmanın enerji durumu ile nesfatin-1/NUCB2 seviyeleri arasında ilişki kurulmuş ve ardından gastrik yakıt sensörü olarak mTOR hakkında yeni bulgular elde edilmeye çalışılmış ve m-TOR'un nesfatin-1/NUCB2 ekspresyonunun regülasyonundaki rolü tartışmaya açılmıştır (108).

Bunlardan ayrı olarak çok yakın zamanlarda, metabolizmayı modüle etmek için ghrelin, nesfatin ve endokannabinoid gastrik sistemler arasındaki etkileşime aracı olan gastrik intrasellüler mTOR/S6K1 yolunun rolü de dâhil olmak üzere enerji dengesini sağlayan biyolojik düzeneği açıklayıcı ve mide-beyin bağlantısını tanımlayan yeni mekanizmalar tarif edilmiştir (193).

Yine elde edilen bulgular; nesfatin-1'in fare adacık  $\beta$ -hücrelerinde L-tipi  $Ca^{++}$  kanalları yoluyla  $Ca^{++}$  influksunu kolaylaştırarak glukoz-uyarımlı insülin sekresyonunu arttırdığını göstermektedir (194).

Son olarak, aynı hücrede ghrelinden farklı veziküllerde nesfatin-1'inde tespit edilmesi; bu hücre tipinin fonksiyonunu yalnızca beslenmeyi uyarıcı sınıflamasından çıkarıp hem beslenmeyi uyarıcı hem de beslenme inhibisyonu yapan bir hücre statüsüne ulaştırmıştır. Bu nedenle bu X/A benzeri hücrenin; yalnız açlığa değil aynı zamanda tokluğa da aracılık eden dual özellikler taşıyan özgün bir rol oynadığı veya oynuyor olabileceği ileri sürülebilir (195).

Ayrıca midenin NUCB2 geninden türetilen yeni anoreksijenik hormon nesfatin-1'in temel kaynağı olarak tanımlanması ve gastrik X/A benzeri hücre ürünlerinin beslenme için hem stimülatör hem de inhibitör olmaları, bu hücrenin ve

midenin besinlerin ilk olarak gastrointestinal kanalla temas ettiği en kritik lojistik konumda yer aldıkları ve gıda alımının özgün (eşsiz) dual bir regülatörü olarak hareket ettikleri varsayımını da desteklemektedir (196).

Sonuç olarak nesfatin-1 immünoreaktivitesi, salgılanan peptide bağlı olarak iştahın stimülasyonu ve inhibisyonu üzerinde farklı etkilere sahip bu hücre tipinin ikili rolüne olanak sağlayacak şekilde insan gastrik X/A-like hücrelerde ghrelin ile de kolokalizedir. Bu iki peptidin ekspresyonu, nesfatin-1'de artışın ve artan VKİ ile ghrelin immünoreaktivitesinde düşüşün olduğu obezite şartları altında farklı şekilde regüle edilmektedir; bu da daha fazla vücut ağırlığı artışını önleyebilen adaptif ekspresyon değişikliğini işaret etmektedir (197).

Yeni keşfedilen anoreksijenik peptit nesfatin-1'in besin alımı ve enerji homeostazını regüle ederken merkezi seviyede fizyolojik bağlantılara sahip olduğu ortaya konmuştur. Öte yandan, daha lokal gastroenterik bir seviyede önemli fonksiyonlara sahip olduğuna dair kanıtlarda her geçen gün artmaktadır. Gastrik fundus ve ileoçekal kapakta nesfatin-1 immünreaktif endokrin hücreleri tespit edilmiştir. Nesfatin-1 immünpozitif nöronlar ve sinir lifleri esasen enterik pleksuslarda da gözlenmiştir. Western blot analizi, rektum dışındaki analiz edilen tüm gastrointestinal kanallarda immünreaktif bantlar göstererek immünohistokimyasal gözlemleri doğrulamıştır. Domuz sindirim sistemindeki nesfatin-1 immüdedeksiyonu, nesfatin-1'in gastrointestinal seviyede oynadığı rolün önemini ortaya koymaktadır (198).

### **3.5.8. Nesfatin-1'in fonksiyonları**

#### **3.5.8.1. Santral etkileri**

Açlık ve tokluk; periferde (temel olarak gastrointestinal kanalda) veya doğrudan beyinde üretilen birkaç gıda alımı stimülatörü (oreksijenik) ve birçok inhibitör (anoreksijenik) faktör tarafından karmaşık bir şekilde regüle edilmektedir. Beyin içerisinde hipotalamus; gıda alımı düzenleyici faktörlerin üretim alanı olarak çok önemli bir rol oynar. Daha önemlisi bu alan; gıda alımını ve uzun süreli vücut ağırlığını düzenlemek için periferik ve santral sinyalizasyon faktörlerini entegre eder. Bu düzenleyici yollar ile ilgili bilgilerimiz statik değildir ancak yeni faktörler oldukça hızlı bir şekilde eklenmektedirler ve ayrıca hali hazırda bilinen transmitterlerin yukarı ve aşağı akışlı sinyalizasyon yolları henüz tam anlamıyla ortaya konmamıştır (150).

LHA'daki lezyonların, hipofaji ve kilo kaybına neden olduğu bildirilirken Vento medial hipotalamik alan (VMH)'daki lezyonların ise hiperfajik obeziteye neden olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle, yeme merkezinin LHA'da olduğu ve tokluk merkezinin VMH'de olduğu varsayılmıştır. Bu yapının lezyonlarından kaynaklanan obezite bu regülasyonun bir sonucu gibi görünürken, VMH glukagon sekresyonunda inhibitör bir rol oynadığından tokluğun doğrudan regülasyonunda VMH'nin birden fazla rolü vardır (117).

Nesfatin-1, bir tokluk faktörü olarak hareket eder. Nesfatin-1, hem kısa süreli hem de uzun süreli olarak iştahı bastırır ve enerji dengesini regüle eden beyin merkezlerindeki nöronlar tarafından oluşturulur ve melanokortin yolları aracılığıyla hareket edebilir. Nesfatin-1'in keşfi; deponun dolu olduğunu beyne

bildiren çok sayıdaki kimyasal haberciler topluluğuna yapılmış en son ilavedir (187,200).

Hipotalamik NUCB2'nin posttranslasyonel olarak işlenmesinin nesfatin-1, nesfatin-2 ve nesfatin-3 ürünleri ile sonuçlanabileceğini bildiren raporlar ile beyne enjekte edilen nesfatin-1'in ve tam uzunluktaki NUCB2'nin leptin reseptör yoksunu Zucker sıçanları da dahil olmak üzere kemirgenlerde karanlık faz gıda alımını potent şekilde inhibe ettiğini gösteren raporlar çakışmaktadır (201,202).

Kemirgenlerdeki yemek yeme dönemine tekabül eden karanlık faz esnasında rol alan santral gıda alımı düzenleyici yollardaki NUCB2/nesfatin-1'in bu karmaşık yerleşimi, açlığa verilen oreksijenik tepkiden farklı olarak, nokturnal gıda alımının modülasyonunda nesfatin-1'in rolünü işaret etmekte ve vurgulamaktadır (203).

Kemirgenlerde karanlık faz (DP - Dark phase) gıda alımı çalışmalarının yanısıra, aydınlık faz (LP - Light phase) gıda alımı ile ilgili çalışmalarda yapılmıştır. Bu çalışmalarda günlük beslenme paterninin sirkadien ritmi esas alınmış ve obeziteninde bozulmuş bir beslenme ritmi modeli olduğu düşünülerek, obez deneklerde çalışmalar yapılmıştır. Ancak sirkadien beslenmenin altında yatan mekanizma çok az bilinmektedir. Bu bilgiye rağmen, halihazırda PVN hormon salınımı ve otonomik sinirin sirkadien aktiviteleri beslenme için düzenleyici bir merkezin varlığı lehine kanıt olarak değerlendirilmektedir. Buna dayanarak PVN içinde lokalize NUCB2/nesfatin-1 ekspresyonunun diüurnal ritim gösterip göstermediğini ve gösteriyorsa, bu durumun sirkadiyan beslenmeye ilişkin olup olmadığını açıklığa kavuşturma amacıyla çalışmalar yapılmıştır. LP esnasında (karanlık faz (dark phase) değil) anti-nesfatin-1 IgG ile PVN NUCB2/nesfatin-1'in

immünonötralizasyonu gıda alımını arttırmıştır. Ve PVN'deki NUCB2 mRNA ekspresyonunun gıda alımının supresyonuna paralel olarak erken LP (aydınlık faz) esnasında arttığı gösterilmiştir. Bu bulgularda (sirkadien beslenmeye katkıda bulunarak LP gıda alımını kısıtlamak için bir faktör olarak görev yapabilen) erken LP artışı ile karakterize PVN NUCB2 mRNA ekspresyonunun diüurnal ritmini ortaya koymuştur. Ayrıca bozulmuş NUCB2/nesfatin-1 ritminin Zucker-yağlı sıçanlarda disregüle beslenme paterni ve hiperfajjiyle ilgili olabileceği belirtilmiştir (204). Bu sonuçlara dayanarak NUCB2'nin aynı zamanda hipotalamusun paraventriküler çekirdeğinde, anoreksijenik etkisini göstermesinin yanısıra sıçanlardaki beslenmeyle ilişkisinin tersine bir şekilde, bu bölgede diüurnal ritimli metabolik durum değişikliklerindeki düzenleyebiliyor olabileceği saptanmıştır (199).

c-fos geni hücrede herhangi bir uyarana karşı ilk yanıt veren genlerdendir. Hızlı erken cevap geni (IEG - Immediate-Early Gene) veya Hızlı yanıt geni (ERG - Early Responses Gene). Bu gruba giren genler hücre büyümesi (growth), çoğalması (proliferasyonu), farklılaşması (differansiasyon) ve hücrenin programlı ölümü (apoptosis) ile ilgili transkripsiyon faktörleridir.

c-fos bazı uyarı çeşitlerini takiben ilgili nöron topluluklarının çekirdeklerinde Fos proteinlerini uyarır. Bu yüzden c-fos gibi IEG'lerin ekspresyonunun merkezi sinir sisteminde nöronal aktiviteyi yansıtan bir model olduğu düşünülür ve nöronal aktivite göstergesi olarak kullanılırlar. c-fos Transkripsiyonu çok çeşitli mitojenler ve farklılaşmayı uyaran maddeler tarafından uyarılabilir ve bağımsız olarak yeni protein sentezi meydana getirir. Bu yüzden bu tür genler protoonkojenler ve bunların ürünü olan proteinler de onkoproteinler olarak adlandırılırlar (205).

Ağızdan akut metformin tedavisi gastrik boşaltmayı yavaşlatmış ve öğün boyutunu küçültmüştür ancak leptinden bağımsız bir biçimde öğün sayısını düşürmemiştir ve leptine bağımlı bir biçimde geçici olarak enerji harcamasını azaltmıştır. Metformin vagal afferentlerden bağımsız bir şekilde özel olarak beyin sapındaki merkezi devreleri aktive etmiştir. Son olarak, POMC nöronları seyrek olarak aktive edilmiş görünürken, c-Fos pozitif hücrelerin büyük bir kısmının bazıları Tirozin hidroksilaz (TH) ekspresyonu yapan nesfatinerjik nöronlar olduğu raporlanmıştır. Bütünüyle bu bulgular, metforminin beyin sapı devrelerini aktive ederek doygunluğu değiştirdiğini göstermekte ve NUCB2/nesfatin-1'in metforminin bu etkisinde yer alıyor olabileceğini akla getirmektedir (206).

Oluşturulan deneysel modellerde nesfatin-1 glukoz inhibitör (GI) nöronların çoğunu engellemiş ve dorsal vagus kompleksi (DVC - Dorsal vagal complex)'deki glukoz uyarıcı (GE) nöronların çoğunu harekete geçirmiştir. Nesfatin-1 gastrik distansiyon inhibitör nöronların %88,9'unu engellemiş ve gastrik distansiyon uyarıcı nöronların %76,2'sini harekete geçirmiştir. Dolayısıyla, nesfatin-1 DVC'deki glukoz duyarlı nöronların eksitabilitesini modüle ederek besin alımını kontrol edebiliyor olacağı düşünülmüştür (207).

Ayrıca, nesfatin-1 başlangıçta beyinde potent anoreksijenik etkileri olan bir peptit olarak tanımlanmış olsa da, çeşitli çalışmalar ile desteklenen bulgular ile, nesfatin-1'in anoreksijenik etkilerinin susuzluğu azaltmak üzere primer etkiyi gerçekleştirmek için bizzatihi sekonder bir durum olmasında mümkün olduğu bildirilmiştir (208). Nitekim nesfatin-1 enjekte edilen sıçanlar daha az su tüketmişlerdir. Bu nedenle nesfatin-1'in, sıvı ve elektrolit homeostazisinde de rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (117).

Nesfatin-1 molekülü; ARC içerisindeki G protein-kuplajlı reseptörün ve NPY/AgRP nöronlarının inhibitör hiperpolarizasyonundan ve paraventriküler çekirdeklerdeki melanokortin sinyalinin kaynaklanan sitofizyolojik etkiler üretir. Özsavcı ve ark., oksidatif stres profili üzerinde intraperitoneal nesfatin uygulamasının etkilerini ve subaraknoid kanama (SAK) olan sıçanlarda nesfatinin kan-beyin bariyeri boyunca geçişini ve protektif etkilerini incelemiş ve ortaya koymuşlardır. Nesfatin-1 uygulamasının TNF- $\alpha$ , 1 beta, IL-6 ve protein kaspaz 3 seviyelerini indirgediğini bildiren yazarlar, nesfatin-1'in santral sinir sisteminde anti-apoptotik ve anti-inflamatuvar rol oynayarak nöroprotektif bir görev sergilediği sonucuna varmışlardır. Aynı zamanda LPS enjeksiyonu ya da toksin uygulamaları da, PVN, SON ve NTS'da c-Fos+/nesfatin-1+ nöronlarının sayısında artışla sonuçlanmıştır ve ARC içerisinde ise daha az artış söz konusu olmuştur. Dolayısıyla, santral olarak salgılanan nesfatin-1'in endotoksemik anoreksiyaya neden olan nöral mekanizmalara katkıda bulunabileceği tartışılmıştır (117).

(Aşırı) Açlık PVN ve SON'daki NUCB2 geni ekspresyonunu anlamlı ölçüde düşürmektedir; (aşırı) açlık ve tekrardan besleme durumları nesfatin-1 nöronları c-Fos ekspresyonunda (nöronal aktivasyonun bir göstergesi) sırasıyla düşüş ve artış meydana getirmektedir. SON yakın zamanda iştah regülasyonunda görev aldığı öne sürülen bir bölgedir ve bu bölgedeki beslenme davranışına yanıt olarak aktive edilen nöronların çoğu nesfatin-1 nöronlarıdır. Bu bulgular, nesfatin-1'in besin alımı regülasyonuna katıldığına ve nöronal aktivitesinin iştah durumlarından etkilendiğine dair kanıtlar sağlamaktadır (113).

Stres iştahı regüle eden majör bir tetikleyicidir ve belirli beyin nükleuslarında nesfatin-1 nöronlarının aktivitelere aracılık etmektedir. Güçlü bir

stres tepkisine neden olan abdominal cerrahi Locus coeruleus (LC), Raffe pallidum (RPa), Edinger-Westphal nükleusu (E-W), Zona incerta (ZI), Ventro lateral medulla (VLM), SON ve PVN dâhil olmak üzere belirli beyin nükleuslarının nesfatin-1 nöronlarında c-Fos ekspresyonunu aktive etmektedir (veya immünhistokimya ile gösterilmiştir). Buna ek olarak, periferik enflamatuar bir sinyal olarak görülen lipopolisakkaritin periferik enjeksiyonu NTS, SON ve PVN'deki nesfatin-1 nöronlarında c-Fos ekspresyonunu aktive etmektedir. Akut kısıtlayıcı stres SON ve PVN gibi hipotalamik nükleuslardaki ve NTS, LC ve VLM gibi ekstrapotalamik nükleuslardaki nesfatin-1 nöronlarını uyarmaktadır. Besin kısıtlaması programıyla eğitilmiş kemirgenler nesfatin-1 nöronlarının kısıtlayıcı stresle de aktive edildiği RPa'da c-Fos ekspresyonu aktivasyonu sergilemektedir. Bununla birlikte, kısıtlayıcı stres ürokotin-1 ve CART'ın kolokalize olduğu ve eş zamanlı olarak aktive edildiği E-W nükleusunda nesfatin-1 nöronlarını aktive etmektedir. E-W nükleusu beslenme davranışında görev alıyor olmasına rağmen (aşırı) açlık bu nükleustaki nesfatin-1 ekspresyonunu etkileyemez. Nesfatin-1'in merkezi enjeksiyonu anksiyete davranışını ortaya çıkarabilir. Nesfatin-1'in PVN'de anoreksijenik fonksiyonunun yanı sıra strese tepki fonksiyonunu ortaya çıkaran CRH ekspresyonu yapan nöronları aktive ettiğini belirtmek yerinde olacaktır. Bu doğrultuda, bir tip 2 CRH reseptör antagonisti nesfatin-1'le tetiklenen anoreksiyayı önlemektedir. Bu bulgular, merkezi ve periferik stres etkenlerinin besin alımıyla ilişkili olan biliş, duyuş ve/veya ödül davranışını kontrol etmek için beyin nükleuslarındaki nesfatin-1 nöronlarını aktive ettiğini göstermektedir (117,113).

Aslında perifer bir etki olarak değerlendirmek daha doğru olsa bile üzerinde durulması gereken bir nokta daha vardır. Periferden gelen sinyaller iştahı kontrol

etmek için beyindeki iki farklı nükleusa iletilmektedir: Hipotalamustaki ARC ve beyinsapındaki NTS. Leptine benzer şekilde, nesfatin-1'in in vitro uygulaması ARC'nin oreksijenik NPY nöronlarında membran eksitabilitesini engellemektedir. Ancak nesfatin-1'in ARC'deki NPY nöronlarıyla kolokalize olup olmadığı bilinmemektedir. ARC'de, mTOR fosforilasyonunun %59'u nesfatin-1 nöronlarında meydana gelmektedir. Bu da, ARC'deki nesfatin-1 nöronlarının lüsin ve yağlardan periferik sinyalleri alabileceğini göstermektedir zira bu sinyaller AMP'yle AMPK'yı baskılar ve iştahı azaltmak için ARC'de mTOR fosforilasyonunu uyarır (113).

Yine NUCB2'yi hedefleyen Küçük veya 'u' şeklinde, viraj gibi kıvrılan RNA (shRNA - Small hairpin RNA or short hairpin RNA) 'yı kodlayan Adeno bağlantılı virüs (AAV -Adeno associated virüs) vektörleri kullanılarak (AAV-NUCB2-shRNA), PVN NUCB2/nesfatin-1'in leptin etkimesindeki rolü incelenmiştir. İn vivo ve in vitro leptinle tedavi PVN'de NUCB2 mRNA ekspresyonunu belirgin bir biçimde arttırmıştır. Leptinin periferik ve merkezi enjeksiyonları AAV-NUCB2 verilen farelerde besin alımını anlamlı ölçüde engellemeyi başaramamıştır. Bu bulgular, PVN NUCB2/nesfatin-1'in leptin tarafından doğrudan hedeflendiğini ve anoreksijenik etkisini ortaya çıkardığını göstermektedir (209).

Sıcaklık üzerindeki etkileri; santral ya da periferik olarak uygulanan Nesfatin-1; sıcaklıkta doza bağlı bir artışa neden olur ve bu durum uygulama şekline göre değişkenlik gösterir. Soğukla aktive edilen NUCB2/nesfatin-1 (yanlış (yalancı)pozitif); beynin çeşitli kısımlarındaki çekirdeklerin soğuğa adapte olmasını sağlamaktadır. Preprotirotropin salgılayıcı hormon ile kolokalize olarak NUCB2/nesfatin-1; soğuğa tepki veren nöronlarda soğuğa ilişkin değişikliklere

neden olur. Diğer bir deyişle NUCB2/nesfatin-1 nöronları; soğuğa karşı duyarlıdır ve termoregölasyonda kritik rollere sahiplerdir. Bu sıcaklık değişikliğinin altında yatan asıl neden bilinmemesine rağmen, bu durumun enerji tüketimi ve korunmasında NUCB2/nesfatin-1'in rolüyle ilişki olduğu varsayılmaktadır (117, 210).

Stres üzerindeki etkileri; akut sınırlayıcı stres; PVN, SON ve NTS'deki NUCB2/nesfatin-1 nöronlarının farklı bölgelerini değişken şekilde aktive eder. Çeşitli stres paradigmlarına tepki verilmesiyle ilişki olduğu bilinen (farelerin) Edinger-Westphal çekirdeğindeki non-pregangliyonik alanda NUCB2/nesfatin-1, CART ve ürokortin-1'i koeksprese eden bir nöron alt kümesi aktive edilmiştir. Bu gözlemler, nesfatin-1'in stres koşulları altında verilecek adaptasyon tepkileri için aktive edilen efektör ve nöropeptit repertuarının bir parçası olabileceğini düşündürmektedir. Yapılmış olan diğer bir çalışmada ise nesfatin-1 icv olarak enjekte edildiğinde; hipotalamus-hipofiz-adrenal bez aksının majör elementleri olan Adrenokortikotropin (ACTH) ve kortikosteron'un (her ikisinin birden) dolaşım seviyelerinin arttığı saptanmıştır. Ayrıca, bilateral adrenalectomi; PVN'de NUCB2 mRNA'nın ekspresyonunu arttırmıştır. Bu veriler; santral nesfatin-1'in stres ekseninin kontrolünde rol aldığını ve NUCB2/nesfatin-1 ekspresyonunun, adrenal bezin ana sekretuar ürünlerinin negatif feed back regölasyonuna tabi olduğunu göstermektedir. Beyindeki NUCB2/nesfatin-1 sinyali aynı zamanda nesfatin-1'in icv enjeksiyonu sonrasında ortalama arteryel basıncın elevasyonu gibi stres adaptasyonuna ilişkin olan kardiyovasküler tepkileri de modüle etmektedir. Nesfatin-1'in bu hipertansif etkilerinin santral oksitosin-melanokortin yolağı yoluyla meydana geldiği iddia edilmiştir (117).

Sempatik Aktivasyon; Leptin sempatik eksitasyonu tetiklemektedir ve nesfatin-1 PVN ve NTS'deki tirozin hidroksilaz ile kolokalize olmaktadır ve bu durumda, nesfatin-1'in beyindeki sempatik sinir tonusunu etkilediğini göstermektedir. Bu gözlemlere uygun olarak, nesfatin-1'in merkezi uygulaması doza bağlı ortalama arteriyel basınç uyarımına yol açmaktadır ve bu uyarım bir MCR  $\frac{3}{4}$  veya oksitosin reseptörü antagonisti tarafından engellenmektedir.

Eş zamanlı olarak, nesfatin-1 vücut ısısında bir artışı tetiklemektedir. Nesfatin-1'in NTS'ye mikroenjeksiyonu oksitosinerjik nöronlar tarafından regüle edilen kan basıncı ve kalp hızında artışlara yol açmaktadır. Kan basıncındaki bu artışın nesfatin-1'in mezenterik arterdeki düz kasların nitroprussitle tetiklenen gevşemesi üzerindeki doğrudan inhibitör etkisinden kaynaklanıyor olabileceği belirtilmiştir (113).

Elde edilen veriler nesfatin-1'in, uyku düzenlenmesinde de potansiyel olarak yeni bir faktör olduğunu göstermektedir ki bu durum aynı zamanda depresyonun patomekanizmasında nesfatin'in rolünün daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir (211,212).

Aynı zamanda yapılan çalışmalara dayanarak nesfatin-1'in santral melanokortin sistemini aktive ettiği ve böylece gıda ve su alımının inhibisyonuna ve ortalama arteriyel basınçta artışa neden olarak santral oksitosin sistemi üzerinden hareket ettiğini ve adeta seri nöronal devre gibi çalıştığını söylemek mümkündür (213).

Yine yapılan çalışmalarda beslenmenin nesfatin-1-kaynaklı inhibisyonunun, oreksijenik NPY nöronlarının inhibisyonu aracılığıyla gerçekleşiyor olabileceği ileri sürülmüştür (214).

Nesfatin-1; test edilen dopaminerjik nöronların çoğunluğu üzerinde hücrelerin huzur halinde (resting membran potansiyeli-istirahat membran potansiyeli) bir hiperpolarizasyon üretebilir (215).

Nesfatin-1'in nükleus ambiguusun kardiyak vagal nöronlarını aktive ederek kalp hızını düşürdüğünü tespit edilmiştir (216).

NTS yerleşimli NUCB2/nesfatin-1 nöronlarının gastrik distansiyona karşı duyarlı olduğunu ve gıda alımı sonrasında tokluk sinyaline katkıda bulunabileceğini ileri sürmektedir (217).

Ayrıca yapılan çalışmalarda nesfatin-1'in, subfornikal organ (SFO) nöronlarının membran potansiyelini etkileme gücü olduğu ortaya koyulmuş ve SFO, nesfatin-1'in beslenme davranışını ve kardiyovasküler kontrolü regüle edebileceği potansiyel bir alan olarak tanımlanmıştır (218).

### **3.5.8.2. Periferik etkileri**

Nesfatin-1/NUCB2 aynı zamanda periferik dokularda lokalizedir ve çoklu süreçlerde glukoz ve enerji metabolizmasını düzenler. Nesfatin-1; enerji depolanmasına katkıda bulunarak hem pankreatik  $\beta$ -hücrelerinden insülin salımını hem de karaciğerde insülin etkisini artırır (219).

Glukoz ve insülin üzerindeki etkiler; İnsülin direnci ve insülin üretim miktarı hücrelerin glukoz kullanımını üzerinde doğrudan bir etkiye sahiptir. Hiperglisemi; serin kinaz kaskadlarını aktive eder; ki böylece IRS'nın ve proteinlerin fosforilasyonuna ( tirozin kinaz aktivitesi olan) neden olur. IRS-1 ve IRS-2; serin fosforilasyonunu artırır ve tirozin fosforilasyonunu azaltır. Bundan dolayı fosfatidilinositol-3 gibi sinyal moleküllerinin azalan aktivitesi; insülinin etkisini azaltır ve böylece insülin direncine neden olur. Nesfatin-1'in glukozla karşı olan

sekretuar tepkileri; insüline karşı olan tepkilerinden daha düşüktür. Bu da pankreas orijinli nesfatin-1'in metabolik regülasyonda endokrinal bir rol oynamadığını ancak lokal bir fonksiyon (görev) sergilediğini göstermektedir.

Diyete-bağlı obezitesi olan sıçanları içeren bir çalışmada, Yang ve ark., nesfatinin icv enjeksiyonunun hepatik glukoz üretimini inhibe etmek üzere hepatik glikoneojenezi regüle ettiğini belirtmişlerdir. Nesfatin-1 bu işlemi ya karaciğerdeki glikoneojenezde hız kısıtlayıcı bir enzim olan fosfoenolpiruvat karboksikinaz enziminin sentezini azaltarak ya da hepatik glukoz üretiminde azalmaya neden olan insülin hormonunun aktivitesini arttırarak yapar. Ayrıca periferel insülin enjeksiyonu; ARC, PVN, LHA, vagusun dorsal motor çekirdeği ve beynin vagal regüle edici çekirdeklerindeki (NTS) nesfatin ekspresyonlarının aktivasyonunu arttırır. Diğer bir deyişle hipoglisemi; hipotalamik nöronlardaki nesfatin ekspresyonlarını aktive eder. Aynı zamanda kandaki artan glukoz miktarının, pankreasın endokrin hücrelerinde nesfatin-1 salımını arttırdığı da belirtilmiştir. Hiperglisemik sıçanlara Nesfatin-1 uygulaması, kan şekeri seviyesini azaltmıştır. M30'un tek doz peritoneal uygulaması; enjeksiyondan 3 saat sonra gıda alımını inhibe etmiştir ancak glukoz ve lipid konsantrasyonlarını etkilememiştir. Verilerin genel değerlendirmesi; nesfatin-1'in anti-hiperglisemik etkisinin yalnız endokrin fonksiyondan değil aynı zamanda glikojen sentezi ve glukoneojenez regülasyonu ile hepatik glukoz üretiminin inhibisyonundan kaynaklandığını öne sürmektedir (117). İnsülinotropik Fonksiyon; Pankreatik adacıklar NUCB2/nesfatin ekspresyonu yapmaktadır NUCB2'nin tam boyu pankreatik  $\beta$ -hücrelerinde bulunmaktadır. Düşük seviyelerdeki NUCB2/nesfatin-1 glukozu yanıt olarak izole adacıklardan salgılanmaktadır ve seviyeler hiperglisemik şartlarla düşürülmektedir. Daha önceden,

nesfatin-1'in fare adacıklarından insülinin değil ancak glukagonun salgılanmasını uyardığı bildirilmiştir. Bunun aksine, başka çalışmalar nesfatin-1'in düşük değil ancak yüksek glukoz bulunduğunda fare adacıklarından insülin salgılanımında doza bağlı bir artışı tetiklediğini ve bu induksiyona L-tipi kalsiyum kanalı yoluyla  $Ca^{++}$  girişi aktivasyonunun sebep olduğunu göstermiştir. Dahası, nesfatin-1'in intravenöz enjeksiyonu hiperglisemisi olan db/db farelerde kan glukoz seviyelerinde doza bağlı bir düşüş meydana getirmektedir. Birlikte ele alındığında bu bulgular nesfatin-1'in adacıklardaki insülinotropik aktivitesine işaret etmektedir. Nesfatin-1 fonksiyonunun  $\beta$ -hücrelerinde patofizyolojik önemi hâlâ açıklanmayı bekliyor olsa dahi, bu bulgulara dayanarak nesfatin-1'in tip 2 diyabetin tedavisi için faydalı olabileceği ileri sürülebilir (113).

Yine yapılan çalışmalar iskelet kaslarında, adipoz dokularda ve karaciğerde Akt fosforilasyonunu ve glukoz transport edici tip 4 (GLUT-4- Glucose transporter type 4) membran translokasyonunu değiştirerek insülin sekresyonunu ve insülin hassasiyetini arttıran mekanizmalar yoluyla nesfatin-1'in glukoz metabolizmasını değiştirdiğini göstermektedir (220).

Nesfatin-1'in intravenöz enjeksiyonunun hiperglisemik -genetik olarak diabetik- fareler de (db/db fareler-genetically diabetic mice) anlamlı olarak kan şekerini azalttığı bulunmuştur. Nesfatin-1'in bu anti-hiperglisemik etkisinin zamana, doza ve insüline bağlı ve periferel olduğu vurgulanmıştır (166).

Anoreksijenik protein nesfatin-1/NUCB2'nin beyaz adipöz dokuda dâhil olmak üzere çevresel dokularda sürekli ve ubiquitöz olarak ekspresyonu gerçekleştirilmektedir. Pankreatik  $\beta$ -hücresinde selektif olarak nesfatin-1/NUCB2 ekspresyonu gerçekleşmekte ama (ancak  $\beta$ -hücreleri değil)  $\beta$ -hücrelerinde ve PP-

hücrelerinde gerçekleşmemektedir. Açlık, dolaşımdaki nesfatin-1 konsantrasyonlarını anlamlı ölçüde arttırmıştır ve tekrardan besleme açlıkla oluşan artışı düzeltmiştir. Pankreatik  $\beta$ -hücrelerinden nesfatin-1 salınımları ve dolaşımdaki nesfatin-1 arasındaki değişiklikler arasında kesin bir disosiyasyon vardır ve pankreatik adacıklardaki nesfatin-1'in artışı dolaşımdaki nesfatin-1 konsantrasyonlarına yansıtılmıyor olabilir. Endojen pankreatik adacık NUCB2/nesfatin-1'i diyabet ve diyetle tetiklenen obezitede değiştiğinden, nesfatin-1 yeni bir insülinotropik peptid olabilir. Nesfatin-1 ayrıca hiperglisemik durumda insülin duyarlılığının gelişimine katkıda bulunabilir. Dolaşımdaki nesfatin-1 artışı glukoz alımını çevresel organlara, iskelet kaslarından adipositlere, kaydırabilir. Nesfatin-1, kendisine ait geri besleme sistemini genel dolaşım yoluyla adipositlerden hipotalamusa, sempatik sinir sistemi yoluyla da hipotalamustan adipositlere uygulayabilir veya uyarlayabilir (118).

Nesfatin-1 indometazinin tetiklediği gastrik hasarı hafifletmiştir. Bu bulgu bir yandan proenflamatuar mediyatörlerin oluşumunu engellerken diğer yandan oksidan ve antioksidan sistemlerde dengeyi sağlayarak nesfatin-1'in oksidatif gastrik hasar üzerinde antienflamatuar ve mide koruyucu etkiler gösterebileceğine işaret etmektedir (221).

Ayrıca nispeten bilinmeyen bir peptid olan orexin A ve nesfatin-1, ülserin sınırlanmasında ve mukozal rejenerasyonda gastrik kan akışını aktive ederek (kronik gastrik ülserlerin) iyileşme sürecinde önemli bir rol oynar (222).

Ayrıca strese tabi tutularak çalışılan sıçanların midesinde nesfatin-1'in gastrik sekresyonu ve hiperemiyi azaltarak (bu strese karşı) dikkate değer düzeyde koruyucu bir etki uyguladığını ve bu etkilerin oluşumuna vanilloid reseptörler, duysal sinirler

ve vagal aktivasyonla birlikte siklooksijenaz ve nitrik oksitsistemlerinin aracılık ettiği gösterilmiştir (223).

Nesfatin-1, farelerde nokturnal beslenme davranışlarını ve gastrointestinal motiliteyi inhibe eder (224).

Nesfatin-1'in gastrointestinal motiliteyi düzenlediği ve özellikle açlık durumundaki gastrik kontraksiyonları inhibe ettiği bildirilmiştir. Buna ilave olarak sindirim arası gezici kontraksiyonların ise nesfatin-1, ghrelin ve motilin arasındaki karşılıklı etkileşimle regüle edildiği vurgulanmıştır (225).

Merkezi kardiyovasküler fonksiyonu yukarıda belirtildiği gibi modüle etmesinin yanı sıra, rat kalbinde ekspresyonu yapılan nesfatin-1 kardiyak iskemi/reperfüzyon hasarına karşı doğrudan koruma sağlamaktadır ve bu durumda kardiyak infarkt büyüklüğünde azalmayı ve kontraktilite iyileşmesinde gelişmeyi sağlar. Bu ilginç bulgular nesfatin-1'in kardiyak iskemi hastalarının tedavisinde faydalı olabileceğine işaret etmektedir (113).

İskemi/reperfüzyon yaralanmaları üzerindeki etkiler; Nesfatin-1, infarktüs büyüklüğünü sınırlayarak ve post-iskemik kontraktür ve laktoz dehidrojenaz salınımını azaltarak iskemi/reperfüzyon yaralanmalarına karşı koruma sağlar. NUCB2/nesfatin-1; periferik bir kardiyak modülatör işlevi göstererek kardiyak performansına göre hareket eder (117).

Akut miyokard infarktüsü (AMI - Acute myocardial infarct) hastalarında plazma nesfatin-1 seviyeleri, yüksek duyarlılıktaki C-reaktif protein, % nötrofil ya da Gensini skorları (Koroner aterosklerozun şiddeti) ile negatif yönde koreledir. Bu tür bilgiler; daha düşük nesfatin-1 konsantrasyonunun, AMI gelişiminde oldukça önemli bir rol oynayabileceğini işaret etmektedir (226).

İnsan ve murin (faregillere ait) kardiyomiyositleri; nesfatin-1'i sentezleyebilmekte ve salgılayabilmektedir ve ayrıca bu hücrelerde nesfatin-1, glukoz taşıyıcısı GLUT-4'ün perifere mobilizasyonunu ve glukoz alımını tetikleyebilir. Nesfatin-1 kardiyak seviyeleri, diyet ve koroner sağlığa göre düzenlenir ve bu faktörlere göre seviyeleri değişkenlik gösterir (227).

Noradrenalin ya da 5-hidroksitriptamin üzerinde etkisi olmamasına rağmen nesfatin-1; hipotalamus MCR  $\frac{3}{4}$  reseptörü yoluyla kan basıncını arttırır. Nesfatin-1; sıçanlarda hem kan basıncı hem de kalp atım hızında anlamlı artışları indükler. Aynı zamanda nesfatin-1 anlamlı olarak mezenterik arterdeki düz kasların sodyum nitroprusit kaynaklı relaksasyonlarını inhibe eder (117).

Değişik çalışmalardan elde edilen bulgular kronik (aralıksız değil ancak düzenli veya düzensiz periyodik süreklilik taşıyan) periferik nesfatin-1 uygulamasının zorla normal ve kronik kısıtlayıcı strese tabi tutulmuş ratlarda kan basıncını arttırdığını göstermiştir (228).

Nesfatin-1; eklem dokularında bulunur ve çeşitli mediatörler aracılığıyla OA'daki fizyopatolojik değişikliklere katkıda bulunabilir. İlave olarak OA progresyonunu tahmin etmek için yeni bir moleküler marker olabilir (132).

Nesfatin-1'in lipid metabolizmasındaki rolünü daha iyi anlamak için tip 2 DM'de iskelet kasının AMPK ve Asetil-KoA karboksilaz (ACC-Acetyl-CoA carboxylase)'ı tespit edilmiştir. 10 µg/Kg dozunda değil ancak 1 µg/Kg dozunda nesfatin-1 verildiğinde AMPK ve ACC ekspresyonu artmıştır. 6 gün boyunca nesfatin-1 (10 µg/Kg) uygulamasından sonra vücut ağırlığı ve plazma yağ asitleri normale dönmüştür. Bu bulgular nesfatin-1'in tip 2 DM'de lipid bozukluklarını iyileştirdiğini ortaya koymaktadır. Diyabetli farelerde nesfatin-1 tedavisiyle kan

şekeri ve insülin direnci katsayısının düştüğü (her ikisi de 1 µg/Kg ve 10 µg/Kg dozunda) görülmüştür. Birlikte ele alındığında, nesfatin-1 T2DM'nin gelişimine katılmıştır ve tip 2 DM'de iskelet kasındaki AMPK-ACC yolu aracılığıyla serbest yağ asitlerini harekete geçirdiği saptanmıştır (229).

Nesfatin-1 OA hastalarından alınan insan kondrositlerinde başta siklooksijenaz ve interlökin grubu olmak üzere benzeri diğer gruplara ait proenflamatuar ajanlar üzerinde açık bir indüksiyona yol açmıştır (230).

Kronik obstruktif akciğer hastalığı (KOA) hastalarında hem visfatin hem NUCB2/nesfatin-1, IL-6 ve TNF- α plazma seviyeleriyle ve NUCB2/nesfatin-1 ayrıca IL-8 plazma seviyesiyle pozitif ilişkilidir. Ayrıca visfatinin plazma seviyeleri akciğer difüzyon kapasitesiyle negatif ilişkilidir. Adipokinlerin hiçbiri flutikazon tedavisinden etkilenmemiştir ve steroid duyarlılığıyla bağlantılı değildir. Mevcut bulgular, NUCB2/nesfatin-1 ve visfatin adipositokinlerini KOAH'ta sistemik enflamasyonla ilişkili yeni faktörler olarak sunmaktadır ve visfatinin bozulmuş akciğer difüzyon kapasitesinden sorumlu olabileceğini akla getirmektedir (231).

Yapılan çalışmalar egzersizin yüksek yağlı diyetin şişmanlatıcı etkisini önleyebileceğini göstermektedir. Muhtemelen, egzersiz yapmak nesfatin-1 seviyelerini arttırarak ratta besin ve kilo alımını azaltmaktadır (232).

Obez ve morbid obez deneklerde yağ yüzdesi ve dolaşımdaki nesfatin-1 arasında anlamlı ilişkiler saptanmıştır. Obez deneklerde dolaşımdaki nesfatin-1 ve PPARγ konsantrasyonu arasında temel bir ilişkinin mevcudiyeti ve bu ilişkinin morbid obez katılımcılarda daha güçlü olduğu demonstre edilmiştir. Farklı kategorize edilmiş nesfatin-1 seviyeleri arasında tahmin edilen kategorize gruplara denk düşen RMR yüzdeleri bakımından çok az anlamlı fark mevcut olduğu açığa

çıkarılmıştır. Daha az nesfatin-1 konsantrasyonuna sahip obez grupta kalori, karbonhidrat ve protein alımları daha da yüksektir. Elde edilen veriler, yağ yüzdesinin dolaşımdaki nesfatin-1 seviyesinin temel belirleyici faktörü olabileceğini göstermiştir. Nesfatin-1 ve PPAR $\gamma$ 'nin adipojeniz sürecinde eş zamanlı olarak yer alıyor olabileceği öngörülmektedir (233).

Kontrol fareleri ve diğer diyetlerle beslenen farelere kıyasla, yüksek yağ bolusuna maruz bırakılan/bolus tarzında yüksek yağ verilen fareler beslenme sonrası test edilen tüm zamanlarda anlamlı ölçüde yükselmiş nesfatin-1/NUCB2 sergilemiştir. Elde edilen bulgularla ilk defa nesfatin-1'in gıdalar tarafından modüle edildiği ortaya koyulmuştur (234).

Nesfatin-1'in G1 faz aresti yoluyla HO-8910 hücrelerinin proliferasyonunu ve büyümesini inhibe ettiği ve bu inhibisyonun, nesfatin-1'i nötralize edici antikolar ile ortadan kaldırılabileceği belirlenmiştir. Nesfatin-1; HO-8910 hücre apoptozunu geliştirir ve memeli rapamisin hedefinin (mTOR) aktivasyonu ile Ras homolog gen ailesi, üye A/Rhoa kinaz (RhoA/ROCK - Ras homolog gene family, member A/ RhoA kinase) sinyalizasyon yolağı da nesfatin-1'den kaynaklanan apoptozun etkilerini engeller ve böylece nesfatin-1 tarafından HO-8910 hücre proliferasyonunun inhibisyonunu tersine çevirir. Sonuç olarak nesfatin-1'in mTOR ve RhoA/ROCK sinyalizasyon yolağı aracılığıyla apoptozu indükleyerek insan over epitel karsinom hücre hattı HO-8910 hücrelerinde proliferasyonu inhibe edebileceği gösterilmiştir (235).

Ayrıca nesfatin-1'in renal iskemik hasara karşı koruyucu etkilere sahip olduğu ve renal iskemik hasarda potansiyel bir terapötik ajan olabileceği bildirilmiştir (236).

Yine egzersiz yoğunluğunun epinefrin, serbest yağ asidi, leptin ve nesfatin-1 konsantrasyon değişikliklerinde önemli bir rol oynayabileceği belirtilmiştir (237).

### **3.5.9. Nesfatin-1,diğer hormonlar ve peptidler**

Bir adipokin olan leptin hipotalamusu etkileyerek beslenme ve enerji homeostazının düzenlenmesinde neredeyse başrolü oynamaktadır. Ancak aşağı yöndeki nöronal mekanizması derinlemesine anlaşılmamıştır. Yapılan deneylerde NUCB2'yi hedefleyen RNA'yı kodlayan virüs vektörleri kullanılarak (viral vektör-NUCB2-kodlayıcı/kodlanan RNA), PVN kökenli NUCB2/nesfatin-1'in leptin etkimesindeki rolü incelenmiştir. Leptin doğrudan etkileşime girmiş ve baskın olarak NUCB2/nesfatin-1 immunoreaktif nöronlarda olmak üzere PVN'den izole edilmiş tek nöronlarda sitosolik  $Ca^{++}$  miktarını arttırmıştır. İn vivo ve in vitro leptinle tedavi PVN'de NUCB2 mRNA ekspresyonunu belirgin bir biçimde arttırmıştır. Leptinin periferik ve merkezi enjeksiyonları viral vektör-NUCB2 verilen farelerde besin alımını anlamlı ölçüde engellemeyi başaramamıştır. Bu bulgularda, PVN NUCB2/nesfatin-1'in leptin tarafından doğrudan hedeflendiğini ve anoreksijenik etkisini ortaya çıkardığını göstermektedir (209).

DeneySEL çalışmalarından elde edilen sonuçlar PVN nesfatin-1 nöronlarının yüksek glukoz ve insülin seviyelerinden kaynaklanan aktivasyonunun (yani gıda alımı/yemek yemenin) PVN'deki nesfatin-1 nöronlarını stimüle ettiği ve bu şekilde tokluğu oluşturduğunu akla getirmektedir (238).

Basit regresyon analizi ile yapılan çalışmalarda plazma nesfatin-1'in TSH ve HbA1c seviyeleriyle negatif, VKİ ile pozitif ilişki içinde olduğu gösterilmiştir. Çok aşamalı regresyon analizi yapıldığında ise, nesfatin-1 TSH, VKİ ve HbA1c ile bağımsız olarak ilişkide kalmıştır. Sonuç olarak yapılan değerlendirmeler tip 2 DM

hastalarında, eşlik eden tiroid disfonksiyonunda nesfatin-1'inde rolünün olduğunu göstermektedir (239).

Tiroit hastalarında tiroit hormonlarındaki bozukluklar, iştah kontrol edici bir peptit olan nesfatin-1'in plazma değişiklikleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olmayabilir. Ancak tedavi edilmemiş otoimmün tiroit hastalığı olan çocuklarda plazma nesfatin-1 seviyeleri daha düşüktür ve fakat mekanizması bilinmemektedir (240).

Nesfatin-1/NUCB2-immünreaktif nöronları, hipotalamik paraventriküler çekirdekte, stres ekseninin merkezinde ve medüller A1 ve A2 katekolamin hücre gruplarında da bulunmaktadır. Hipofizin in vitro yapılan stimülasyonu efektif değilken diğer taraftan Nesfatin-1'in intraserebroventriküler uygulaması hem plazma adrenokortikotropin hem de kortikosteron seviyelerini arttırmıştır (241).

AN-R'li kadınlarda yapılan çalışmalarda ise Plazma açıl (acyl) ghrelin ve des-açıl (des-acyl) ghrelin seviyeleri, kontrol grubuna kıyasla AN-R grubunda anlamlı olarak daha yüksektir (açıl ghrelin:  $62.4 \pm 10.15$  fmol/ml vs.  $27.20 \pm 5.60$  fmol/ml,  $P < 0.01$  ve des-açıl ghrelin:  $300.17 \pm 55.95$  fmol/ml vs.  $107.34 \pm 40.63$  fmol/ml,  $P < 0.05$ ). Plazma nesfatin-1 seviyelerinin ise kontrol grubuna kıyasla AN-R grubunda anlamlı olarak daha düşük olduğu gösterilmiştir (168).

Ayrıca desaçıl (desacyl) ghrelinin, nesfatin-1 immünopozitif nöronları vasıtasıyla arkuat çekirdekte ghrelin kaynaklı artmış nöronal aktiviteyi kontrol altına alıp ghrelin kaynaklı gıda alımını baskıladığı saptanmıştır (242).

Safra kesesi taşının indüklediği pankreatit vakalarında kontrollere kıyasla yapılan çalışmalarda kliniğe giriş yapan pankreatit vakalarında (başlangıç

aşamasında) nesfatin-1 ve leptin seviyeleri oldukça yüksek ancak son taburculuk aşamasında ise azalmış olarak bulunurken tam aksine ghrelin seviyeleri taburculuk aşamasında, başlangıç aşamasından önemli miktarda yüksek olarak ölçülmüştür (243).

Farelere ovariectomi yapılmış ve Progesteron (P4) ve 17 $\beta$ -östradiol (E2) enjekte edilmiştir. Hipofiz bezinde NUCB2 ekspresyonu, ovariectomiden sonra çarpıcı biçimde azalmış ve sırasıyla P4 ve E2'nin enjeksiyonuyla da artmıştır. P4 ve E2'nin NUCB2 mRNA ekspresyonu üzerindeki direkt etkisini açıklığa kavuşturmak için yapılan in vitro deney, hipofiz bezinde NUCB2 mRNA ekspresyonunun E2'yle anlamlı biçimde arttığını ve sadece P4 uygulamasıyla ve P4'le birlikte E2'nin uygulanmasıyla azaldığını ortaya koymuştur. Mevcut çalışma nesfatin-1/NUCB2'nin fare hipofizinde yüksek oranda ortaya çıktığını ve P4 ve E2'yle düzenlendiğini göstermiştir. Bu veriler hipotalamus-hipofiz-yumurtalık aksisi yoluyla reproduktif endokrin regülasyonunun hipofiz bezinde nesfatin-1/NUCB2 ekspresyonuna katkı sağlayabileceğini akla getirmektedir (244).

Kontrol grubuna kıyasla PCOS'lu kadınlarda ölçülen daha yüksek nesfatin-1 seviyeleri, nesfatin-1'in PCOS'da bir rolü olabileceği ihtimalini akla getirmektedir (144).

Nesfatin-1'in dolaşımdaki anjiyotensinojen, anjiyotensin dönüştürücü enzim 2, anjiyotensin II, endotelin-1, endotelial nitrik oksit sentaz, aldosteron ve kortizol seviyesi üzerindeki etkisi saptanmıştır. Kronik kısıtlayıcı strese tabi tutulan ratlarda kronik periferik nesfatin-1 uygulamasından sonra artan yüksek kan basıncının, düşmüş endotelial nitrik oksit sentaz konsantrasyonu plazma seviyesiyle ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır (228).

Diğer endokrinal etkiler; CRF (1) ve CRF (2) reseptör antagonistlerinin uygulanması, nesfatin-1'in anoreksijenik etkilerini dengeler. Diğer bir deyişle nesfatin-1,CRF reseptörleri yoluyla gıda alımını inhibe etmektedir (117).

İlaveten CCK'nin intraperitoneal uygulaması; nesfatin-1'in sentezlendiği NTS nöronlarında %24 ve PVN nöronlarında %43 oranında fos ekspresyonunu indükler. Yani nöronların aktivasyonu; dolaylı şekilde CCK uygulamasına tepki olarak c-fos ekspresyonu ile gösterilmiştir. Bu nedenle NUCB2/nesfatin-1'in anoreksijenik etkisinin oreksijenik NPY nöronlarının supresyonundan kaynaklandığı iddia edilmiştir. Bu iddia; NUCB2/nesfatin-1'in ARC'ta hiperpolarizasyona neden olduğu ve hiperpolarize edilen nöronların çoğunun NPY-pozitif nöronlar olduğu gerçeğine dayanmaktadır (117).

Ayrıca yapılan çalışmalarda dişi gökkuşuğu (rainbow) alabalığının rematürasyonunda üreme gelişiminin başlatılması için plazma nesfatin-1'in bir sinyal olduğu düşüncesi ortaya atılmışsa da elde edilen bulgular bu önermeyi desteklememiştir (136).

NUCB2/nesfatin-1-benzeri-immün reaktif hücreleri (NUCB2/nesfatin-1-like-ir), japon balıklarının hipotalamusunun nükleus taleralis tuberis posterioris ve nükleus anterior tuberis kısmında Gonadotropin-salgılatıcı hormon (GnRH) ile kolokalize olarak bulunmaktadır. Hipofiz bezi hormon salınımında yer alan ve rol oynayan bu iki çekirdekte GnRH ile nesfatin-1'in varlığı; gonadotropin sekresyonunda nesfatin-1'in rolü olduğunu ileri sürmektedir (göstermektedir) (245).

Nesfatin-1 ve adiponektinin yaşlanma sırasında enerji dengesini kontrol etmeye katılıyor olabileceği de ileri sürülmüştür (246).

### 3.5.10. Nesfatin-1 ve diğ er sınıflanamayan ç alışmalar

Pitüiter adenilat siklaz-aktive eden polipeptit (PACAP - Pituitary adenilat cyclase-activated polipeptid ) stres tepkisine, beslenmeye ve kardiyovasküler ve otonom sinir sistemlerinin regülasyonuna ilişkin bir nöropeptittir. PACAP ile ilişkili reseptörler ve nöronlar PVN içerisine dağılmıştır. Yapılan çalışmada PACAP doza bağımlı olarak  $[Ca^{2+}]_i$ 'yi arttırmıştır. PVN'deki 40 nöron dan on altı tanesi (%40); PACAP'a tepki vermiştir ve PACAP'a tepki veren 16 nöron dan 12'sinin (%75) nesfatin-1 nöronları olduğu bulunmuştur ve PACAP'ın doğrudan PVN'deki nesfatin-1 nöronlarını aktive ettiği gösterilmiştir. Çalışmadan elde edilen veriler; nesfatin-1'in PACAP regülasyonu altında beslenmeyi, stres tepkisini ya da otonom tepkiyi kontrol edebileceğini veya etmekte olduğunu ortaya koymuştur (247).

Önemli bir hatırlatma olarak nesfatinin şu ana kadar çalışmamızda zikredilen pek çok etkisi hem istatistiki açıdan hem de saptama olarak ya doz bağımlıdır ya da uygulama yoluna özgü etkiler farklı gibi görünmektedir öyleki bu hem deneysel çalışmalarda ki farklı uygulama yollarında (ya icv veya ip) hem de aynı uygulama (yalnızca icv veya yalnızca ip) yoluyla farklı deneysel çalışmalarda kanıtlanmıştır (105, 113, 114, 117, 141, 167, 207, 209, 210, 229, 248, 249).

Bu durum gelecekte nesfatinin bir farmasötik ajan olarak kullanımını öngören ve bu konudaki beklentileri artıran ve destekleyen bir kanıt olarak kayıtlara geçirilmiştir (250).

## 4. GEREÇ VE YÖNTEM

### 4.1. Deney hayvanları ve beslenmeleri

Çalışmamız, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleti Etik Kurulu Başkanlığı (FÜHADEK)'in onayı ve Fırat Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi (FÜBAP)'nin desteği alındıktan sonra başlatıldı. Çalışmamızda Fırat Üniversitesi Rektörlüğü Deneysel Araştırmalar Merkezi (FÜDAM )'dan temin edilen 300-400 gr ağırlığında 24 adet 12 haftalık, Wistar-Albino cinsi erişkin erkek sıçan kullanıldı. Araştırma FÜDAM' da gerçekleştirildi. 21 °C oda ısısında 12 saat ışık (7:00-19:00) ve 12 saat karanlıkta (19:00-7:00) tutulan sıçanlar özel olarak yaptırılan kafeslerde beslendi. Yemler; çelik kaplarda, su; cam biberonlarda (normal çeşme suyu) verildi. Hayvan yemleri Yem Sanayi T. A. Ş. Elazığ Yem Fabrikasında hazırlandı. Yemlerin içeriği aşağıdaki tabloda gösterilmektedir (Tablo 4).

**Tablo 4.** Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin içeriği

Buğday (%)	15
Mısır (%)	10
Arpa (%)	27
Kepek (%)	8
Soya (%)	29,4
Balık Unu (%)	8
Tuz (%)	0,6
Kavimix VM 23-Z (%) *	0,2
Methionin (%)	0,2
DCP (%)**	1,6

\*1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D<sub>3</sub>, 12 mg E, 0. 8 mg K<sub>3</sub>, 0. 8 mg B<sub>1</sub>, 2. 4 mg B<sub>2</sub>, 1. 2 mg B<sub>6</sub>, 0. 006 mg B<sub>12</sub> vitaminleri, 16 mg Nicotin amid, 3. 2 mg Cal. D. Panth., 0. 32 mg Folic acid, 0. 02 mg D-Biotin, 50 mg Cholin Chloride, 20 mg Zinc Bacitracin, 32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0. 8 mg I, 0. 2 mg Co, 0. 06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca.

\*\*% 18 fosfor, %25 kalsiyum, %0. 2 flor'dan oluşur.

#### **4.2. Deney gruplarının oluşturulması ve deneysel uygulamalar**

Çalışmada kullanılan sıçanlar 4 gruba ayrıldı. Bütün gruplardaki hayvanlar deneye başlanmadan önce tartıldı. Hayvanlar özel kafeslere tek tek yerleştirildi ve kafeslerde sürekli suları bulunduruldu.

**Grup I** - Kontrol grubu, normal olarak beslenen sıçanlar (n:6)

**Grup II** - Beş gün boyunca sadece su verilerek aç bırakılan sıçanlar (n:6)

**Grup III**- Beş gün sadece su verilerek açlığı takiben beş gün doyurulan sıçanlar (n:6)

**Grup IV**- Beş gün sadece su verilerek açlığı takiben yedi gün doyurulan sıçanlar (n:6)

Grup I: Bu gruba deney süresince hiçbir uygulama yapılmadı. Normal olarak beslendi. Çalışmanın başlangıcında, 5. gününde ve 12. günün sonunda düzenli bir şekilde ağırlık değişimleri kaydedildi. 12. günün sonunda genel anestezi altında (ketamin+xylazine) dekapite edildi.

Grup II: Bu gruba deney süresince hiçbir uygulama yapılmadı. Beş gün boyunca sadece su verilerek aç bırakıldı. Çalışmanın başlangıcında ve 5. günün sonunda düzenli bir şekilde ağırlık değişimleri kaydedildi. 5. günün sonunda genel anestezi altında (ketamin+xylazine) dekapite edildi.

Grup III: Bu gruba deney süresince hiçbir uygulama yapılmadı. Beş gün boyunca sadece su verilerek aç bırakıldıktan sonra beş gün boyunca normal şekilde beslenerek doyuruldu. Çalışmanın başlangıcında, 5. Gününde ve 10. gününde düzenli bir şekilde ağırlık değişimleri kaydedildi. 10. günün sonunda genel anestezi altında (ketamin+xylazine) dekapite edildi.

Grup IV: Bu gruba deney süresince hiçbir uygulama yapılmadı. Beş gün boyunca sadece su verilerek aç bırakıldıktan sonra yedi gün boyunca normal şekilde beslenerek doyuruldu. Çalışmanın başlangıcında, 5. Gününde ve 12. günün sonunda düzenli bir şekilde ağırlık değişimleri kaydedildi. 12. günün sonunda genel anestezi altında (ketamin+xylazine) dekapite edildi.

#### **4.3. Örneklerin alınması**

Deney sonunda tüm gruplardaki sıçanlar tekrar tartıldıktan sonra, ketamin (75 mg/kg) + xylazine (10 mg/kg) i. p uygulanarak anestezi altında dekapite edildi. Dekapitasyonun ardından sıçanların mide dokuları (örnekler mide korpusundan olacak şekilde) hızla çıkarıldı. Bütün hayvanların mideleri serum fizyolojik ile yıkayıp mide içeriği temizlendikten sonra (çıkarılan mide dokuları) % 10'luk formaldehit tespit solüsyonu içine atıldı.

#### **4.4. Histolojik çalışma**

Dokular 24 saat süresince tespit edildikten sonra musluk suyu altında yıkamaya alındı. Musluk suyunda 24 saat yıkanan dokular dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Parlatma ve emdirme işlemleride yapılarak tüm rutin histolojik takip serilerinden geçirildi (Tablo 5). Daha sonra parafin bloklara (Sigma-paraplast embedding media, Stenheim, Germany) gömüldü. Bu parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler Hematoksilen-Eozin (H-E), Masson'un Üçlü boyası (Masson's Trikróm) ve Periodic Acid Schiff (PAS) metodları ile boyandı. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus BH-2) incelenip fotoğraflandı. Diğer kısım kesitler immünhistokimya için hazırlandı.

**Tablo 5.**Histolojik takip serileri

Sıra	İşlem	Süresi
1	%70 Alkol	2 saat
2	%80 Alkol	1,5 saat
3	%96AlkoII	30 dakika
4	%96 Alkol II	30 dakika
5	%100AlkoII	30 dakika
6	%100 Alkol II	30 dakika
7	Alkol+ Xylol	15 dakika
8	Xylol I	15 dakika
9	Xylol II	15 dakika
10	Yumuşak parafin + Xylol	45 dakika
11	Yumuşak parafin	1 saat
12	Yumuşak parafin + Sert parafin	1,5 saat
13	Sert parafin	3 saat
14	Gömme	

#### 4.5. İmmünohistokimya

Parafin bloklardan 5–6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antigen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda pH:6'da mikrodalga fırında (750W) 7+5 dakika kaynatıldı. Kaynatma sonrası oda ısısında yaklaşık 20 dakika soğutmak için bekletilen dokular PBS (Phosphate Buffered Saline, P4417,Sigma-Aldrich, USA) ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için hidrojen peroksid blok solüsyonu ile 5 dakika inkübe edildi (Hydrogen Peroxide Block , TA-125-HP, Lab Vision Corporation, USA). PBS ile 3x5 dakika yıkanan dokulara zemin boyasını engellemek için 5 dakika Ultra V Block (TA–125-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu uygulandıktan sonra 1/200 oranında dilue edilen Nesfatin primary antibody (Rabbit Nesfatin-1 primary antibody, H-003-22,Phoenix

Pharmaceuticals, Inc., California, USA) ile 60 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkandıktan sonra sekonder antikor (biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse / rabbit IgG), TP-125-BN, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi. Dokular, sekonder antikor uygulanmasından sonra PBS ile 3x5 dakika yıkayıp Streptavidin Peroxidase (TS-125-HR, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra PBS içerisine alındı. Dokulara 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) Substrate + AEC Chromogen (AEC Substrate, TA-015 ve HAS, AEC Chromogen, TA-002-HAC, Lab Vision Corporation, USA) solusyonu damlatılıp ışık mikroskopunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak PBS ile yıkamaya alındı. Mayer's hematoksilen ile zıt boyaması yapılan dokular PBS ve distile sudan geçirilerek uygun kapatma solusyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus BX 50 mikroskopunda incelenerek değerlendirildi ve Novel N 800 mikroskoba bağlı HDCE-10C Dijital Kamera/Ataçman (Ningbo Yongxin Optics Co., Ltd. Hi-tech Industry Park, Ningbo, Zhejiang, China) ile fotoğraflandı. Pozitif kontrol için kalp dokusu kullanıldı. Negatif kontrol için damar ve kalp dokusu preparatlarına primer antikor yerine PBS damlatıldı. Boyama metodu Tablo 6'da ayrıntılı olarak verildi.

**Tablo 6.** İmmünohistokimyasal boyama prosedürü

Sıra	İşlem	Süre
1	Xylol I	10 dakika
2	Xylol II	10 dakika
3	Xylol III	10 dakika
4	% 100 Alkol	10 dakika
5	% 96 Alkol	10 dakika
6	% 80 Alkol	10 dakika
7	Distile su	5 dakika
8	Mikrodalga	7+5 dakika
9	Oda ısısında soğutma	20 dakika
10	PBS (Phosphate Buffered Saline)	3X5 dakika
11	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	10 dakika
12	PBS	3X5 dakika
13	Normal serum	60 dakika
14	Primer antikor (Nesfatin)	+4°C bir gece
15	PBS	3X5 dakika
16	Sekonder antikor	30 dakika
17	PBS	3X5 dakika
18	Streptavidin HRP (Horse Radish Peroksidaz)	20 dakika
19	PBS	3X5 dakika
20	AEC kromogen	5 dakika
21	Distile su	5 dakika
22	Zıt boya olarak Mayer's Hematoksilen	10 saniye
23	Akarsuda	5 dakika
24	Distile su	Yıka
25	% 80 alkol	10 dakika
26	% 96 alkol	10 dakika
27	% 100 alkol	10 dakika
28	Xylol I	10 dakika
29	Xylol II	10 dakika
30	Xylol III	10 dakika
31	Özel kapatma maddesi ile kapatma	

İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesinde boyanmanın şiddeti ve yaygınlığı esas alındı. Sitoplazmik immün boyanmanın şiddeti ve yaygınlığı 0'dan +4'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı (0:Yok, +1:Az, +2:Orta, +3: Çok. +4: Şiddetli ) (Tablo 7).

**Tablo 7.** İmmünohistokimyasal boyanma yaygınlığının derecesi

<b>Derece</b>	<b>Anlamı</b>
<b>0</b>	Yok
<b>+1</b>	Çok az
<b>+2</b>	Az
<b>+3</b>	Orta
<b>+4</b>	Şiddetli

#### **4.6. İstatistiksel değerlendirme**

Çalışmada elde edilen bulguların istatistiksel analizleri için Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 21. 00 programı kullanıldı. Bütün değerler, aritmetik ortalama ve standard sapma ( $AO \pm SS$ ) olarak ifade edildi. Bağımsız gruplar arasındaki farkların analizi için “one-way ANOVA ile birlikte posthoc tukey” ve “independent student-t” testleri kullanıldı. İstatistiksel önemlilik derecesi  $p < 0. 05$  değerleri seçilerek anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

Çalışmada demonstre edilen nesfatin-1 immünreaktivitesinin istatistiksel analizi için SPSS version 21 programı kullanıldı. Gruplar arası değerlendirme One-way ANOVA ve posthoc tukey testi ile yapıldı.

## 5. BULGULAR

### 5.1. Vücut Ağırlıkları

Deney sonunda tartılan sıçanların vücut ağırlığı ortalamaları deneye başlamadan önceki vücut ağırlığı ortalamaları ile karşılaştırıldı. Tüm gruplardaki hayvanların ortak olan deney başlangıç günü ve (grup ve/veya gruplara özgü olarak farklılık gösterebilen) deneyin son günündeki vücut ağırlıklarının aritmetik ortalamaları, standart sapmaları ile başlangıç ve son değerleri arasındaki istatistiksel farklılıklar Tablo 8’de gösterildi.

Grup I; normal olarak beslenen sıçanların ağırlıkları deneyin başlangıç gününde (0. gün)  $337,17 \pm 62,09$  gr. iken diğer grupların sadece su verilerek aç bırakıldığı beş gün sonunda (5. gün)  $342,33 \pm 61,51$  gr. olarak ölçüldü. Beş gün boyunca normal olarak beslenen Grup I sıçanların ağırlıklarıyla, deney başlangıcındaki ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p > 0,05$ ). Grup I sıçanların, bu grup için deneyin sonlandırıldığı gün olan 12. gündeki ağırlıkları  $325,75 \pm 55,82$  gr. olarak ölçüldü. 12. gündeki ağırlıkları ile deney başlangıcındaki ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ( $p > 0,05$ ) (Tablo 8, Şekil 7).

Grup II; sadece su verilerek beş gün aç bırakılan sıçanların ağırlıkları 0. Günde  $364,83 \pm 38,88$  gr. iken sıçanlar 5. Günde  $276,75 \pm 32,46$  gr. olarak ölçüldü. Beş gün boyunca aç bırakılan sıçanların, bu grup için deneyin sonlandırıldığı gün olan 5. gündeki ağırlıklarıyla, deney başlangıcındaki ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmasa da belirgin olarak kilo kaybettikleri gözlemlendi ( $p > 0,05$ ) (Tablo 8, Şekil 7).

Grup III; beş gün sadece su verilerek açlığı takiben beş gün doyurulan sıçanların ağırlıkları 0. günde 358,75±46,39 gr., 5. günde 270,42±41,72 gr. ve bu grup için deneyin sonlandırıldığı gün olan 10. Günde 343,33±51,89 gr. olarak ölçüldü. 0. gün başlangıç ağırlıkları ile beş gün açlığı takiben beş gün doyurulduktan sonraki 10. gün ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0,05$ ). Başlangıç ağırlıkları ile beş gün aç bırakıldıktan sonraki 5. gün ağırlıkları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ( $p<0,05$ ) (Tablo 8,Şekil 7).

Grup IV; beş gün sadece su verilerek açlığı takiben yedi gün doyurulan sıçanların ağırlıkları 0. günde 374,92±29,49 gr., 5. günde 285,17±27,14 gr. ve bu grup için deneyin sonlandırıldığı gün olan 12. günde 326,17±30,58 gr. olarak ölçüldü. 0. gün başlangıç ağırlıkları ile beş gün açlığı takiben yedi gün doyurulduktan sonraki 12. gün ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0,05$ ). Başlangıç ağırlıkları ile beş gün aç bırakıldıktan sonraki 5. gün ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmasa da belirgin olarak kilo kaybettikleri gözlemlendi ( $p>0,05$ ) (Tablo 8,Şekil 7).

**Tablo 8.** Deney gününe göre deney gruplarının vücut ağırlığı aritmetik ortalamaları

	0.GÜN	5.GÜN	10.GÜN	12.GÜN
<b>Grup I</b>	337,17±62,09	342,33±61,51		325,75±55,82
<b>Grup II</b>	364,83±38,88	276,75±32,46		
<b>Grup III</b>	358,75±46,39	270,42±41,72*	343,33±51,89	
<b>Grup IV</b>	374,92±29,49	285,17±27,14		326,17±30,58

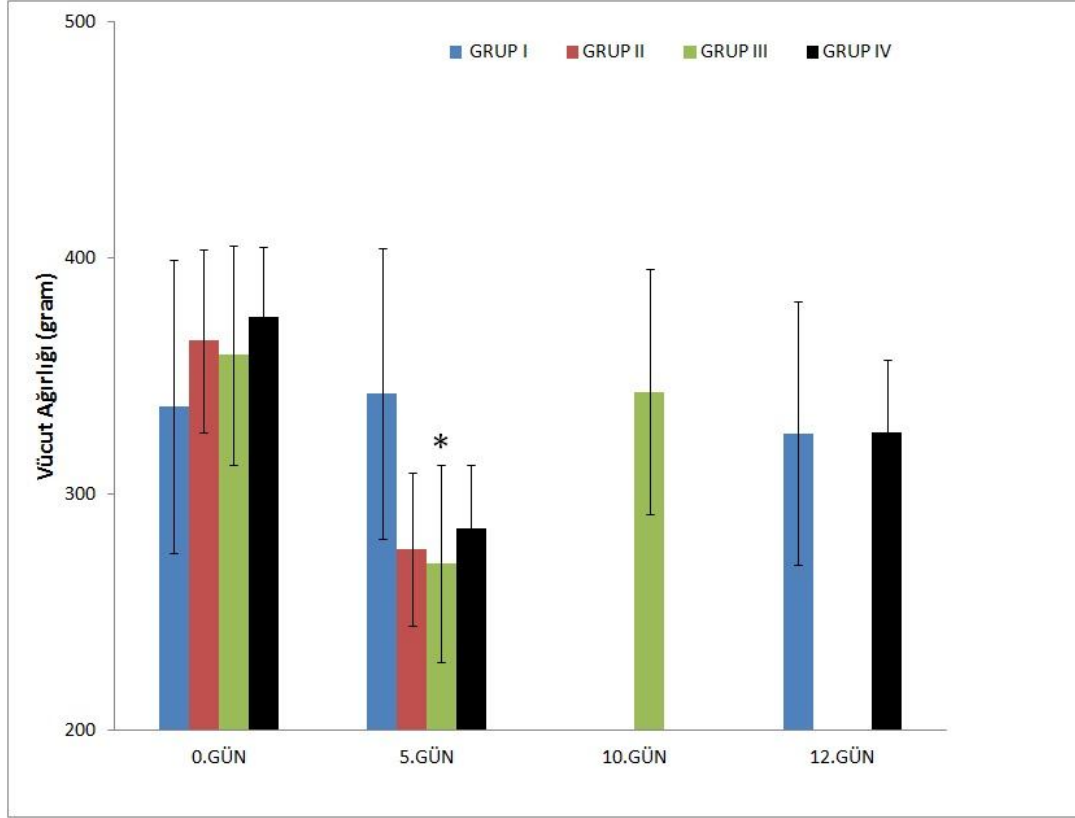
\*Kontrolle göre anlamlı farklıdır ( $p<0,05$ ); v.a.: Vücut ağırlığı

0.GÜN v.a.: Dahil edilmiş tüm grupların (Grup I, II, III, IV) deneye başlangıç günü vücut ağırlıkları.

5.GÜN v.a.: Grup II için deneyin sonlandırıldığı gün;Grup I, III ve IV 'ün vücut ağırlıkları.

10.GÜN v.a.: Grup III için deneyin sonlandırıldığı gün;Grup I ve IV 'ün vücut ağırlıkları.

12.GÜN v.a.: Grup I ve IV için deneyin sonlandırıldığı gün;Grup I ve IV'ün vücut ağırlıkları.



\* Kontrolle göre anlamlı farklıdır (p<0,05)

0. GÜN: Dahil edilmiş tüm grupların (Grup I, II, III, IV) deneye başlangıç günü.

5. GÜN: Grup II için deneyin sonlandırıldığı gün;Grup I, III ve IV deneye devam etmekte.

10. GÜN: Grup III için deneyin sonlandırıldığı gün;Grup I ve IV deneye devam etmekte.

12. GÜN: Grup I ve IV için deneyin sonlandırıldığı gün;deneyin son günü.

**Şekil 7.** Deney gruplarının zamana bağlı vücut ağırlığı aritmetik ortalamalarının şematik gösterimi

## 5.2. Vücut Ağırlığı Yüzde Değişimleri

Çalışmaya dahil edilmiş tüm grupların (Grup I, II, III, IV); 5,10 ve 12. gündeki vücut ağırlıkları deneyin başlangıcı ve ilk günü olan 0. Gündeki vücut ağırlıkları ile karşılaştırılarak her grubun vücut ağırlığı yüzde değişimleri belirlendi. Ek olarak beş günlük açlıktan sonra beş ve yedi gün doyurularak deneye devam eden grupların (Grup III ve IV) deneyden çekildikten sonraki (10 ve 12. Gün) vücut ağırlıkları beş gün açlıktan sonraki 5. gün açlık değerleri ile karşılaştırılarak, açlık sonrası doyurulma ile ortaya çıkan vücut ağırlığı yüzde değişimleri belirlendi. Grup I (Kontrol) sıçanlar ise tüm deney boyunca normal olarak beslendiklerinden deney sonu olan 12. gün vücut ağırlıkları 5. gün vücut ağırlıkları ile karşılaştırılarak yüzde

değişimleri belirlendi. İstatistiksel olarak bu analiz yapılırken One-way ANOVA testi ve devamında posthoc Tukey testleri ile indepent t testi kullanıldı (Tablo 9, Şekil 8).

Grup II; sadece su verilerek beş gün aç bırakılan sıçanların 5. gün vücut ağırlıkları ile deneyin başlangıcı olan 0. Gündeki vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında %  $-31,97 \pm 2,47$  olarak saptanan vücut ağırlığı yüzde değişim değeri istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.001$ ) (Tablo 9, Şekil 8).

Grup III; sadece su verilerek beş gün açlığı takiben beş gün doyurulan sıçanların, 5. gün vücut ağırlıkları ile deneyin başlangıcı olan 0. Gündeki vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında %  $-33,16 \pm 4,99$  olarak saptanan vücut ağırlığı yüzde değişim değeri istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.001$ ) (Tablo 9, Şekil 8).

Grup IV; sadece su verilerek beş gün açlığı takiben yedi gün doyurulan sıçanların, 5. gün vücut ağırlıkları ile deneyin başlangıcı olan 0. Gündeki vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında %  $-31,65 \pm 2,31$  olarak saptanan vücut ağırlığı yüzde değişim değeri istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.001$ ) (Tablo 9, Şekil 8).

Grup IV; sadece su verilerek beş gün açlığı takiben yedi gün doyurulan sıçanların, deneyin son günü olan 12. gün vücut ağırlıkları ile deneyin başlangıcı olan 0. Gündeki vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında %  $-15,10 \pm 2,64$  olarak saptanan vücut ağırlığı yüzde değişim değeri istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.001$ ) (Tablo 9, Şekil 8).

Grup IV; sadece su verilerek beş gün açlığı takiben yedi gün doyurulan sıçanların, deneyin son günü olan 12. gün vücut ağırlıkları ile açlık bitişi olan 5. gündeki vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında %  $12,57 \pm 1,58$  olarak saptanan vücut

ağırlığı yüzde değişim değeri istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.001$ ) (Tablo 9, Şekil 8).

Grup I; normal olarak beslenen sıçanların 5. gün vücut ağırlıkları ile deney başlangıcı olan 0. gün vücut ağırlıklarının karşılaştırılması ile elde edilen  $1,60 \pm 2,14$ 'lük değer ile bu grup için deney sonu olan 12. gündeki vücut ağırlıkları ile deney başlangıcı olan 0. gündeki vücut ağırlıklarının karşılaştırılması ile elde edilen  $-3,27 \pm 2,94$ ' lük değer ve yine bu grup için deney sonu olan 12. gün vücut ağırlıklarının 5. gün vücut ağırlıkları ile karşılaştırılması ile elde edilen  $-4,95 \pm 1,61$ 'lik vücut ağırlığı yüzde değişim değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p > 0,05$ ) (Tablo 9, Şekil 8).

Grup III; sadece su verilerek beş gün açlığı takiben beş gün doyurulan sıçanların, bu grup için deney sonu olan 10. gün vücut ağırlıkları ile deneyin başlangıcı olan 0. Gündeki vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında elde edilen  $-4,82 \pm 3,80$ 'lik ve bu grup için beş gün doyurulmayı takiben deney sonu olan 10. gün vücut ağırlıkları ile beş gün açlık sonu 5. gündeki vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında elde edilen  $21,27 \pm 1,42$ 'lik vücut ağırlığı yüzde değişim değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p > 0,05$ ) (Tablo 9, Şekil 8).

**Tablo 9.** Deney gruplarının deney günlerine göre vücut ağırlığı yüzde değişimleri

	$\Delta(5-0)$	$\Delta(10-0)$	$\Delta(12-0)$	$\Delta(10-5)$	$\Delta(12-5)$
	v.a. % Değişim	v.a. % Değişim	v.a. % Değişim	v.a. % Değişim	v.a. % Değişim
Grup I	1,60 ± 2,14		-3,27 ± 2,94		-4,95 ± 1,61
Grup II	31,97 ± 2,47*				
Grup III	33,16 ± 4,99*	-4,82 ± 3,80		21,27 ± 1,42	
Grup IV	-31,65 ± 2,31*		-15,10 ± 2,64*		12,57 ± 1,58#

\* 0. Güne göre anlamlı farklıdır (p<0,001)

# 5. güne göre anlamlı farklıdır (p<0,001)

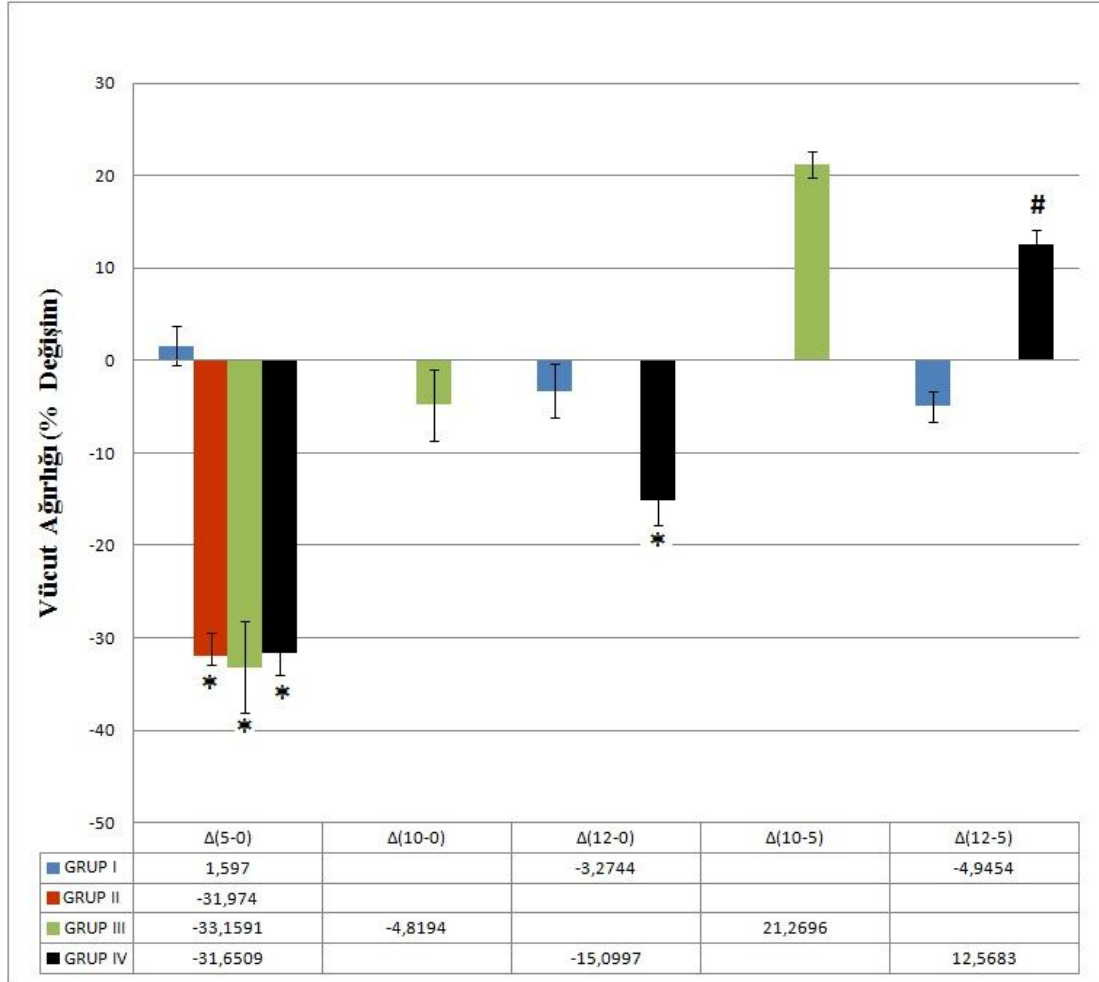
$\Delta(5-0)$ :Grup I, II, III ve IV sıçanların 5.gün vücut ağırlıklarının 0.gün vücut ağırlıklarına göre % değişimi.

$\Delta(10-0)$ :Grup III sıçanların 10.gün vücut ağırlıklarının 0.Gün vücut ağırlıklarına göre % değişimi.

$\Delta(12-0)$ :Grup I ve IV sıçanların 12.gün vücut ağırlıklarının 0.gün vücut ağırlıklarına göre % değişimi.

$\Delta(10-5)$ :Grup III sıçanların 10.gün vücut ağırlıklarının 5.gün vücut ağırlıklarına göre %değişimi.

$\Delta(12-5)$ :Grup I ve IV sıçanların 12.gün vücut ağırlıklarının 5.gün vücut ağırlıklarına göre % değişimi.



\*0. Güne göre anlamlı farklıdır (p<0,001)

#5. güne göre anlamlı farklıdır (p<0,001)

$\Delta(5-0)$ :Grup II, III ve IV sıçanların 5.gün vücut ağırlıklarının 0.gün vücut ağırlıklarına göre anlamlı % değişimi.

$\Delta(12-0)$ :Grup IV sıçanların 12.gün vücut ağırlıklarının 0.gün vücut ağırlıklarına göre anlamlı % değişimi.

$\Delta(12-5)$ :Grup IV sıçanların 12.gün vücut ağırlıklarının 5.gün vücut ağırlıklarına göre anlamlı % değişimi

**Şekil 8.**Deney gruplarının deney günlerine göre vücut ağırlığı yüzde değişimlerinin şematik gösterimi

### 5.3. Histolojik Bulgular

Normal olarak beslenen Grup I yani kontrol grubuna ait hayvanların mide dokularından alınan numunelerin mukozal kesitleri incelendiğinde; Tunika Mukoza, Tunika Submukoza, Tunika Muskularis ve Tunika Seroza normal yapıda gözlemlendi. Kontrol grubunda yüzey epiteli ve gastrik çukurcuklar belirgindi (Şekil 9 ). PAS (+) boyanan yüzey ve boyun müküs hücreleri normal olarak izlendi (Şekil 10). Gastrik bezlerde koyu bazofilik/asidofilik sitoplazmaları ile homojen boyanmış boyun müköz hücreleri ve aralarında çok sayıda pariyetal hücreler, eozinofilik sitoplazmalı ve merkezi yerleşimli ve yuvarlak tek çekirdekli görünümüleriyle normal yapıda izlendi (Şekil 11). Prizmatik veya kübik olarak şekli değişebilen bazofilik sitoplazmalı, esas hücreler ise genellikle bezlerin bazal bölümünde gözlemlendi (Şekil 12).

Beş gün sadece su verilerek aç bırakılan Grup II hayvanların, açlık sonrasında mide dokularından alınan kesitler incelendiğinde apikal mukoza dejenere olmuş ve bütünlüğü bozulmuştu yer yer parçalanmalar kopmalarla birlikte dökülmeler vardı (Şekil 13, 14). Yüzey mukoza hücreleri lümeneye hafif çıkıntı yapmıştı (kript düzensizliği) (Şekil 15). Müköz ve oksintik bezlerin lümenlerinde ileri derecede genişlemeler ve köpüksü görünüm mevcuttu (Şekil 14, 15, 16, 17). Bezlerin mukozasında PNL (Polimorf Nüveli Lökosit) infiltrasyonu vardı (Şekil 18). Bazı alanlarda bezlerin taban kısımlarında oksintik genişleme ile birlikte mukozada PNL infiltrasyonu da vardı (Şekil 19). Oksintik bölgede hücrelerde apoptozis izlendi ve ayrıca piknotik çekirdekli pariyetal hücreler gözlemlendi (Şekil 20,21). Yine oksintik bölgede piknotik çekirdekli pariyetal hücreler, apoptotik hücreler ve bezlerde köpüksü görünüm aynı anda izlendi (Şekil 21). Yüzey müköz hücreleri ile boyun müköz

hücreleri kontrole kıyasla daha yoğun PAS (+) olarak boyandı ve gastrik mukozada kontrollere kıyasla relatif olarak incelme gözlemlendi (Şekil 22, 23).

Beş gün sadece su verilerek açlığı takiben beş gün doyurulan Grup III hayvanların incelenen kesitlerinde, doyurulmanın beşinci gününde, yüzey epitelinin normale yakın görünüm sağladığı alanlar olmakla birlikte (Şekil 24), bunlara ilave olarak bazı alanlarda mukozanın halen dökülmeye bağlı olarak daha ince görünüm ve dejenere olup, bütünlüğünde bozulma, dökülme ve ayrılmalar devam ediyordu (Şekil 25,26,27). Epitelin altındaki lamina propria bağ dokusunun artış gösterdiği alanlar mevcuttu ve genişlemiş bez alanlarının etrafında artmış hücresel görünüm (mononükleer hücreler) mevcuttu (Şekil 28,29). Bezlerdeki genişlemeler hala devam etmekteydi (Şekil 30). Gastrik mukozanın tabanındaki bezler arasında aşırı biçimde genişlemiş ve hasarlı alanlar vardı (principal bezlerin aşırı salgısı olabileceği) (Şekil 31). İlave olarak principal hücrelerde boyanma farklılığı saptandı (Şekil 32). Ayrıca mukozada damarlarda dilatasyon mevcuttu (Şekil 33). Açlığa göre (Grup II) yüzey mukozada artmış daha koyu PAS (+) boyanma mevcuttu (Şekil 34,35).

Beş gün sadece su verilerek açlığı takiben yedi gün doyurulan Grup IV hayvanların incelenen kesitlerinde, doyurulmanın yedinci gününde, apikal mukozanın büyük oranda normalleşip düzenli görülmesine rağmen (Şekil 36) bazı alanlarda yüzey epitelinde dökülmenin devam ettiği ve müköz bezlerin yoğunluğunun arttığı alanlar görüldü (Şekil 37). Ayrıca gastrik bezlerdeki genişlemelerin ve mukozal damarlardaki dilatasyonların doyurulmanın beşinci gününe kıyasla azalarak devam ettiği saptandı ancak konjesyone damarlar doyurulmanın yedinci gününde de izlenmekteydi (Şekil 38). PAS (+) boyanmada da doyurulmanın beşinci gününe kıyasla yedinci günde azalma saptandı (Şekil 39).

#### 5.4. İmmün Histokimyasal bulgular

Nesfatin-1 immün reaktivitesi için yapılan immünhistokimyasal boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu nesfatin-1 immün reaktivitesine midede fundik bezlerde rastlandı (Şekil 40, 41, 42, 43).

Nesfatin-1 immünreaktivitesi kontrol grubuyla (Grup I - normal olarak beslenen sıçanlar) karşılaştırıldığında, açlık grubunda (Grup II- Beş gün boyunca sadece su verilerek aç bırakılan sıçanlar) anlamlı bir artış gözlemlendi ( $p < 0.05$ ) (Tablo 10) (Şekil 40,41). Açlık grubu (Grup I-normal olarak beslenen sıçanlar) ile karşılaştırıldığında ise beş gün sadece su verilerek açlığı takiben beş gün doyurulan Grup III ve beş gün sadece su verilerek açlığı takiben yedi gün doyurulan Grup IV'te nesfatin-1 immünreaktivitesinde anlamlı bir azalma izlendi ( $p < 0.05$ ) (Tablo 10) (Şekil 41,42,43).

Süreç tümüyle değerlendirildiğinde ise kontrollerde (Grup I) var olan immün pozitifliğin, açlık süresinin sonunda (Grup II) şiddetli bir hale geldiği yani açlıkla birlikte nesfatin-1 immünreaktivitesinin şiddetle arttığı (Şekil 40,Şekil 41), ancak beş gün açlığı takiben beş günlük (Grup III) (Şekil 42) ve yedi günlük doyurulma (Grup IV) (Şekil 43) periyodları sonrasında şiddetli immün pozitifliğin tedrici olarak azaldığı ve nihayet yedi günlük doyurulma sonrasında (Grup IV) (Şekil 43) başlangıç kontrol değerlerine neredeyse döndüğü gözlemlendi (Tablo 10).

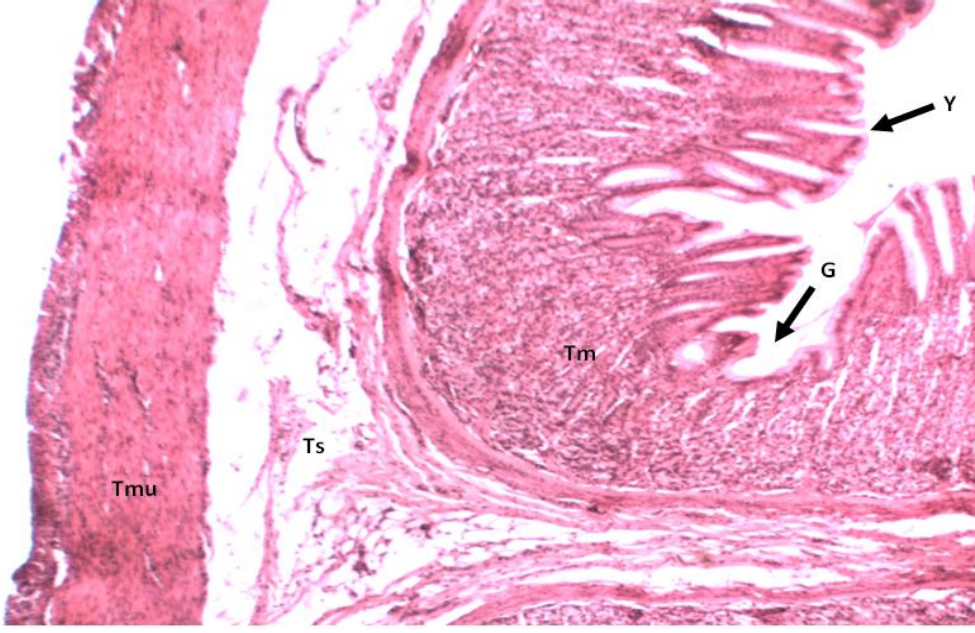
**Tablo 10.** Nesfatin immünreaktivitesi

GRUP	Nesfatin immünreaktivitesi
GRUP I	1. $83 \pm 0.40$
GRUP II	3. $83 \pm 0.40^a$
GRUP III	2. $83 \pm 0.40^{ab}$
GRUP IV	2. $16 \pm 0.40^b$

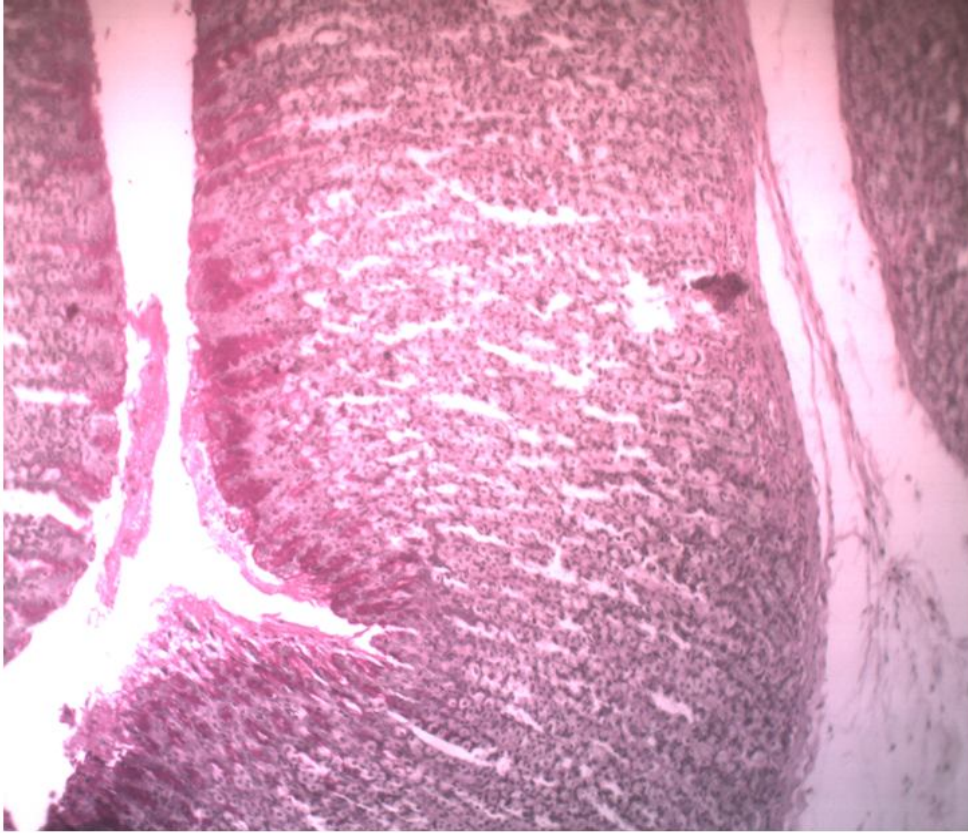
Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a</sup> Kontrol grubuna göre karşılaştırıldığında,  $p < 0.05$

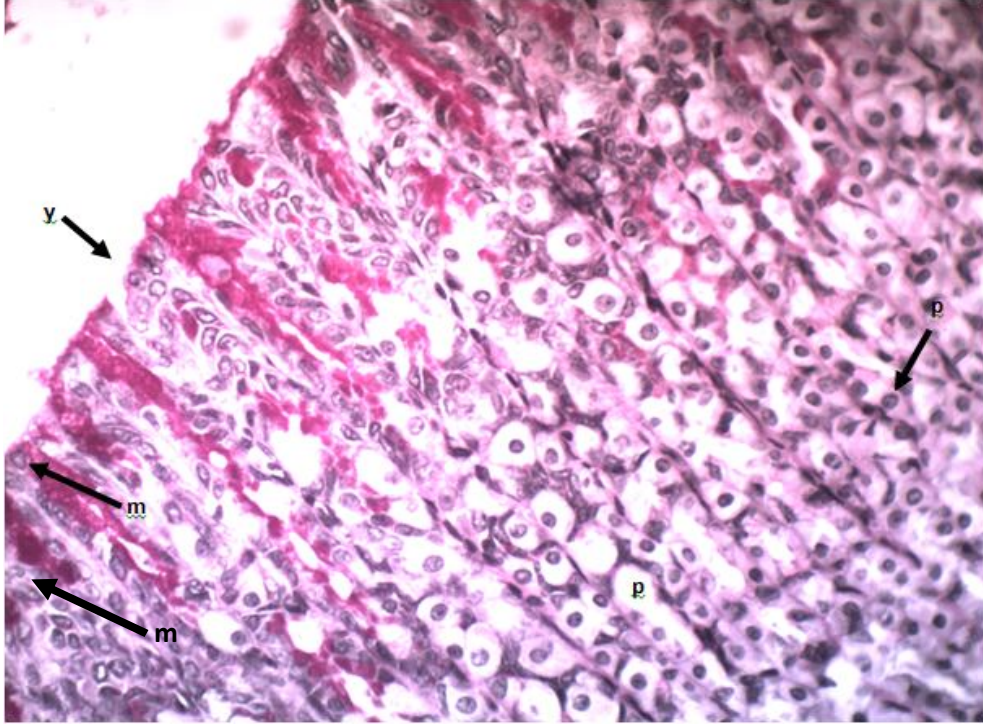
<sup>b</sup> Açlık grubuna göre karşılaştırıldığında,  $p < 0.05$



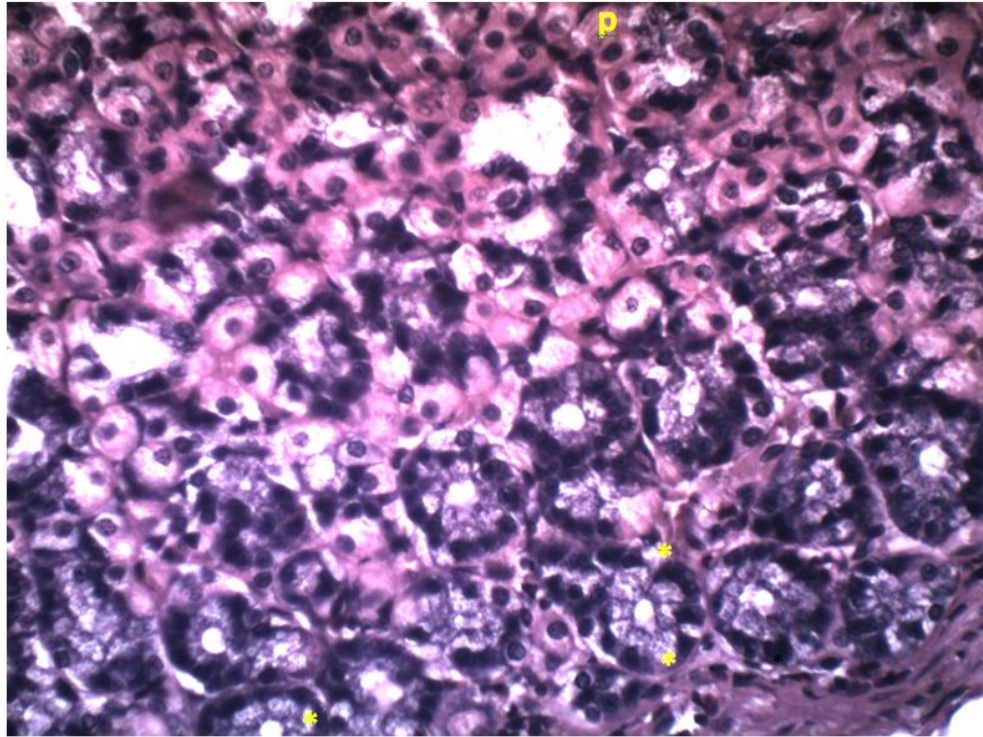
**Şekil 9.** Kontrol grubu sıçanların mide dokusu. Yüzey Epiteli (Y), Gastrik Çukurcuklar (G) ve T. Mukoza (Tm), T. Submukoza (Ts), T. Muskularis (Tmu) normal olarak ayırt edilmekte. **H-E X 4**



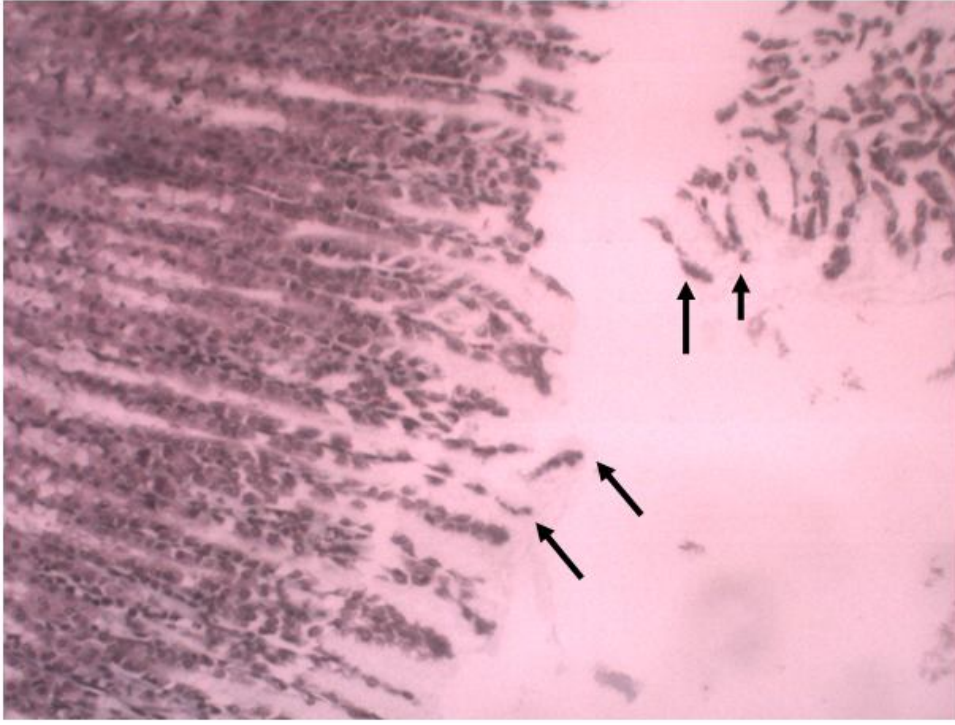
**Şekil 10.** Kontrol grubu sıçanların mide dokusu. PAS pozitiflik gösteren mide yüzey ve boyun müküs hücreleri. **PAS X 4**



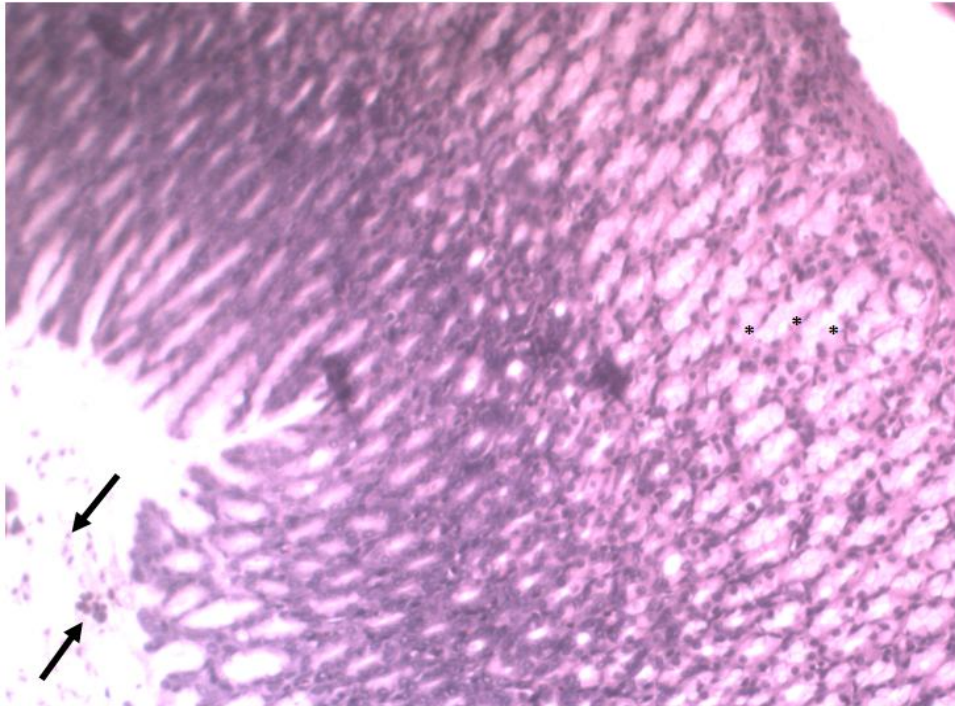
**Şekil 11.** Kontrol grubu sıçanların mide dokusu. Yüzey epiteli (y), boyun müköz (m) ve pariyetal hücreleri (p). Normal görünümlü mide mukozası. **PAS X 40**



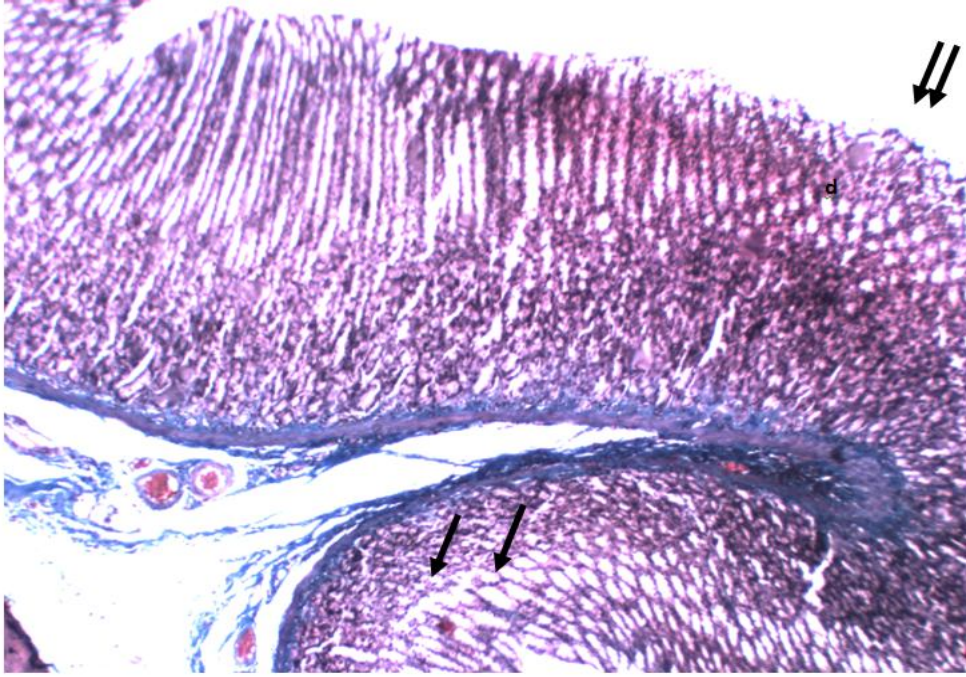
**Şekil 12.** Kontrol grubu sıçanların mide dokusu. Gastrik mukozada bazal bölümde yer alan esas hücreler (\*) ve pariyetal hücreler (p). **H-E X40**



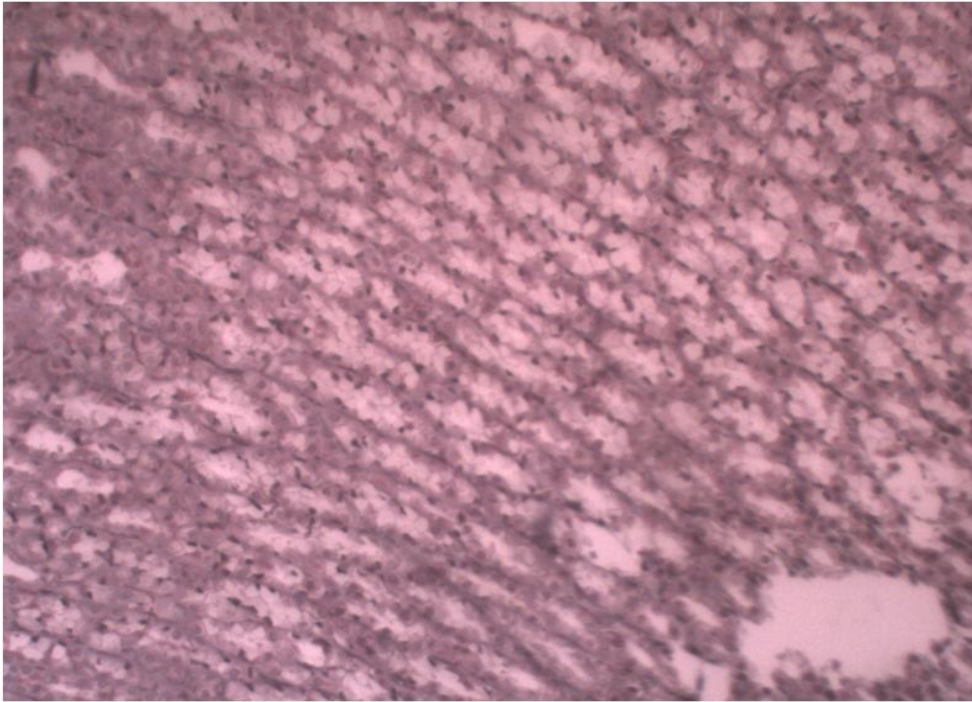
**Şekil 13.** 5 gün aç bırakılan sıçanların mide dokusu. Apikal gastrik mukozada kopmalar ve dökülmeler (oklar). **Masson'un üçlü boyası X 10**



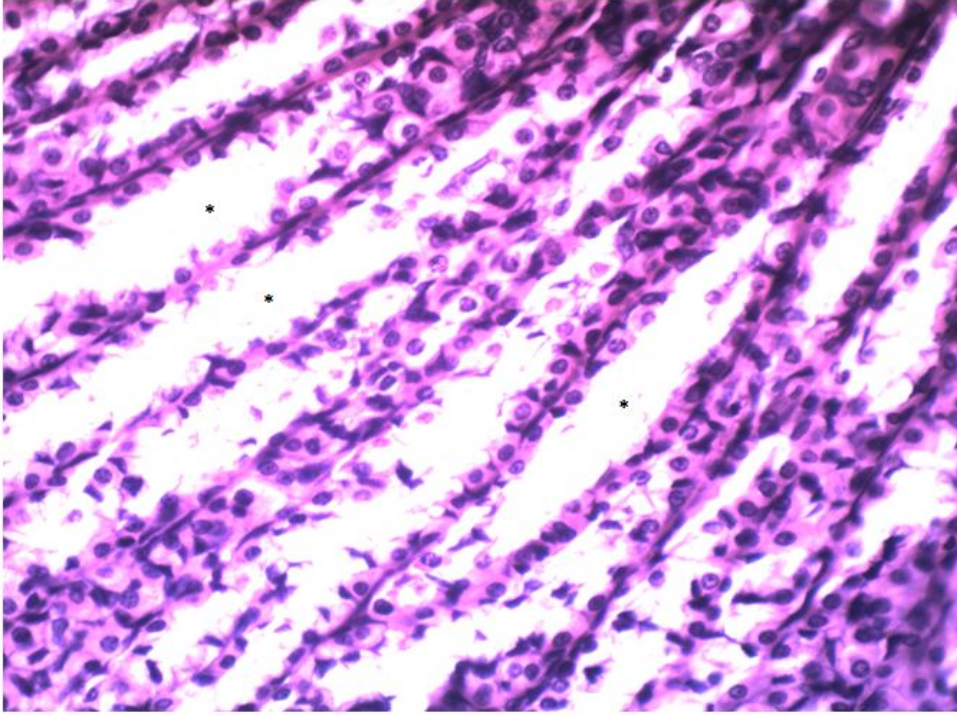
**Şekil 14.** 5 gün aç bırakılan sıçanların mide dokusu. Mide mukozasında yüzeyde dökülmeler (oklar), gastrik bez lümenlerinde köpüksü görünüm (\*). **H-E X 10**



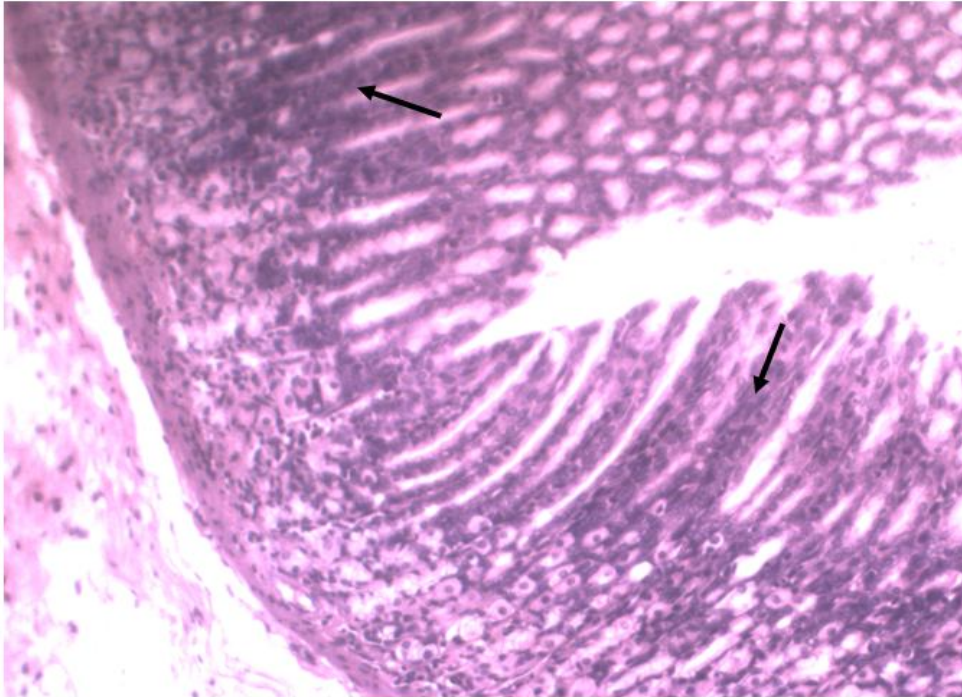
**Şekil 15.** 5 gün aç bırakılan sıçanların mide dokusu. Mide mukozasında gastrik bezlerde genişlemeler (oklar), yüzey mukoza hücrelerinde lümeneye çıkıntılar (çift oklar ) ve buna bağlı olarak kript düzensizliği (d). **Masson'un üçlü boyası X 4**



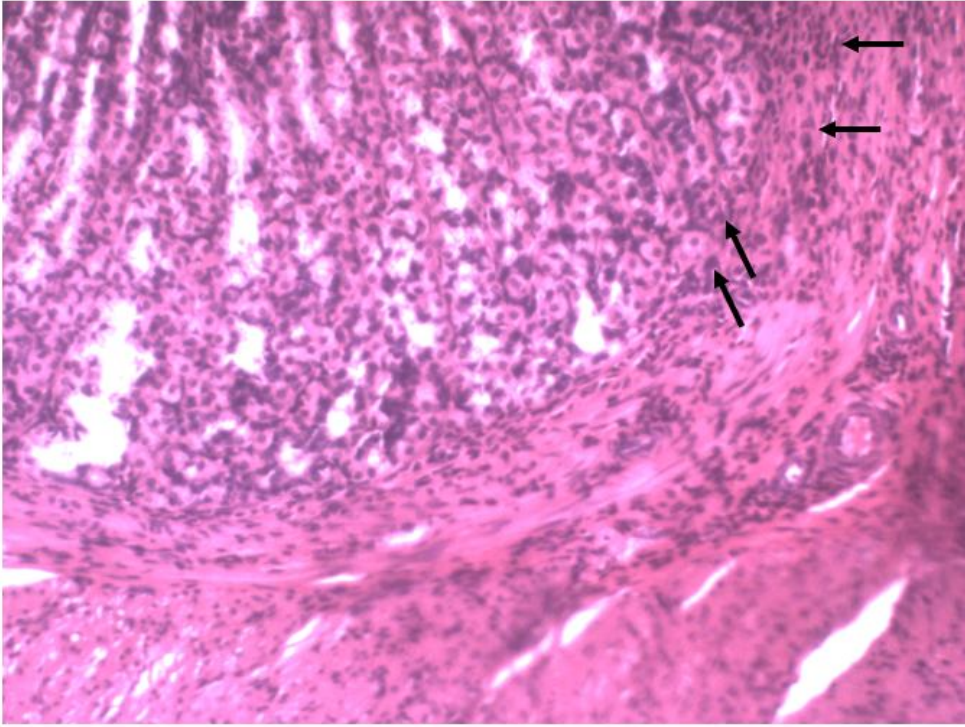
**Şekil 16.** 5 gün aç bırakılan sıçanların mide dokusu. Gastrik bez lümenlerinde ileri boyutta genişlemelerle birlikte lümenin köpüksü görünümü. **Masson'un üçlü boyası X 10**



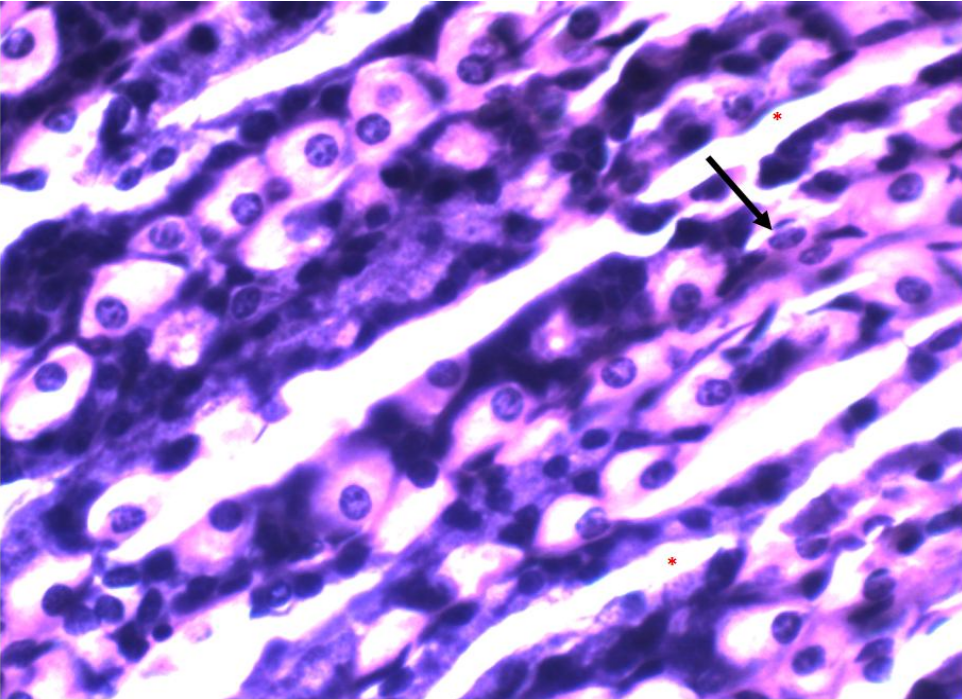
**Şekil 17.** 5 gün aç bırakılan sıçanların mide mukozası. Gastrik sekretuar yapılarda ileri boyutta genişlemiş bez lümenlerindeki köpüksü görünüm (\*). **H-E X 40**



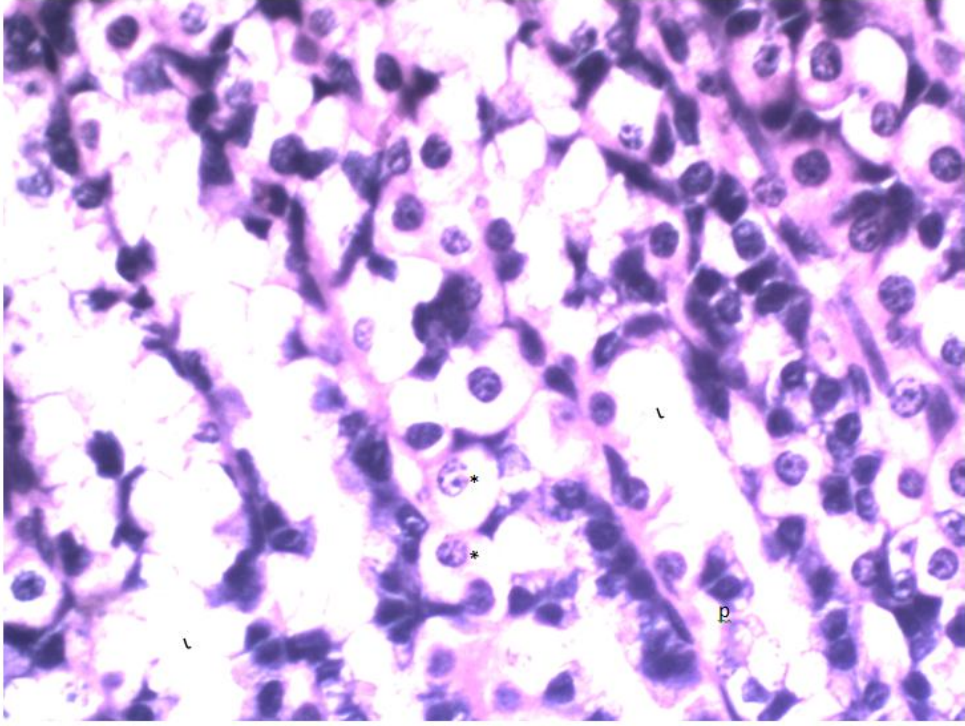
**Şekil 18.** 5 gün aç bırakılan sıçanların mide mukozası. Mukozayı tutan Polimorf Nüveli Lökosit (PNL) hücre infiltrasyonu (oklar). **H-E X 10**



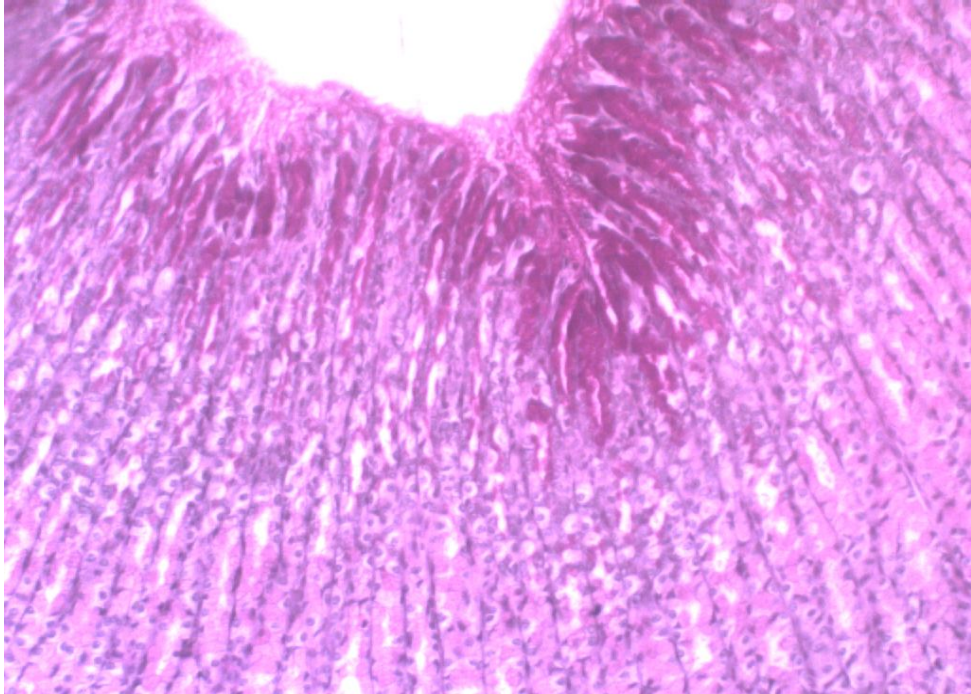
**Şekil 19.** 5 gün aç bırakılan sıçanların mide mukozası. Mukozada oksintik bezlerde genişleme ile beraber PNL infiltrasyonu (oklar). **H-E X 10**



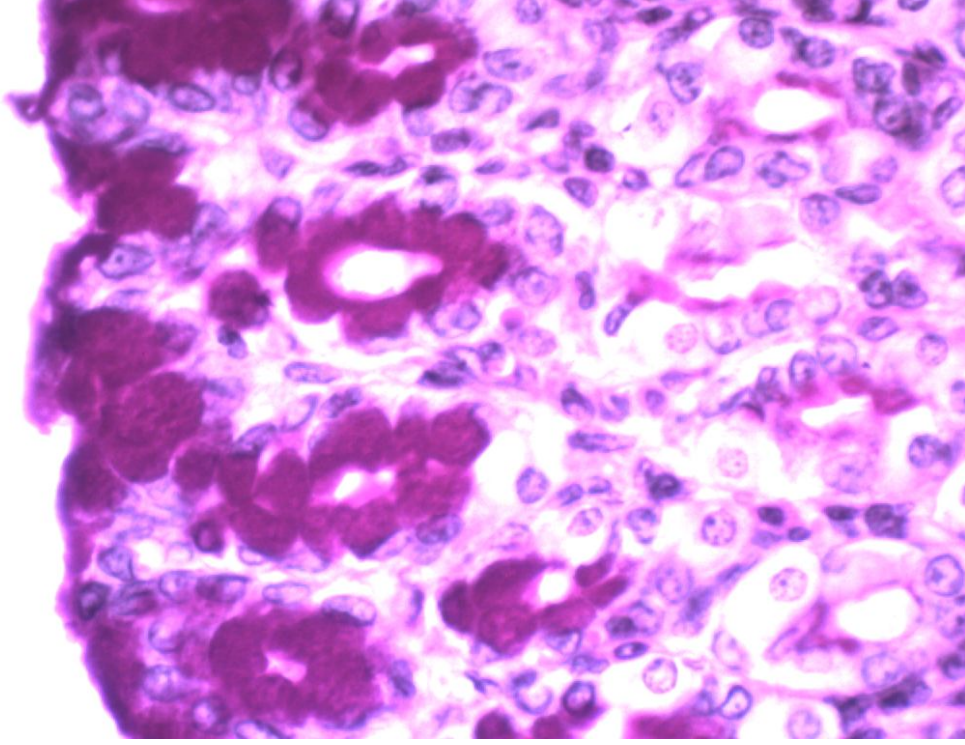
**Şekil 20.** 5 gün aç bırakılan sıçanların mide mukozası. Gastrik bez hücrelerinde piknotik çekirdekli pariyetal hücreler (oklar) ve apoptotik hücreler (\*). **H-E X 40**



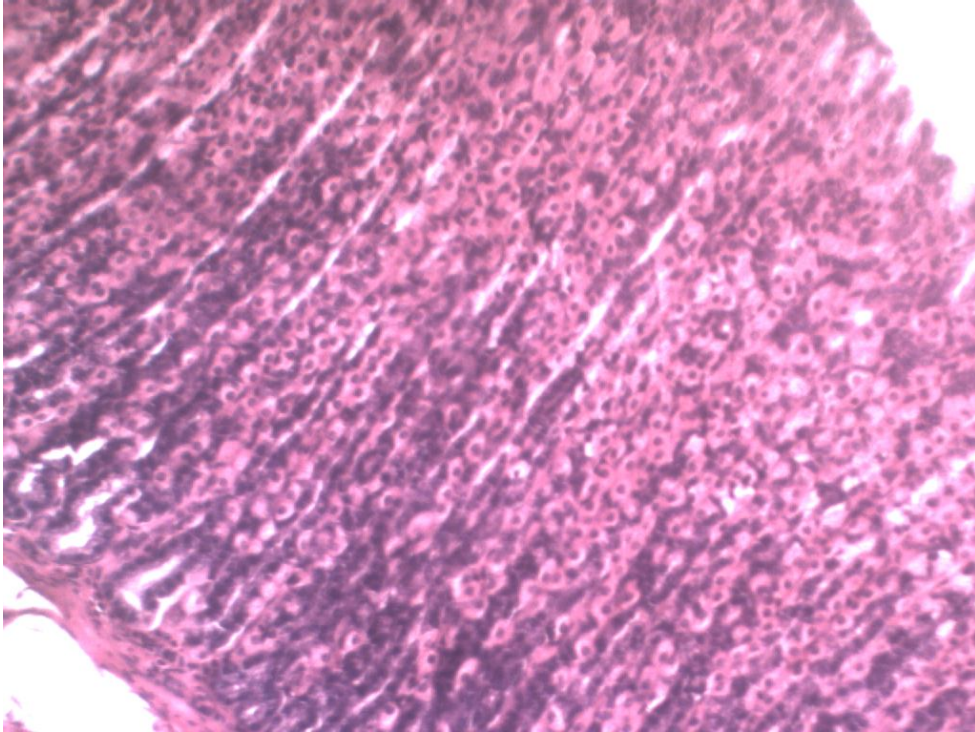
**Şekil 21.** 5 gün aç bırakılan sıçanların mide mukozası. Genişleyip köpüksü görünüm almış bez bez lümenleri (l), apoptotik değişiklikler gösteren bez hücreleri (\*) ve piknotik pariyetal hücreler (p). **H-E X 40**



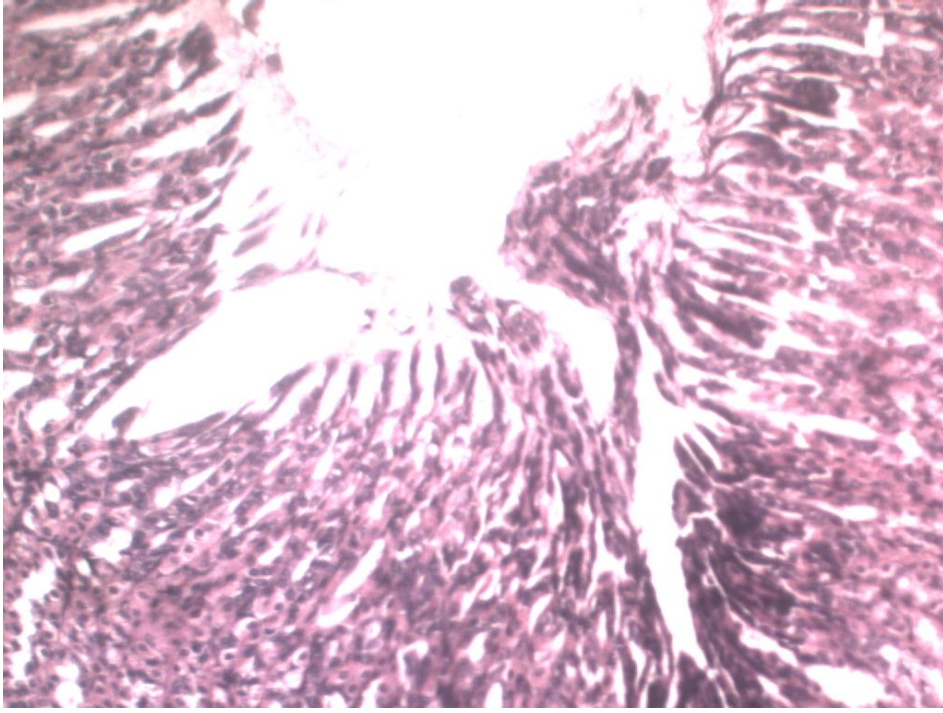
**Şekil 22.** 5 gün aç bırakılan sıçanların mide mukozası. Yüzey mukozada yoğun PAS (+) boyanma. **PAS X 4**



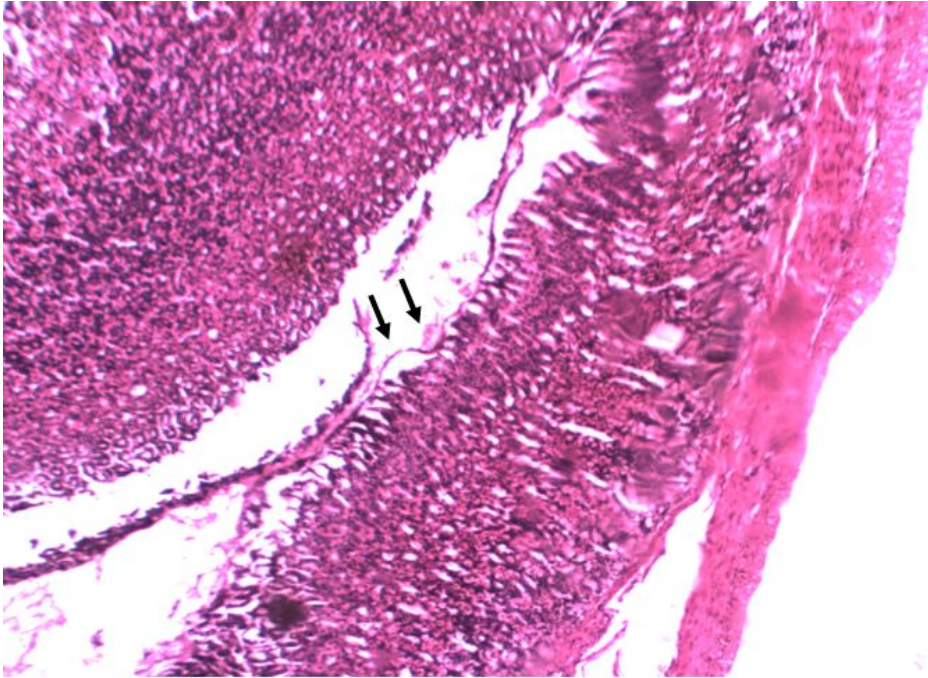
**Şekil 23.** 5 gün aç bırakılan sıçanların mide mukozasında yüzey epitel hücreleri ve müköz boyun hücrelerinde yoğun PAS (+)boyanma. **PAS X 40**



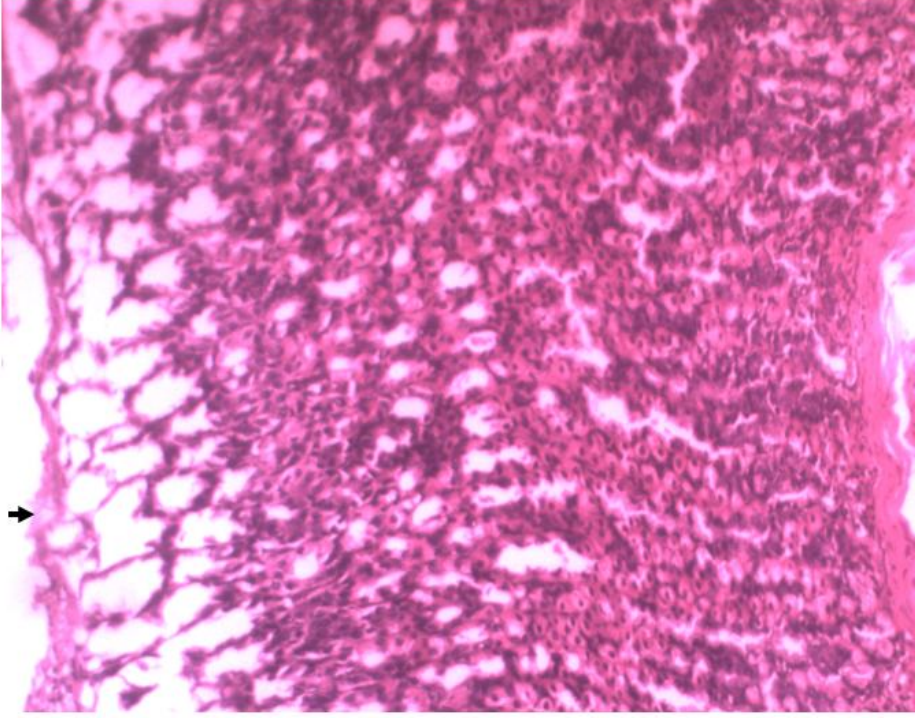
**Şekil 24.** 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide mukozası. Epitelin normale yakın görünüm sağladığı bazı alanlar. **H-E X 10**



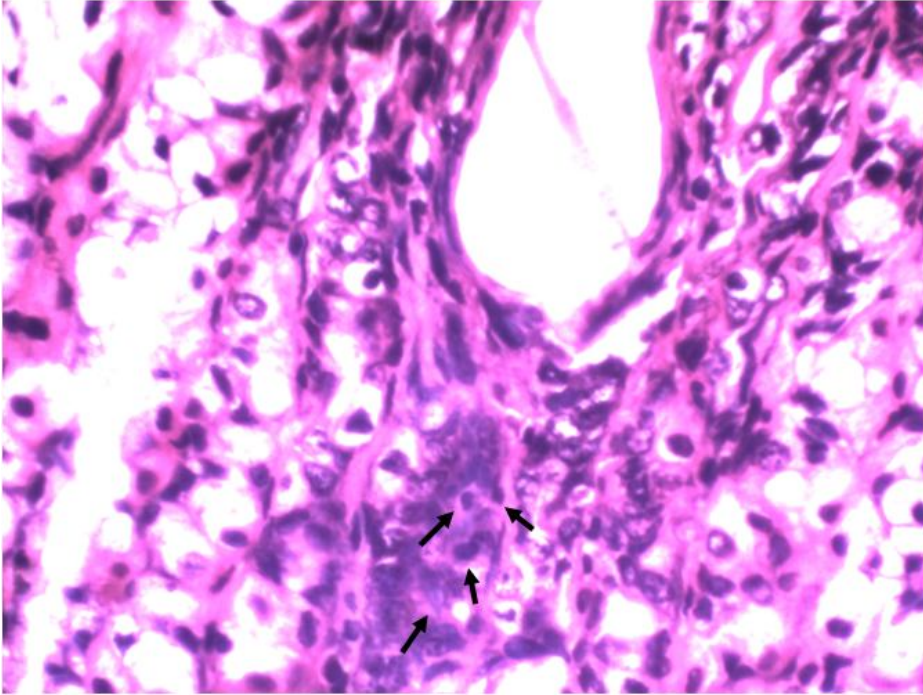
**Şekil 25.** 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide dokusu. Mukozada incelmeyeyle beraber dejeneratif görünüm, doku bütünlüğünde bozulma, yüzeyden ayrılma ve dökülmeler. **H-E X 10**



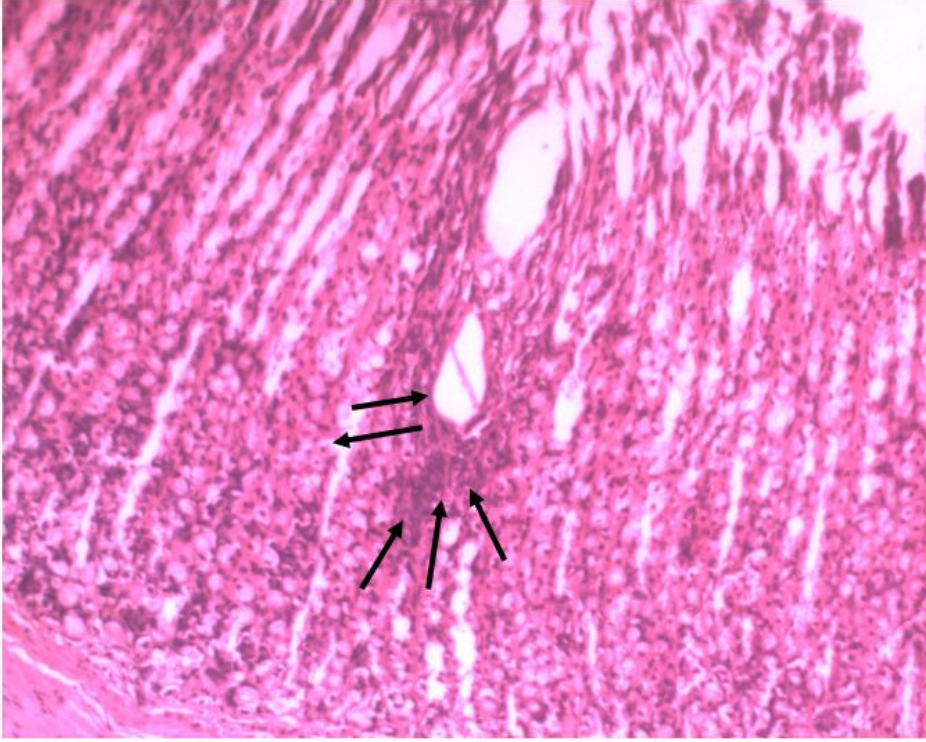
**Şekil 26.** 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide dokusu. Mukozada incelmeyeyle beraber dejeneratif görünüm, doku bütünlüğünde bozulma, yüzeyden ayrılma ve dökülmeler (oklar). **H-E X 4**



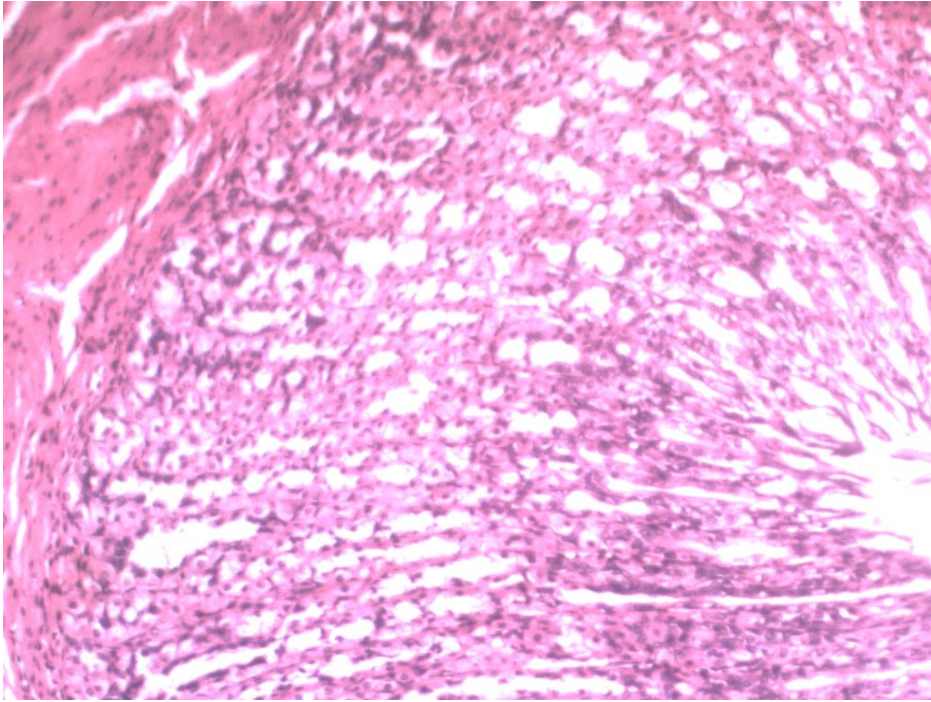
**Şekil 27.** 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide mukozası. Yüzeyden ayrılarak dökülecek genişlemiş alanlı epitel (ok). **H-E X 10**



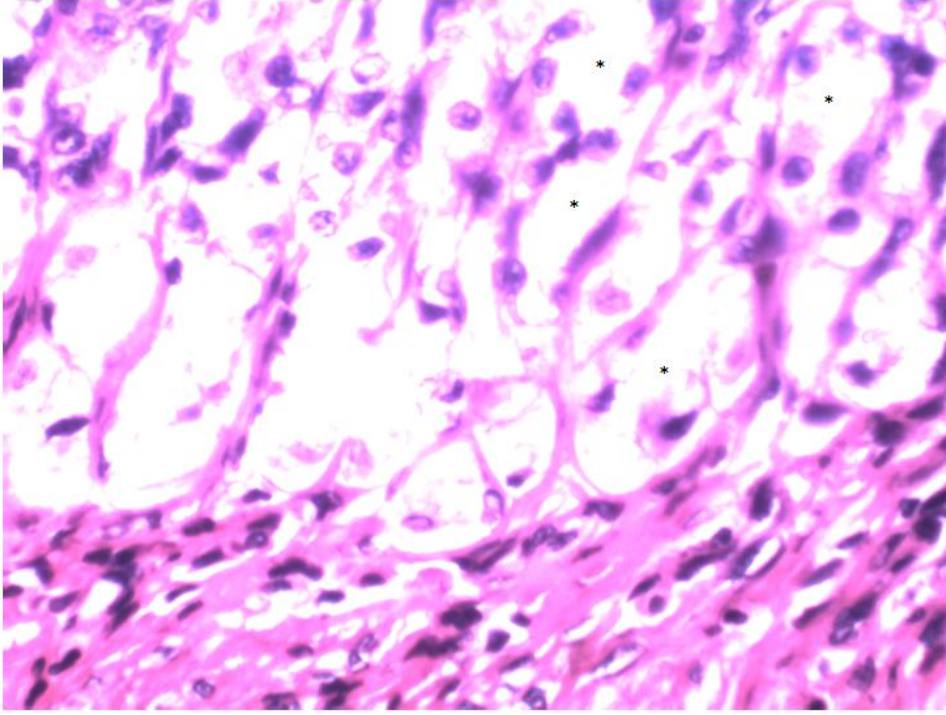
**Şekil 28.** 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide dokusu. Mide mukozasında genişlemiş bez lümeni etrafında artmış mononükleer hücreler (oklar). **H-E X 40**



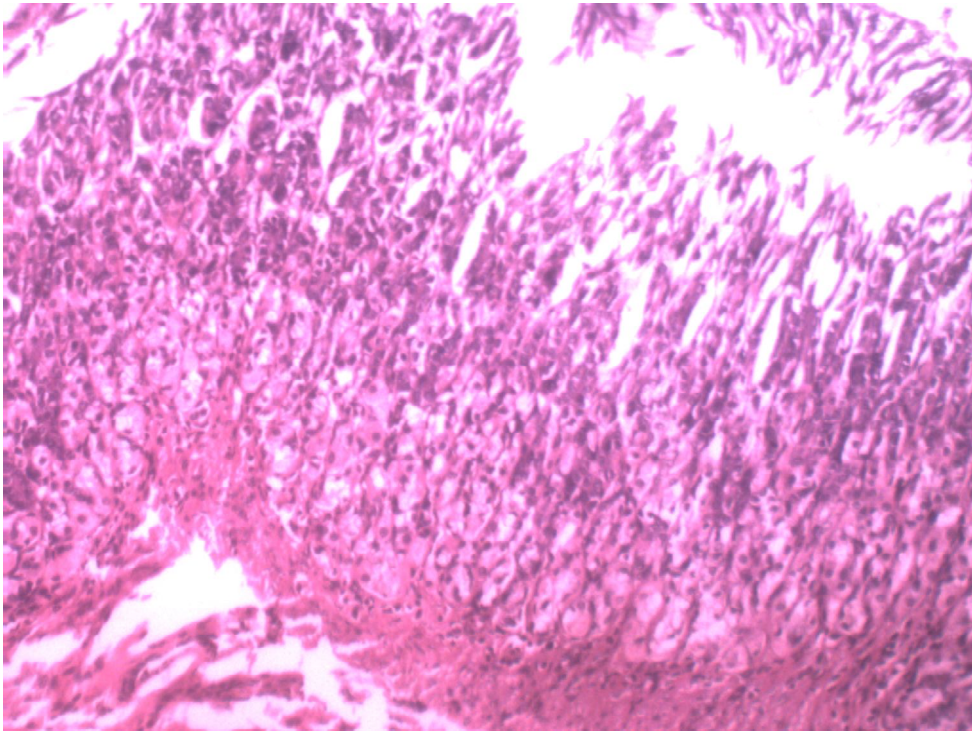
**Şekil 29.** 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide mukozası. Genişlemiş gastrik bez alanları etrafında artmış hücresel görünüm (oklar). **H-E X 10.**



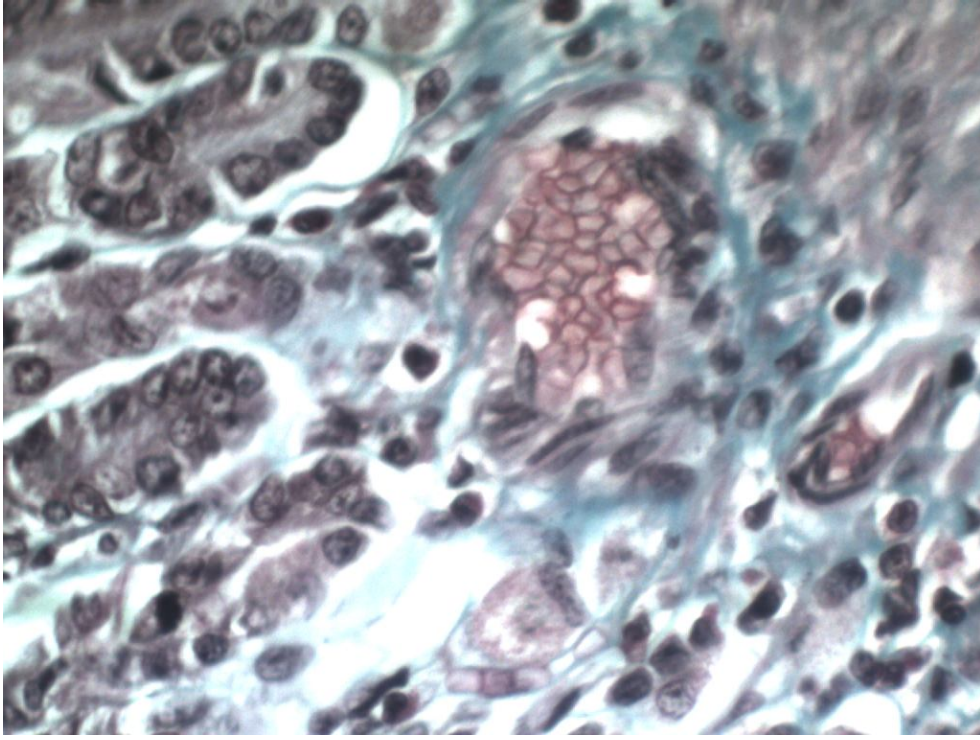
**Şekil 30.** 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide dokusu. Mide mukozası bezlerindeki genişlemeler. **H-E X 10**



**Şekil 31.** 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide mukozası tabanındaki bezlerde aşırı genişlemeler ve hasar gösteren gastrik principal bezler (\*). **H-E X 40**



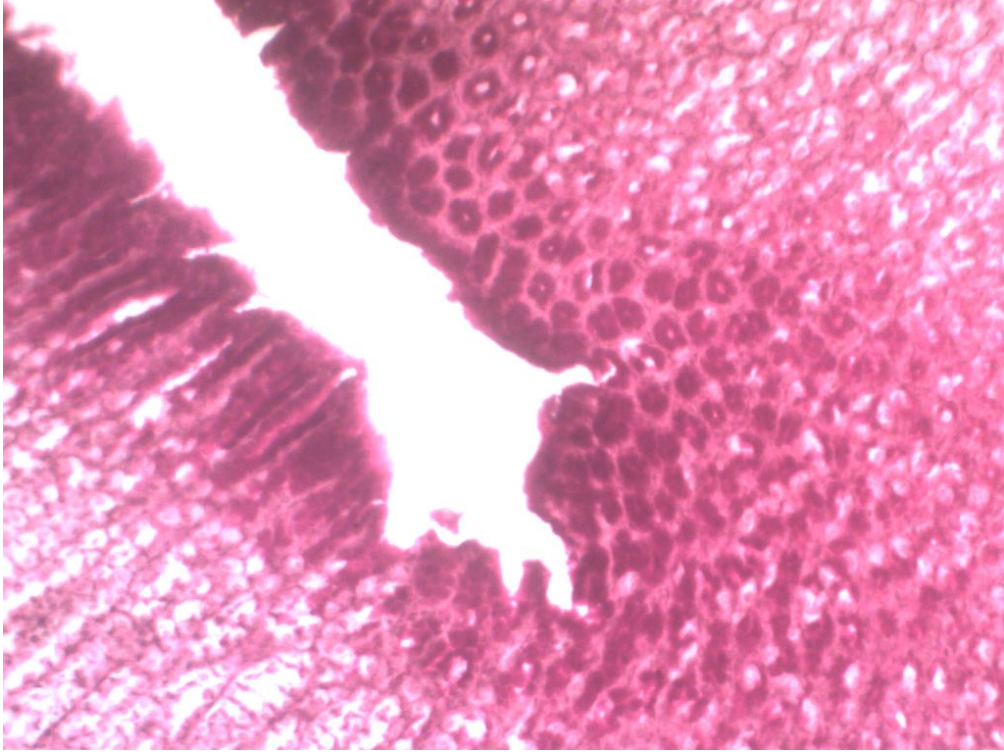
**Şekil 32.** 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide mukozası. Bazofilik boyanmanın azalması sonucu asidofilik boyanma gösteren principal hücreler. **H-E X 10**



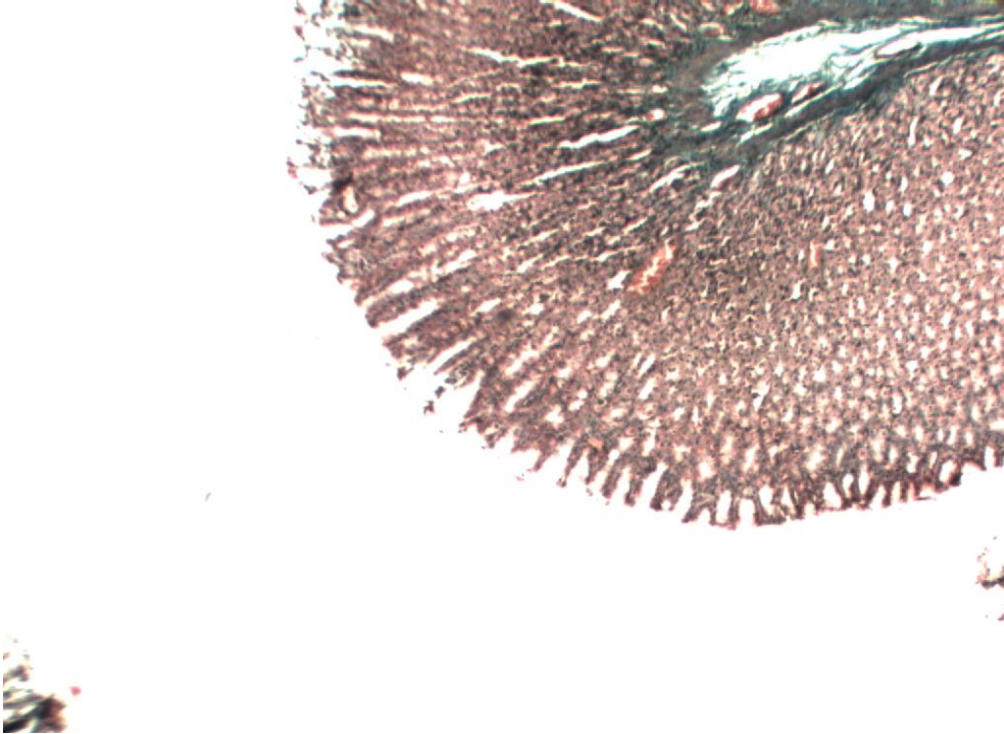
**Şekil 33.** 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide mukozası. Gastrik mukozada damarlarda konjesyon ve dilatasyon. **Masson'un üçlü boyası X 40**



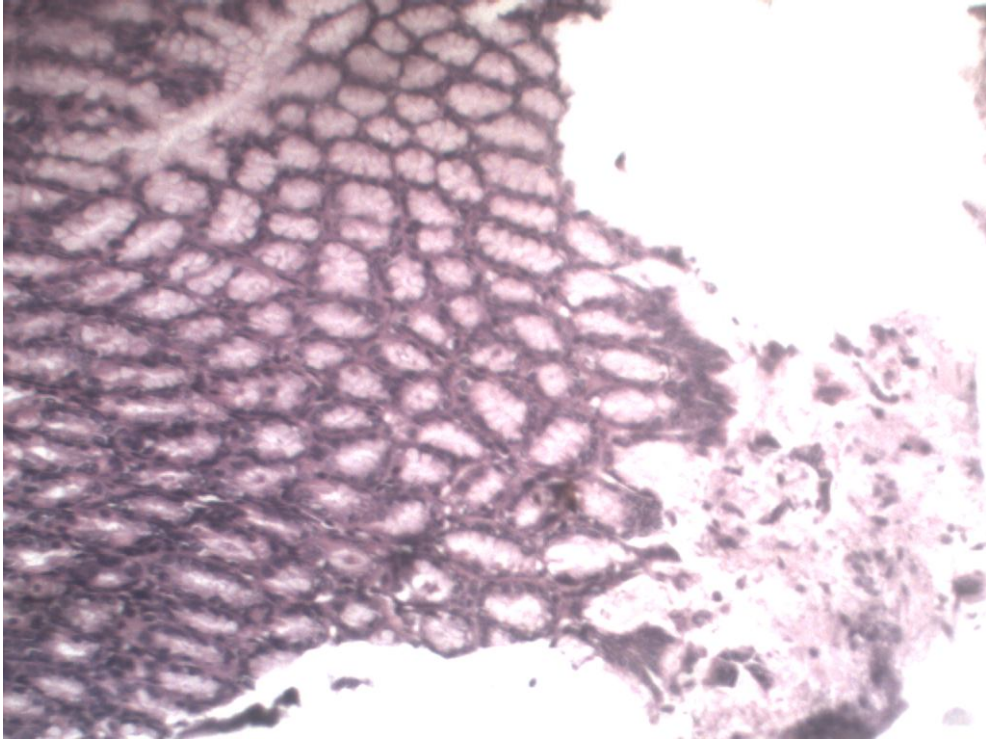
**Şekil 34.** 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide mukozası. Açlığa göre artmışPAS (+)'lik. **PAS X 4**



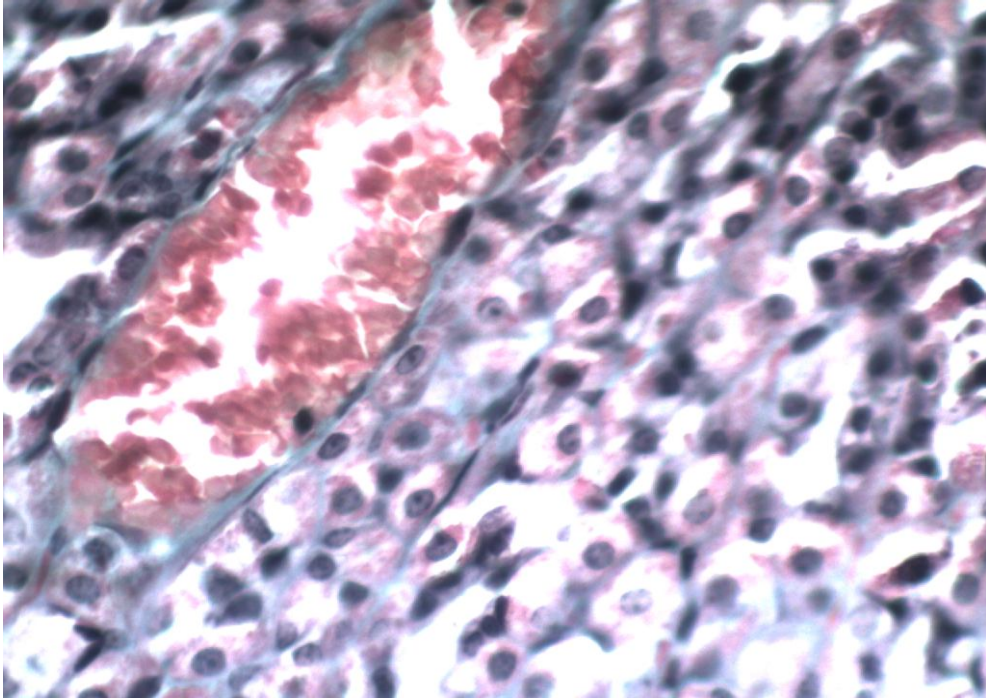
**Şekil 35.** 5 gün açlığı takiben 5 gün doyurulan sıçanların mide mukozası. Açlığa göre daha koyu PAS (+)'lik. **PAS X 10**



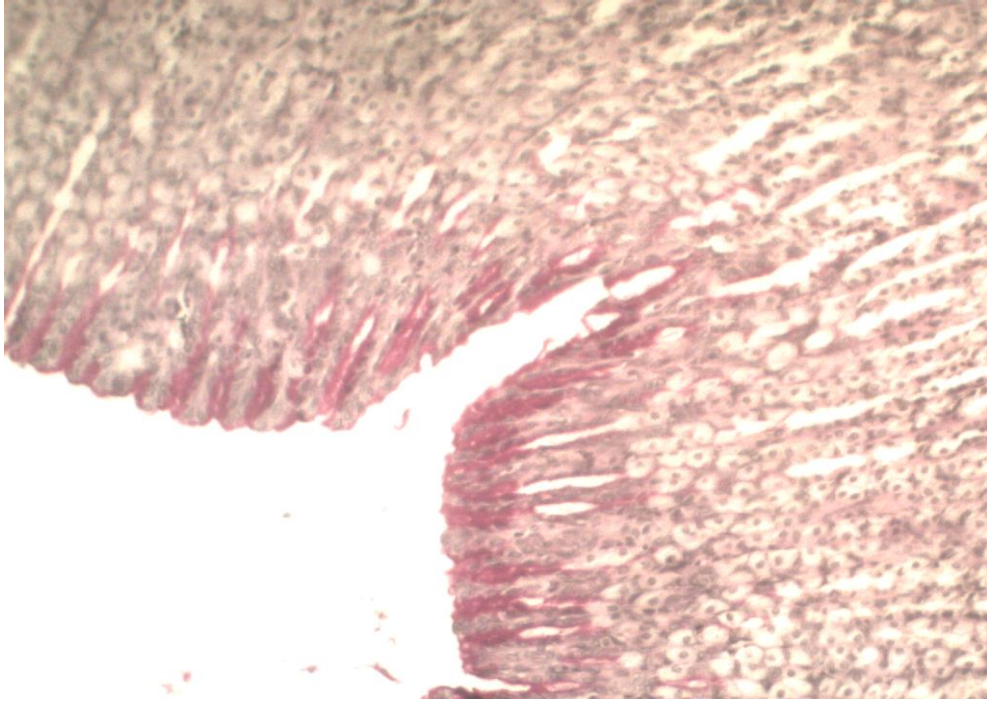
**Şekil 36.** 5 gün açlığı takiben 7 gün doyurulan sıçan mide dokusu. Mukozanın kısmen normale yakın görünümü. **Masson'un üçlü boyası X 4**



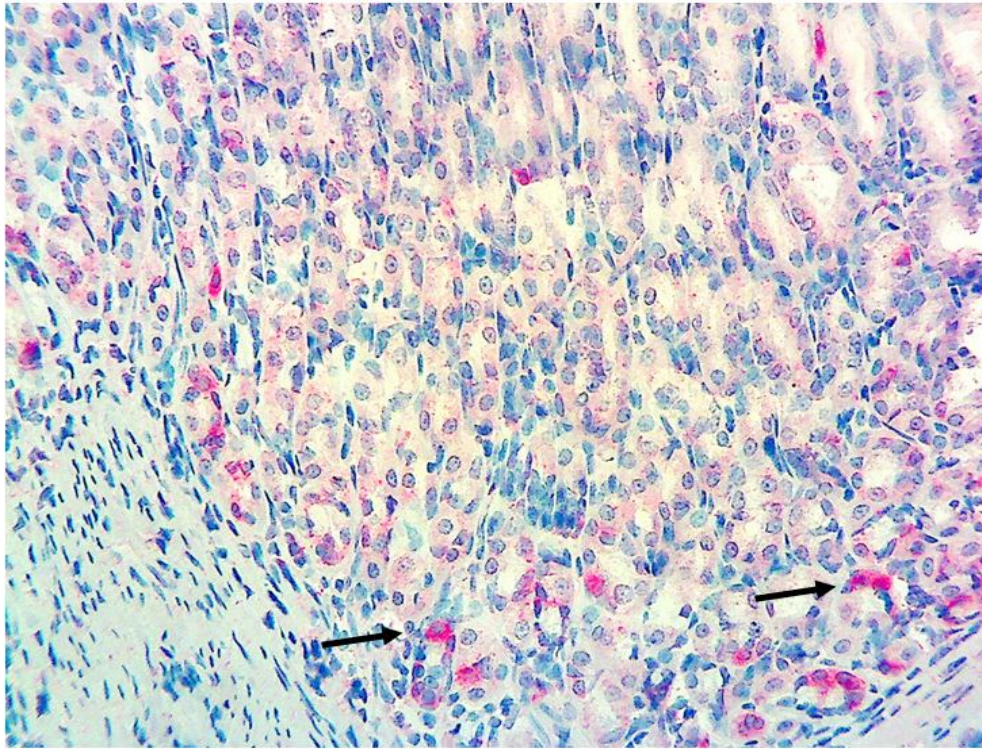
**Şekil 37.** 5 gün açlığı takiben 7 gün doyurulan sıçan mide dokusu. Gastrik müköz bezlerde artış ve yüzey epitelde dökülmeler. **H-E X 10**



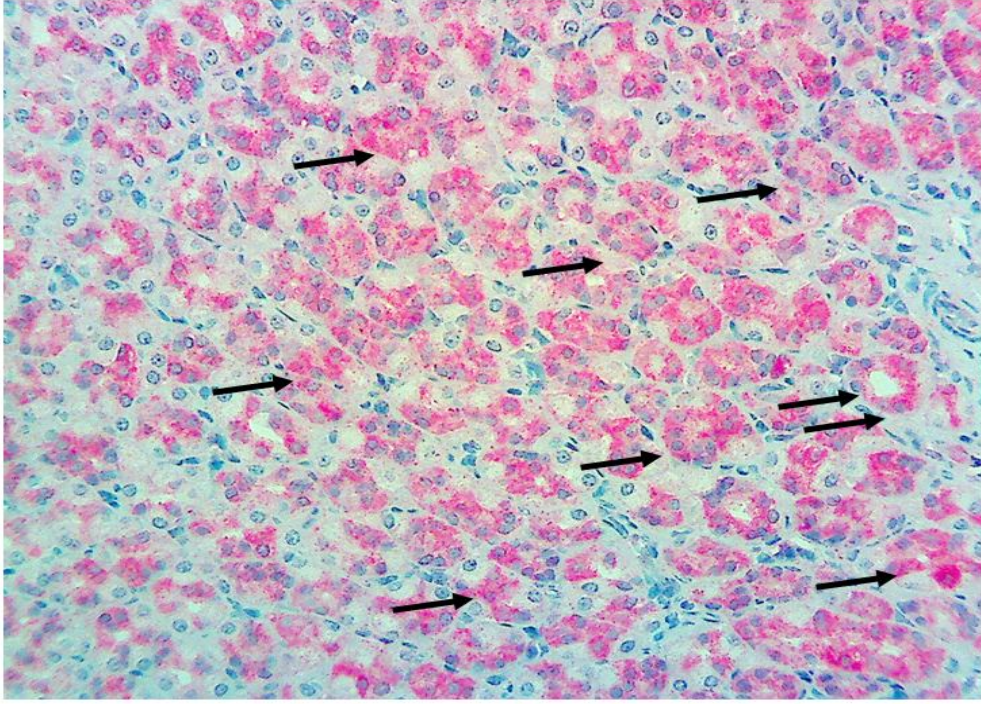
**Şekil 38.** 5 gün açlığı takiben 7 gün doyurulan sıçan mide dokusu. Gastrik bezlerde damar dilatasyonu. **Masson'un üçlü boyası X 40**



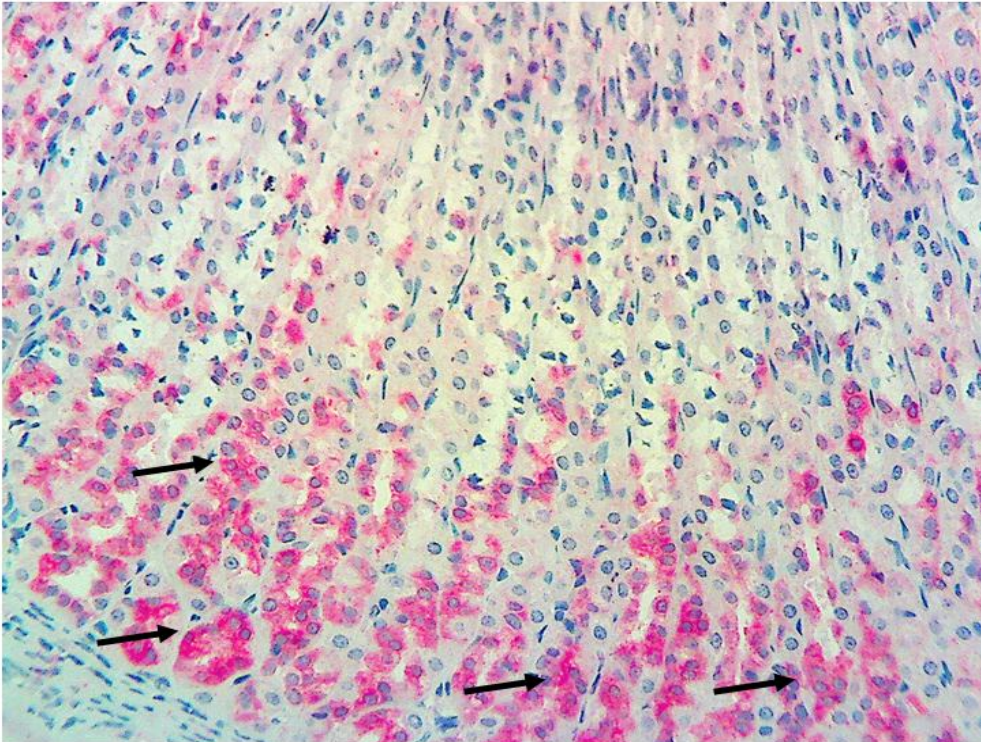
**Şekil 39.** 5 gün açlığı takiben 7 gün doyurulan sıçan mide dokusu. Mide mukozasında ve gastrik bezlerde kontrole benzer görünüm. PAS (+)'likte 5. Güne kıyasla azalma. **PAS X 10**



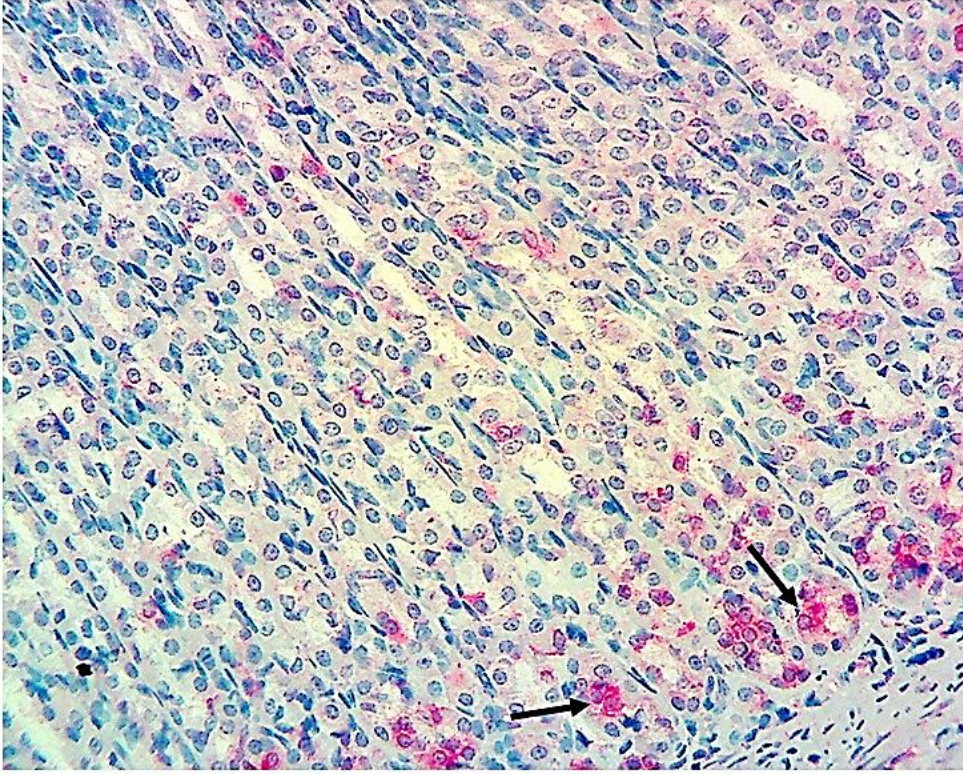
**Şekil 40.** Kontrol grubu sıçanların mide dokusunda (fundik bezlerde) nesfatin-1 immün pozitif hücreler (oklar) **X40**



**Şekil 41.** Beş gün aç bırakılan sıçanların mide dokusunda (fundik bezlerde) nesfatin-1 immün pozitif hücreler (oklar) **X40**



**Şekil 42.** Beş gün aç bırakıldıktan sonra beş gün doyurulan sıçanların mide dokusunda (fundik bezlerde) nesfatin-1 immün pozitif hücreler (oklar) **X40**



**Şekil 43.** Beş gün aç bırakıldıktan sonra yedi gün doyurulan sıçanların mide dokusunda (fundik bezlerde) nesfatin-1 immün pozitif hücreler (oklar) **X40**

## 6. TARTIŞMA

Nesfatin-1 yakın zamanda Oh-I ve Shimizu tarafından keşfedilen (2006) ve iştah regülasyonu (açlık ve tokluk), enerji homeostazisi (ayrıca ergenlikde enerji homeostazisi) ve insanla birlikte diğer türlerde üreme aksı üzerinde etkisi olduğu düşünülen bir peptittir (104,136,219,245). Enerji dengesinin regülasyonunda önemli bir rol oynadığı düşünülerek, gastrointestinal bir hormon olarak nitelendirilmek istenmişse de henüz kesin olarak spesifik reseptörleri tanımlanamamıştır (9,117,137,138). Multifonksiyonel peptid olarak veya olası bir biomarker olarak düşünülmüş ancak buda nesfatin-1'le ilgili tüm soruları cevaplayan bir çözüm olmamıştır (116,117). Nesfatin-1 iştah regülasyonu ve enerji homeostazisi dışında aynı zamanda pek çok ek fonksiyonada sahiptir. Öyleki aynı anda değilse bile veya farklı çalışmalarda olsa bile zıt etkiler ve zıt işlevsellik gösterebilmektedir. Örneğin bir çalışmada anti-apoptotik ve antiinflamatuvar etkileri vurgulanırken bir diğer çalışmada apoptotik ve inflamatuvar bir görünüm sergileyebilmektedir (127,132,230,231,235).

Ancak kesin olan ve kanıtlanmış olan fonksiyonu şudur ki; ilk keşif çalışmasından bu yana nefatin-1'in özellikle yalnızca icv uygulama ile (2006) karanlık faz gıda alımını inhibe ettiği yani tokluk hissi oluşturduğu gösterilmiş ancak günümüze kadar gelen sürede ise pek çok çalışma ile bu durum insülinotropik etkileri ile pankreas ve gastrointestinal sistemdeki (ilave olarak beyinde ARC, PVN, SON, NTS ve E-W nükleuslarındaki lokalizasyonu) yeri ve önemide belirginleşecek şekilde teyit edilerek ve pekiştirilerek gelmiş ve hatta günümüzde artık yalnızca icv değil subkutan (sc) ve ip periferal uygulama (2015) ile bile iştah üzerinde regüle edici bir etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur. Ancak neredeyse hemen her

çalışmada bu etkinin başlama zamanı ve nesfatin-1'in uygulanma şekli, süresi ve dozu farklıdır. Otörler arasında da bu konuda bir fikir birliği yoktur. Ancak tüm çalışmacıların ve otörlerin ittifakla savunduğu şey nesfatin-1'in en azından obezite ve obeziteye bağlı gelişen komorbiditelerin önlenmesinde terapötik bir ajan olarak kullanılabilmesinin yakın bir gelecekte kesinlikle mümkün olacağıdır (104,112,113,115-117,131,186,187,200,251).

Tüm bu karmaşık görünümü altında nesfatin-1'in esas etkisinin iştah regülasyonu ve enerji homeostazisi olarak kabul edilmesini sağlayan pek çok çalışmada mevcuttur. Aynı anda obezite ve ona bağlı olarak gelişen sağlık sorunlarında son dekatlarda ve günümüzde olağanüstü düzeyde artmış olması, obeziteye bağlı morbidite ve mortalitenin önlenmesinde nesfatin-1 molekülünü oldukça değerli hale getirmiştir. Hücresele düzeyde etkileri tanımlandığı gibi obezite ile ilgili olarak nesfatin-1 molekülünün bu süreçteki rolünü ve olası obeziteyi önleme mekanizmasını açıklamaya yönelik pek çok çalışma yapılmıştır. Örneğin; nesfatin-1'in obez bireylerde adipoz dokular yoluyla üretilen dokuya özgü bir adipokin olduğu, tip-2 diabet hastalarında nesfatin-1 seviyelerinin arttığı, MetS'lu hayvanların üreme organı dokularındaki nesfatin-1 miktarlarının arttığı ancak MetS'lu sıçanların serumundaki nesfatin-1 miktarlarının azaldığı, obezite hipertansiyonunda nesfatin-1 miktarı artışının bir risk faktörü olabileceği, intravenöz nesfatin-1 injeksiyonunun kan şekerini azalttığı, açlık nesfatin-1 seviyelerinin obez deneklerde daha düşük olduğu saptanmış ve belirlenmiştir (117,149,151,161,165,166).

Son çalışmalarda nesfatin-1 tanımlanırken; Nesfatin-1/NUCB2'nin fonksiyonu büyük oranda bilinmiyor olsa da, sekansının sıçanlar ve farelerden

insanlara kadar yüksek oranda korunmuş olduğundan bu özelliğin önemli bir biyolojik role işaret ettiği ve nesfatin-1'in keşfinin deponun dolu olduğunu beyne bildiren çok sayıdaki kimyasal haberciler topluluğuna yapılmış en son ilave olduğu ve esas olarak nesfatin-1'in bir "barsak-beyin" peptidi olduğu ve gastrik mukozanın nesfatin-1/NUCB2'nin predominant kaynaklarından biri olabileceği vurgulanmıştır (108,131,186,187,200).

Açlık yalnızca bir disiplinin bakış açısıyla değerlendirilemeyecek kadar geniş bir fenomendir. Çünkü açlık organizmada birçok hayati değişikliğe neden olur (7). Öyleki fizyolojik olarak ele alındığında biyokimyasal temellendirmenin yapılamaması ortaya atılan problemin çözümünde eksik verilerle yüz yüze kalmamıza yol açmaktadır. Keza biyokimyasal sürecin tanımlanması yine de eksikleri dolduramamakta ve moleküler düzeyde bir yaklaşım ve genetik bulgularla da problemin bilinmeyenlerini cevaplamaya çalışmak gerekmektedir. Uzun bir birikim ve yoğun çalışmalarla açlığın biyokimyasal karakteri klasik bir görünüm kazanmıştır.

Normal beslenme koşullarından mahrum kalan organizma açlığa geçişte rutin biyokimyasal süreçlerinin olağan substratlarını daha doğru ve güncel olan bir deyimle ve deyim yerindeyse "yakıt" moleküllerini değiştirir. Çünkü açlığın davranışsal bir görünümle fizyolojik dışavurumunda ve ortaya çıkan bu negatif itkinin giderilmesi için sergilenen tüm kompensatuar faaliyetlerinde (tokluk duygusu için besin arama, bulma ve yemek yeme davranışlarının ) tek amacı, diğer temel fizyolojik güdülerin (üreme, hayatta kalma vb.) gerçekleştirilme ihtiyacının karşılanması için gerekli ve elzem olan enerjinin elde edilmesidir. Bu haliyle "yakıt" terimi "substrat" terimine göre çok daha uygundur. Bu durumda besinlere

damak zevki ve doyum sağlayan objeler olarak değilde enerji kaynağı olarak bakmaksız zorunlu bir önermedir. Bu enerji kaynakları yeme, çiğneme, sindirim ve emilim süreçlerinden geçtikten sonra artık tam anlamıyla birer moleküler yakıt veya moleküler enerji rezervi haline gelir. Ki süreç bununla bitmemekte henüz başlamaktadır. Bu moleküler yakıtlar organizma tarafından tre zđ biyokimyasal yollara sürülerek gerçek anlamda enerji üretimi gerçekleştirilir. Hemen hemen tüm türlerde ortak enerji molekülü ATP bu üretimin neredeyse son noktası sayılabilir. Ancak sorun enerjiyi kazanmaktada bitmemektedir. Çünkü enerjinin ve enerji kazanımının kendisi kadar önemli olan bir diğer fenomen ve şaşmaz olan kural bu kazanımın organizmanın canlılığını tehlikeye düşürecek ařırđ bir negatif bilançoya veya ařırđ bir pozitif bilançoya varmasını engellemektir. Yani kontrol etmektir. Tđpkı tüm bilim dallarında olduğu gibi biyolojik olarakta süreç/sistem ve sistemi kontrol eden düzenlemeler (st süreçler/st sistemler) içiçe ve ayrđřtırılmaz ve vazgeçilemez bir bütünlük sergilerler.

İşte tam bu noktada artık iştah davranışı, yemek yeme faaliyeti ve metabolik süreçler birbirinden ayrılamaz bir bütün olarak enerji regülasyonu başlığı altında birleştirilerek değerlendirilebilir hale gelmekte ve yine tam bu noktada konumuz ve tez çalışmamızın amacı olan Nesfatin-1/NUCB2, en yeni iştah/enerji regülasyonu moleküllerinden biri olarak ve bir bilmece gibi karşımıza çıkmaktadır. Nesfatine gelinceye kadar leptin, ghrelin ve bombesin gibi pek çok iştah molekülü veya enerji regülatörü peptidler uzun zaman ilgi konusu olmuştur. Ancak denilebilirki Nesfatin-1 kadar çelişkili ve çeşitli bir görünüm sağlayan molekl yoktur. ylesine ki Nesfatin-1'in bir hormon mu yoksa multifonksiyonel peptid mi olduğu dahi tartışılmaktadır. Ancak kanımızca Nesfatin-1'in sergilediği bu çelişkili görünüm doğru cevapları

bulabilmemiz için pek çok ipucunuda içinde barındırmaktadır. En basit örnek olarak çalışmamızda elde ettiğimiz immünohistokimyasal bulgular literatürle taban tabana zıttır. Ancak biz bu durumun bir olumsuzluk değil aksine Nesfatin-1'in işleyiş mekanizmasını ve enerji regülasyonu kontrol sistemi (veya sistemlerindeki) rolünü aydınlatmaya yarayacak önemli bir ipucu olduğunu düşündük ve hipotezimizi bu fikre dayanarak inşa ettik.

Çalışmamızın yapıldığı şu ana kadar henüz literatürde 5 (beş) gün açlık ve açlık sonrası doyurulma koşullarında kıyaslamalı olarak nesfatin-1 immünreaktivitesine yönelik bir araştırma saptayamadık. Bu nedenle çalışmamız literatürde açlık ve açlık sonrası koşullarında nesfatin-1 immünreaktivitesini 5 (beş) gün sürelik bir açlıktan sonra değerlendiren öncül bir çalışma olma özelliğine sahiptir. Bu nedenle karşılaştırma ve karşı değerlendirme yapabileceğimiz bir çalışma yoktur. Saatlik veya günlük olarak açlıktan sonra doyurulmayı takiben nesfatin-1 çalışmaları vardır ama bunlar serum nesfatin düzeyleri ile veya prenesfatin mRNA ekspresyonu ile ilişkilidir (185,187). Açlık esas alınarak ancak doyurulma sonrası ihmal edilerek pek çok immünohistokimya çalışması yapılmıştır. Sonuç olarak ise açlık koşullarında (sıklıkla 1 günlük açlık sonrası ve açlığı takiben doyurulma olmadan veya öğünlere bağlı açlık ve doyurulma veya öğünler arası açlık ve diğer öğünle sağlanan tokluk) nesfatin-1/NUCB2 ekspresyonunun düştüğü veya sadece belirli süreye bağlı bir açlık döneminden sonra nesfatin-1 immünreaktivitesinin belirli organ veya dokularda saptandığı bildirilmiştir (108,112,113,117,131,185,186). Ya da gastrik nesfatin-1 seviyesini açlık ve doyurulma sonrası şartlarında değerlendiren ve mTOR seviyeleri ile pozitif korelasyonunu ortaya koyan çalışmalar yapılmıştır (191). Ancak kesin olarak

bildirilen durum ise açlık koşullarında nesfatin-1/NUCB2 ekspresyonunun azaldığı tokluk koşullarında ise nesfatin-1/NUCB2 ekspresyonunun arttığıdır (108,185,191,251).

Ancak yine özellikle belirtmemiz gerekir ki şimdiye kadar hiçbir çalışmada nesfatin-1 immün reaktivitesi açlık (ve özellikle 5 gün süreli uzamış açlık ) ve açlık sonrası doyurulma koşullarında (5 ve 7 gün doyurulmayı takiben ) çalışılmamış ve demonstre edilmemiştir. Bu durum bizim için orijinallik açısından bir avantaj sağlarken karşılaştırma ve bulgularımızı ölçme ve değerlendirme yönünden tam bir dezavantaj sağlamaktadır.

Şöyle ki yukarıda verdiğimiz literatür bilgisinin tam aksine ve literatür bilgisi ile taban tabana zıt olarak normal doyurulmuş kontrol denekleri (Grup I - nesfatin-1 immün reaktivite şiddeti: 1.  $83 \pm 0.40$  ) ile kıyasladığımızda 5 gün aç kalmış sıçanlarda (Grup II - nesfatin-1 immün reaktivite şiddeti: 3.  $83 \pm 0.40$  ) mide dokusunda nesfatin-1 immün reaktivitesinin neredeyse 2 (iki ) kat artmış olduğunu bulduk (108,185,191,251).

Yine literatür bilgisine uyumlu olarak nesfatin-1 immün reaktivitesinin doyuruldukça normal (kontrol seviyelerine döndüğünü) seviyelere döndüğünü gördük (Grup III ve Grup IV). Ancak bu durum yine önceki çalışmalara göre taban tabana zıttı çünkü literatür bilgisine göre açlığı takiben doyurulmadan sonra yani 1 günlük açlık veya öğün sonrası açlık durumunda nesfatin-1/NUCB2 veya prepronesfatin ekspresyonu veya serum nesfatin-1 düzeyi azalırken hemen doyurulmayı takiben artmış ve normal bazal seviyeye dönmüştü (185,187,251). Oysa bizim çalışmamızda (Grup III- nesfatin-1 immün reaktivite şiddeti: 2.  $83 \pm 0.40$  ve Grup IV- nesfatin-1 immün reaktivite şiddeti: 2.  $16 \pm 0.40$  sıçanların mide dokusunda

5 gün açlık sonrasında 5 gün ve 7 günlük doyurulmayı takiben) nesfatin-1 immün reaktivitesi önce literatüre tamamıyla zıt olarak doyurulmaya rağmen bir miktar düşüş göstermiş (Grup III-diğer literatür bulgularına ve çalışmalara göre yüksek kalmış yani normal bazal seviyelere dönmemiş ancak doyurulmayı takiben azalarak literatüre hem uyumlu hemde uyumsuz şekilde çelişkili bir profil sergilemiştir). Grup IV deneklerin mide dokusunda da aynı immün profil izlenmiştir. Ancak Grup IV deneklerde immün reaktivite şiddetindeki düşüş nihayetinde bazal seviyeye yani kontrol deneklerde ki nesfatin-1 immün reaktivitesi şiddetine yaklaşmıştır (108,185,187,191,251).

Çalışmamız şu yönde oldukça orijinaldir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda belirgin olarak NUCB2 ve nesfatin-1 ayırımının yapılamadığından ısrarla söz edilmiştir. Zhang ve ark. tarafından yapılan çalışmada (kemirgenlerin sindirim sisteminde NUCB2 ekspresyonu) rodentlerin tüm sindirim organlarında aynı şekilde 50-kDa NUCB2 proteini tespit edildiği ancak bu proteinin immünohistokimyasal yöntemlerle pankreas, mide ve duodenumda ölçülebilir miktarlarda tespit edilmiş olup, ilave olarak Western blot çalışmasıyla aynı dokularda tespit edilen yüksek NUCB2 protein seviyeleri ile de uyumlu olduğu ancak nesfatin-1'in 82 aminoasitten oluştuğu ve öngörülen molekül ağırlığının 9.7 kDa olduğu ve Western Blot çalışmasında kullanılan antikorun Nesfatin-1 ve prekürsörü NUCB2'yi hedef alıyor olmasına rağmen çalışılan tüm dokuların Western blotlarının sadece NUCB2'yi temsil eden yaklaşık 50 kDa ağırlığındaki tek bandı tespit edebildiği lakin 9.7 kDa ağırlığındaki esas bandı göstermekte başarısız olduğu ve bu nedenle, daha önce Stengel ve arkadaşları tarafından açıklandığı üzere, bu çalışmada tanımlanan proteinin Nesfatin-1/NUCB2 olarak adlandırıldığı belirtilmiştir (186). Özetle sıklıkla

kullanılan yöntemlerin Stengel gibi otörler tarafından dahi belirtildiği üzere tam anlamıyla nesfatin-1 ve NUCB2'yi ayıradığı belirtilmiştir. Biz çalışmamızda orijinal olarak immünohistokimyasal olarak net bir şekilde nesfatin-1 molekülüne ait reaktiviteyi saptadık ve gösterdik. Çünkü uzamış açlık ve açlık sonrası doyurulma koşullarında ilk olan bu çalışmamızda saptanan molekülün nesfatin-1 olduğu kesindir. Bu durumda oldukça önemlidir çünkü yapılan pek çok çalışmada NUCB2 ve nesfatin-1'in kültür hücre ortamlarında farklı etkiler gösterebileceği, özellikle NUCB2 molekülü kullanılarak ispat edilmiştir. Öyleki NUCB2 kültürlenmiş hücre ortamına dışardan salgılandığında farklı etkiler (cAMP ve CREB fosforilasyonunu azaltmış) göstermiş, halbuki intrasellüler ortamda ekspresyonu ne kadar artarsa artsın aynı etkileri (cAMP ve CREB fosforilasyonunu etkilememiştir) göstermemiştir. Kanaatimizce bu durum nesfatin-1 reseptörlerinin varlığı ve hücre içi nesfatin-1 ve NUCB2 moleküllerinin etkilerini göstermek için kullandıkları metabolik ve sinyal yollarının farklılığının ve/veya bir noktadan sonra ortaklığının bir kanıtıdır (188).

Ayrıca çalışmamızın sınırlarını aşacağı için derinlemesine ele alamayacağımız ancak mutlaka üzerinde durulması gereken bir husus da az evvel belirttiğimiz NUCB2'nin hücre içi overekspresyonunda elde edilen sonuçlarla ekstrasellüler salgılanması arasındaki sonuçlarının farklılığının nesfatin-1 reseptörlerinin varlığına işaret ettiği gibi çok rahatlıkla hücre içinde NUCB2 ve nesfatin-1 moleküllerinin farklı etkinliklerine de işaret ediyor olabileceğidir. Bu durum pekala mümkündür çünkü NUCB2 sentezlendikten sonra PC etkinliği ile nesfatin-1 molekülüne dönüşmektedir. Bu durumda nesfatin-1 molekülünün ve NUCB2 molekülünün farklı hücresel etkinlikler göstermesi mümkün gibi görünmektedir. Bu aşamada ise kanaatimizce unutulmaması gereken ve en belirleyici

olan hususun diğ er tüm hücre iç i enzim etkinliklerini yönettiğ i gibi PC etkinliğ inide yöneten hücre iç i pH (pHi) olması gerektiğ idir. Hücre iç i pH'ında (pHi) genetik ve çevresel (beslenme gibi) faktörlerden bağımsız olamayacağı ise açıktır. Örneğ in; Konjenital prohormon konvertazı 1 eksikliğ inin erken başlangıçlı obezite, ince bağırsak disfonksiyonu, bozulmuş glukoz homeostazı ve bozulmuş prohormon işlemleri ile karakterize çok nadir görülen bir sendrom olduğu ve bu sendromda görülen obezite fenotipinin; bozulmuş proopiomelanokortin işleminin sonucu olarak ortaya çıkan hipotalamustaki azalmış melanokortin sinyalinin kaynaklandığı bildirilmekte ve ancak prohormon konvertaz 1'in beslenme davranışlarına dahil olan diğ er birçok nöropeptidi ayırdığı ve bu nöropeptitlerin bozulmuş klevajının - özellikle NUCB2/nesfatin- bu vakalarda obezitenin gelişimine katkıda bulunan bir faktör olabileceğ i belirtilmiş ve saptanmıştır (252,253).

Bizim çalışmamızın sonuçları ile uyumlu olan saptayabildiğimiz iki çalışmadan biri; 7 günlük gıda deprivasyonu sonrasında karaciğ erdeki NUCB2 mRNA seviyelerinde yaklaşık 6 katlık bir artış olduğu bulunan japon balıklarındı. Diğ erinde ise Zebra balığ ının beyinde beslenmeden 3 saat sonra ve 7 günlük bir besin yoksunluğ undan sonra NUCB2A ve NUCB2B mRNA ekspresyonu azalmıştı. 7 günlük besin yoksunluğ unu takiben karaciğ erde NUCB2B mRNA artmışken, bağırsakta NUCB2A ve NUCB2B mRNA'ları azalmıştı. Ancak burada da belirttiğimiz gibi nesfatin-1 immün reaktivitesi değ il NUCB2 ekspresyonu ölçülmüş, doku olarak karaciğ erde ve denek olarak balıklarda çalışılmıştı. Bu çalışmalarını bilinçli bir şekilde ihmal ettik (134).

Buna rağmen kendi çalışmamızın sonuçlarımızda dikkate alarak türe özgü metabolik yolak altyapısının çok önemli olduğ unu düşündük. Bu değ işken

biyokimyasal ve ekspresyonel sonuçların genlerle veya homeostazisi zorlayan çevresel şartlara cevap olarak ortaya çıkan gen modülasyonlarına bağlı metabolik yollardaki değişkenlikle veya özetle yalnızca türlere özgü metabolik yolk altyapısındaki tür genetiğine dayalı varyasyonlarla açıklanabileceğini ama nesfatin-1'in metabolik kontrol, enerji regülasyonu ve üreme aksını etkileme potansiyeliyle belirlenmiş fonksiyonel ve fizyolojik davranış paterninin tüm türlerde korunmuş olabileceğini düşündük.

Bizim majör temel bulgumuz literatür bilgisinin tam aksine olarak açlık grubundaki deneklerde gözlenen aşırı nesfatin-1 immün reaktivitesi (Grup II) ve segonder bir bulgu olarakda doyurulma sonrasındaki gruplarda (Grup III ve IV) doyurulma sonrası artması gereken nesfatin-1 immün reaktivitesinin kademeli bir şekilde düşmesidir ki bu durum yukarda bahsettiğimiz gibi bir yönüyle literatürle uyumlu bir yönüyle uyumsuzdur. Ancak biz bu durumu (hem majör hem segonder bulgumuzu) açıklamak için majör bulgumuzu birikmiş literatür ışığında temellendirmenin yeterli olacağını düşündük çünkü bize göre segonder bulgu majör bulguyu ortaya çıkaran sebebin bir sonucuydu. Yani aslında tek bir sebep ardışık olarak birden fazla uyumsuz sonuca yol açmıştı.

Ancak vurgulanması gereken son husus şudur; neden daha önce yapılan açlık ve nesfatin-1 çalışmalarında bu sonuç elde edilemedi. Kuvvetle muhtemel diyebiliriz ki bu sonuç deneysel çalışma modelimizde denekleri maruz bıraktığımız/ uyguladığımız açlık süresinden kaynaklanmaktadır. Çünkü daha önce yapılan çalışmalarda yani literatüre geçmiş açlık çalışmalarında açlık süresi ağırlıklı olarak 1 (bir) günle sınırlıydı. Ve daha çok karanlık faz tokluk oluşumu ve nesfatin-1 enjeksiyonları veya lokalizasyona yönelik nesfatin-1 immünhistokimya çalışması

yapılmıştı. Tespit edebildiğimiz 48 saatlik bir açlık süresi vardı ancak açlık maruziyet süresi 4-5 günü geçen ise pek azdı. 10 (on) gün süreli çalışma Matsumoto ve ark. tarafından yapılmıştı. 10 gün açlık süresini aşan ve 2 hafta açlık çalışması yapan ise yalnızca bir taneydi (Bruijne ve ark. ). Bizim hem avantajımız hem dezavantajımızı sağlayan bu durum (öncül bir çalışma olması nedeniyle avantajlı ancak yararlanacak hemen hiçbir birikimimiz olamaması nedeniyle dezavantajlı idik. Hipotezimizi tamamıyla öngörüler ve çalışmamızı desteklemeyen bir bilgi birikimi veya kısıntıları ile kurmak zorunda kaldık), bu çalışmaları yapan araştırmacıların (açlık süresi ile ilgili olarak) pek azının çalışma sürelerinde Faz III (uzamış açlık, "katabolik stres") e ulaşabilmiş olmaları ve bu Faz III kriterlerini yaratacak hücresel ortamı sağlayan çalışmacıların ise ya insan deneyleri yapmış olmaları ya da nesfatin çalışmamalarıydı. Yani yapılan çalışmalar ya insan deneyi idi ve nesfatin çalışılmamıştı ya da rat deneyi idi ancak süre kısaydı ya da süre uzun tutulmuştu ve rat deneyi yapılmıştı ancak nesfatin-1 immün reaktivitesi çalışılmamıştı (57,89,108,112,113,117,131,185-187,191,251,254).

Nesfatinle ilgili ilk tanımlayıcı deneylerin ve keşif araştırmalarının yapıldığı 2006 tarihi başlangıç olarak kabul edildiğinde, günümüze göre henüz erken sayılabilecek ilk çalışmalarda dahi çoğu kez gözlerden kaçmış olsa veya üzerinde durulmamış gibi görünsede çarpıcı ve dikkat çekici ve aynı zamanda bizim tezimizdeki güncel literatürle uyuşmayan ve taban tabana terslik ve zıtlık gösteren bulgumuzu açıklayan önemli bir tespit mevcuttur. Biz mevcut deneyimizde uzamış açlık durumunda nesfatin-1'in neredeyse kontrollere kıyasla 2 (iki) kat artmış olmasını bu tespite dayanarak çok rahatlıkla açıklayabiliyoruz. Aynı zamanda bu tespit ve bu tespite dayanarak ortaya attığımız ve ayrıntılı bir biçimde tablolarla da

demonstre edebildiğimiz ve yine bu tespite dayanarak ileri sürdüğümüz hipotetik mekanizma ve kuramsal fonksiyonel ilişkiler sonuçlarımızın literatüre taban tabana zıt olmadığını tam aksine kabul görmüş mevcut literatürle tamamıyla uyum içinde olduğunu ortaya koymaktadır. Bizim yaptığımız şey tamamıyla öngörüye dayalı bir deneysel modelle nesfatin-1 davranışlarını uzamış açlık şartlarında histokimyasal olarak test etmek ve ortaya çıkan immünohistokimyasal sonuçların aslında görünürde literatürle uyumsuz olmadığını daha önce yapılmış ancak yeterince önemsenmediğini düşündüğümüz bir tespite dayanarak ve bu tespitle (m-TOR-s6K-Nesfatin-1 ilişkisi) ilgili tamamıyla hipotetik ve kuramsal (ancak eldeki literatüre dayalı) yeni bir mekanizma tanımlayarak ve öne sürerek açıklamaya çalışmaktan başka bir şey değildir. Özetle elde ettiğimiz immünohistokimyasal bulguları zorunlu ve kaçınılmaz olarak histoloji ana bilim dalının sınırları dışına çıkıp hücre biyolojisi ve biyokimya gibi disiplinlerle de teorik anlamda işbirliği yaparak açıkladık. Bu açıklama ve öne sürdüğümüz fonksiyonel ilişkiler ağı veya mekanizmayı aydınlatıcı algoritmaların yine de histoloji disiplininin sınırları içinde kaldığını en azından doğrudan histolojik prensiplere dayalı bir açıklama olduğu kabul edilmese bile henüz gelişmekte olan ve moleküler histoloji olarak adlandırılan bir alt disiplinin sınırları içinde rahatlıkla değerlendirilebileceğini düşünmekteyiz.

Yukarıda da belirttiğimiz gibi başlangıç ve keşif çalışmalarının yapıldığı erken dönemlerden itibaren zayıf ve silik ve hatta sanki göz ardı edilmişçesine tek tük çalışmalar şeklinde göze çarpan aslında bizce çok önemli ve üzerinde durulmak için oldukça gecikilmiş olan tespit m-TOR-Nesfatin-1 ilişkisidir. İlave ve doğal sonuç olarak s6K'nın nesfatin-1'le olan kolokalizasyonu ve açlık ve tokluk koşullarında m-TOR-s6K-Nesfatin-1 üçlüsünün ortak davranışlarıdır. Bu durum

literatürde defaten ancak az sayıda çalışmayla ispatlanmıştır. Klasik kabul olarak açlık koşullarında (uzamış açlık değil-Faz I ve Faz II yani post absorbtif (açlık)) bu üçlünün ekspresyonunun azaldığı (genellikle açlık süreleri bir günle sınırlı kalmıştır ve hiçbir çalışmada Faz III yani katabolik stres oluşuncaya kadar açlık süresi uzatılmamıştır veya uzatılan çalışmalarda m-TOR-s6K-nesfatin-1 ekspresyonu ortaya konmamıştır veya çalışılmamıştır) tokluk koşullarında ise m-TOR – s6K – nesfatin-1 ekspresyonunun arttığı (tokluk koşulları-postprandial) saptanmıştır. Hatta bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar sürekli belirtildiği gibi nesfatin-1'in yalnızca bir açlık –tokluk regülasyonu yapan kaba ve niteleyici fonksiyonel bir molekül olmadığını aynı zamanda henüz tam açıklanamayan enerji dengesindeki niceliksel rolüne de atıf yapan sonuçlar ortaya koymuştur. Şöyle ki nesfatin-12in aslında açlık – tokluk regülasyonunda ki rolü neredeyse hücrenin ve organizmanın enerji dengesindeki rolünden bağımsız değildir. Çünkü yapılan çalışmalarda hücrenin enerji statüsü için en önemli sayaç olarak kabul edilen AMPK ve enerji statüsüne göre enerjetik moleküllerin hücre içine alımını gerçekleştiren IRS molekülleri ile de nesfatin-1 ilişkisi kesin olmamakla birlikte gösterilmiş veya en azından bu moleküller arasında dinamik bir etkileşim olduğu ileri sürülmüştür (108,189,190-193,229,248,255). MAPK/ERK yolağının rolü ise az sayıda çalışmada vurgulanmıştır (119,189). Oldukça dikkat çekici bir bulgu olarakda nesfatin-1'in doza bağımlı olarak (1µg/kg uygulandığında) AMPK VE ACC ekspresyonunu artırdığı saptanmıştır (229). Yine yapılan çalışmalarda santral nesfatin-1'in m-TOR fosforilasyonu aracılığıyla IRS-I/AMPK/Akt/ rapamisin hedefi kompleks 2 (TORC2) yolağı üzerinde etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir (248). Tüm bu çalışmalar dikkate alındığında enerji durumundaki değişiklikler ile gastrik m-TOR sinyalizasyonu ve

nesfatin-1/NUCB2 arasında paralel bir ilişki bulunduğunu ve hem m-TOR aktivitesi hem de gastrik nesfatin-1/NUCB'nin açlık ile aşağıya doğru regüle edildiğini ve tekrar beslenme ile bazal seviyelere döndüğünü söylemek tamamıyla doğru bir tespittir (191).

Tokluk ve açlık fazları ve bu fazlara girmek için gereken sürelerin (günlere göre açlığın ilerlemesiyle değişen Faz I, Faz II ve Faz III) türlere ve hatta aynı tür içinde varyasyonel olarak meydana gelen değişikliklerine ise bu bölüme ait yukarıdaki (tartışma girişi) açıklamamızda ve "açlık" başlığı altında oldukça ayrıntılı olarak değindik.

Uzamış açlık durumunda yani bizim çalışmamızda açlık grubunda (Grup II) literatüre aykırı olarak artmış nesfatin-1 immün reaktivitesini (Grup II - nesfatin-1 immün reaktivite şiddeti:  $3.83 \pm 0.40$ ) açıklamak için ve bunu tam olarak anlatabilmek için tokluk (postprandial), açlık (Faz I ve Faz II açlık; postabsorbif açlık) ve uzamış açlık (Faz III açlık; katabolik stres açlığı) durumlarına ayrı ayrı bakmak gerekmektedir. Biz bu olguları (tokluk, açlık, uzamış açlık) açıklarken nesfatin-1'in rolünü literatür bilgileri ışığında hipotetik olarak değerlendirdik ve tablolarla tanımladık ve bu şekilde deney sonuçlarımızın kendisi literatür bilgisine aykırı görünse bile literatür bilgilerine dayanarak oluşturduğumuz kuramsal modellerde herşeyin literatürle uyumlu olduğunu ispatlayabildiğimizi düşündük.

Tokluk (postprandial) durumunda ve doğal olarak insülin varlığında bizim ilk kez burada ileri sürdüğümüz modele göre hücre içi olaylar şöyle gelişmektedir. Beslenme sonrası enerji bilançosunu pozitif döndüren hücrede olağan metabolik faaliyetlerle yüksek oranda ATP ortaya çıkmaktadır (neredeyse tamamen glukoz ile). Artan ATP düzeyleri bir yandan m-TOR yolağını aktiflerken öte yandan yüksek ATP

konsantrasyonlarına duyarlı olan AMPK'yı baskılamaktadır. Aynı zamanda hücreye giriş yapan AA'lerde doğrudan m-TOR aktivitesini uyarırlar. Yüksek ATP seviyeleri ve AA doğrudan etkisi ile aktiflenen m-TOR aracılıyla s6K'ı fosforilleyerek buda nesfatin-1 sentezini uyarır. Sentezlenen nesfatin-1 ise kuvvetle muhtemel olarak hücrenin enerji statusünü korumak için öncelikle artmış düzeyi ile IRS1 üzerinde baskılama yaparak insülin etkisini ve enerjetiklerin sellüler girişini sınırlarken diğer yandan perifere geçerek hipotalamus uyarısıyla beslenme merkezini "tokluk hissi" lehine uyarır. Bu arada aktiflenmiş olan s6K aynı zamanda tokluk durumunda hücre içinde protein sentezine yol açacak düzenlemeleri uyarır. Zayıfda olsa yine muhtemeldir ki artan enerji düzeyini dengelemek üzere nesfatin-1 hücre içi glukoz ve yağ asidi harcanmasını tetikleyen AMPK'yı da baskılar. AMPK baskılanması ise Tuberoz scleroz kompleks 2 (TSC2- Tuberous Sclerosis Complex 2) aracılığıyla m-TOR aktivitesinin baskılanmasını önler ve böylece seri negatif feedbacklerden oluşan santral kontrollü tokluk döngüsü tamamlanmış olur. Bu arada s6K uyarıldıktan sonra aynı anda hücre içinde protein sentezide uyarılmış olur. Aynı zamanda hücreler rutin faaliyetlerini organizma ise motor faaliyetlerini sürdürmek için gerekli enerjiyi tokluk hissi oluşumu ile beslenme kesilinceye kadar elde etmiş olduğu yakıt molekülleriyle temin etmiş olur (63, 68, 108, 113, 185, 189, 190-193, 229, 234, 248, 251, 254-260).

Aynı model kullanılarak açlık (Faz I ve Faz II açlık; postabsorbtif açlık) döngüsü değerlendirildiğinde ise tokluk durumunu takiben hücre içinde devam eden rutin faaliyetler ve organizmanın motor aktivitesi ile düşen enerji düzeyi açlık olgusunu oluşturur. Bu durumda ise sürekli hücre içi rutin faaliyetler ve organizmanın motor işlevlerini yürütmek için toklukla elde edilen yakıt

moleküllerinden kaynaklanan ATP'ler harcanmış olduğundan yani negatif enerji bilançosu ortaya çıktığından düşük ATP düzeyi tokluk halinin tam tersine AMPK'yı uyararak aktifler. Bu esnada açlık organizma içinde geçerli olduğundan yani hücreye yakıt molekülü temin edecek hiç bir besin maddesi ağız yoluyla alınmadığından hücre içine hiçbir suretle AA veya glikoz girişide yoktur. Doğal olarak insülin salınımı da uyarılmamıştır. Bu ortamda AMPK'nın aktiflenmesi ise TSC2 kompleksi aracılığıyla mTOR aktivitesini baskılar. Baskılanan mTOR ise s6K'ın fosforillenmesini engellemiş olur ve doğal olarak s6K ile kolokelize olan nesfatin-1 sentezinin azalmasına yol açar. Bu arada muhtemelen s6K aktiflenmemiş olduğundan yeni protein sentezine yol açacak düzenlemelerde uyarılmaz. Bu esnada yani aslında Faz I ve Faz II veya postabsorbtif olarak kabul edilen bu açlık hali döneminde öncelikle hücre karbonhidrat ve yağ rezervleri tüketilir. Bunun da nedeni AMPK düşük ATP düzeyleri nedeni ile aktiflendiğinden, ATP kazanmak için hücreye ait karbonhidrat ve yağ rezervlerinden fosfofruktokinaz 2(PFK2-Phosphofruktokinase 2) ve ACC2 enzimleri aracılığıyla glikoliz, glukoneogenez ve  $\beta$ -oksidasyon gibi katabolik yolları çalıştırır. Ancak bu döngü, periferal nesfatin-1 seviyeleri azalıp buna bağlı santral tokluk hissi uyarımı ortadan kalktığından ve aynı zamanda muhtemelen buna eşlik eden ve yine nesfatin-1'in tam tersi bir mekanizma ile mTOR ile ilişki içinde bulunan ghrelin'in periferal seviyelerinin artması ve santral açlık hissi uyarımı ile de gıda alımının ve yeme işleminin başlaması ile kan glukoz düzeylerinin artarak insülin uyarımının ortaya çıkması ve hücre içine yakıt moleküllerinin girmesiyle kırılmış/tamamlanmış olur (63-68,108,112,113,117,131,185,186,191,192,234,251,254,256-258,260,261).

Yukarıda öne sürdüğümüz ve kuvvetle muhtemel doğru olduğunu düşündüğümüz modelimizi tez çalışmamızın konusu olan uzamış açlık olgusuna uyguladığımızda ise olaylar doğru bir düşünüşle şöyle gerçekleşmelidir:

Bu evrede yani hayvanlarımızı 5 (beş) gün aç bıraktığımız sürede tokluk durumundan farklı ancak açlık durumuyla aynı olarak yine insülin yokluğu sözkonusudur. Ancak açlık durumundanda farklı olan şey deneklerin artık Faz I ve Faz II'de olmayacağı ve Faz III'ün başlamış olması gerektiğidir. Daha önceki bölümlerde belirtildiği gibi türlere ve hayvanların ebadına bağlı olarak Faz III'ün (ve aslında süre dikkate alındığında aynı zamanda Faz I ve Faz II'nin dikkat çeken) bir diğer özelliği, küçük ebatlı hayvanlar besin yokluğuna karşı büyüklerden daha hassas olduğu için, bu aşamaların (Faz I, Faz II, Faz III) daha kısa süre içinde tamamlanabileceğidir. Örneğin; Faz III'e giriş sıçanlar (mouse) için 3-4 gün olarak tanımlanmışken, ev serçeleri (house sparrow) için bu süre 34 saat olarak belirtilmiştir (44). Aynı şekilde Faz I süresi de, ebat büyüklüğü dikkate alınmadığı zaman bile aynı türde (ratlarda), bir çalışmada 1-2 gün olarak tanımlanırken bir başka çalışmada 1-3 gün olarak saptanmıştır. Aynı süre ev serçeleri için ise 4 saattir. (41,44,46). Bizim çalışmamızda da açlık süresi ratlar için 5 gün olduğundan Grup II deneklerin Faz III'e yani şiddetli katabolik stresin olduğu ve protein yıkımının başladığı aşamaya girmiş oldukları rahatlıkla söylenebilir. Çünkü daha önce literatürde belirtilen ve sıçanlar için 3-4 gün olan Faz III'e girme süresini Grup II denekler için 1 (bir) gün fazlasıyla aşmıştık. Belirtilmesi ve unutulmaması gereken bir diğer önemli nokta da Faz III başladıktan 3 gün sonra hayvanların başarılı bir şekilde beslenmesi durumunda Faz II'nin reversibl olduğudur (43).

Ayrıca hayvanlarımızın Faz III'e girdiğine dair diğer bir yönlendirici bulgumuzda hayvanların vücut ağırlıklarının günlere (0. güne) göre yapılan istatistiki karşılaştırılmasında Grup II, Grup III ve Grup IV'ün  $\Delta$  (5-0) % değişim oranlarının sırasıyla  $-31,97 \pm 2,47$ ,  $-33,16 \pm 4,99$  ve  $-31,65 \pm 2,31$  olduğu ve  $p < 0,001$  olarak bulunduğudır. Kaba bir ortalama ile neredeyse vücut ağırlıklarının 1/3'ünü kaybetmişlerdir. Daha önceki literatüre göre bu bulgular ve yüzdeler denekleri katabolik strese ve protein yıkımına zorlayacak kadar şiddetli bir ağırlık kaybını göstermektedir. Şöyle ki; Çolakoğlu ve ark. ve Solomon ve ark. tarafından ratlarda yapılan çalışmalarda 48 saatlik açlık sonunda vücut ağırlığında %25'lik düşüş saptandığı (Solomon ve ark.) buna rağmen diğer çalışmada 48 saatin sonunda %10'luk bir düşüş saptandığı (Çolakoğlu ve ark.) belirtilmiştir. Ancak çalışma süreleri oldukça ve daha uzun olan Çolakoğlu ve ark. 'ları önemli bir ayrıntı olarak %25-26'luk kilo düşüşünün açlığın 7. gününde saptandığını belirtmişlerdir. 14. günde ise açlık sonrası ağırlık düşüşünün %51 gibi oldukça şiddetli bir düzeyde olduğunu bildirmişlerdir. Bizim vücut ağırlığı düşüşümüz bu saptamaya göre daha kısa sürede ve daha şiddetli olmuş ve neredeyse 7 günden daha fazla bir açlığa tekabül etmiş gibi görünmektedir. Bu durumda rahatlıkla hayvanlarımızın protein yıkım aşamasına girdiğini kabul edebiliriz (28,86).

Tüm bunlara ilave olarak elimizde ki en kesin veri ise 1991 yılında Chereil ve ark. 'nın yaptığı çalışma sonuçlarıdır. Bu çalışmada 1,5,9 gün boyunca aç ve doyurulmuş hayvanlarla yapılan karşılaştırmalı çalışmada bir günlük açlıkla tüm vücut fraksiyonel protein degradasyon oranının artmaya başladığı, protein harcama fazı olarak kabul edilen açlığın beş günü boyunca ise tüm vücut protein degradasyon oranının azalmaya başladığı ancak protein tüketiminin had safhaya ulaştığı dokuz

günlük açlıktan sonra ise tüm vücut fraksiyonel protein degradasyon oranının artmadığı ama tam aksine tüm vücut ve doku protein sentezinin % 14-34 oranında azaldığı vurgulanmıştır (49).

Uzamış açlık grubundaki (Grup II) deneklerimizin immünohistokimya değerlendirmesinde nesfatin-1 boyanma düzeyi literatüre taban tabana zıt olarak ve beklenenin aksine oldukça şiddetli bir yükseklik ( $3.83 \pm 0.40$ ) göstermiştir. Biz bunun tamamıyla deneklerin uzamış açlıktan dolayı katabolik strese girip Faz III'e geçmelerine bağlı olduğunu düşündük. Ayrıca literatür taramamızda bize öne sürdüğümüz modelin doğru olduğunu düşündürecek kanıtı sundu. Literatür bilgileri Faz III açlıkta hücrede protein sentezinde yeniden programlama (metabolic reprogramming), mitokondrial biojenez ve transkripsiyonel düzenlemelerle organizmanın oldukça karmaşık bir takım biyokimyasal değişikliklere gittiğini ve bu durumda doğal bir şekilde immünohistokimyasal göstergeleri etkilediğini gösteriyordu. Açıklamak gerekirse:

Faz I ve Faz II açlık aşamalarından çıkan ve yeniden beslenmediği takdirde artık irreversibl olacak olan Faz III'e girmiş olan Grup II denekler, postabsorbif fazda tüm karbonhidrat ve ağırlıklı olarak yağ depolarını tüketmişlerdir ve hala insülin varlığı söz konusu değildir. Sonuç olarak rutin faaliyetler için yakıt temini sağlayacak tek grup proteinlerdir. Modelimize uygun olarak artık çok düşük ATP düzeylerine sahip organizma hücresel düzeyde mitokondrial biojenez ve transkripsiyonel düzenlemelerin de eşlik ettiği yeni bir metabolik programlama yapar. Bu durumda düşük ATP düzeylerini artırmak için PFK2 ve ACC2 aracılığıyla glikoliz, glukoneojenez ve  $\beta$ -oksidasyonla doğrudan glukoz ve SYA'leri üzerinden glukoz temin eden AMPK'nın, karbonhidratların tükenmesiyle birlikte ortamda hala

mevcut olan SYA'lerinin (aslında keton cisimciklerinin) çeşitli otofajik yolları (Ubiquitin proteozom ve Chaperon aracılı otofaji) tetiklemesine bağlı olarak protein yıkımı aşamasına geçmesine yol açar. Keton cisimcikleri pek karmaşık bir mekanizma ile protein yıkımını başlatır ve AA'lerin açığa çıkmasına neden olur. Açığa çıkan AA'ler kendilerine duyarlı olan mTOR'u aktiflerler. AMPK ise aktif olduğundan mTOR'u baskılamaya çalışır. Aynı zamanda otofajik yollarda yeniden programlama nedeniyle seçici ve rastgele olmayan ve hücreye bir yandan enerji kazandırmak için yıkım yaparken (örneğin yıkım için KFQER motifli protein seçimi) bir yandan kritik molekülleri ve yapıtaşlarını koruyan ve protein sentezinde de yeniden düzenlemeye yol açan değişiklikler olur. Örneğin; MAP Kinaz fosfatazların yıkımı artırılır ve düzeyi düşer. Buna bağlı olarak MAPK/ERK ½ yolağı etkinlik kazanır. Böylece AA'lerle aktiflenen mTOR dışında MAPK/ERK ½ 'de s6K'ı aktifler. Bu durumda s6K aktiflenmesiyle birlikte nesfatin-1 sentezi de artmaya başlar. Adeta bir "fasit daire" gibi s6K sentezi devam ettikçe nesfatin-1'de bu senteze eşlik eder (Nitekim Grup II immünhistokimya değerleri kontrol grubuna göre neredeyse iki kat artmıştı (3. 83±0. 40)). Önemli bir ayrıntı olarak s6K protein sentezini de tetikler ancak bu kez postabsorbtif veya postprandial fazdan farklı olarak artık yeni bir metabolik programlama vardır ve yapılan protein sentezi bir yandan yıkım olayları ile enerji kazandırmaya yönelirken bir yandanda hücrenin temel yapıtaşlarını koruyacak sentezleri gerçekleştirir. Örneğin;lösin aminopeptidaz (lösin aminoasidi özellikle kalpte otofajiyi inhibe eder) ve sukroz izomaltaz enzimleri gibi yapıtaşı koruyucu enzimlerin sentezi artar (34,37,44,63-69,108,112,113, 117, 131, 161, 185, 186, 189-193, 229, 234, 251,254, 255-261).

Modelimizi doğrulayacak şekilde irreversibl aşamaya gelmeden (Faz III'e girmiş olup) başarılı şekilde beslenen Grup III ve Grup IV deneklerde ise nesfatin-1 boyanma şiddeti beslenme süresi (artık tokluk durumu oluşmaya başlamış ve dışarıdan yakıt molekülü temin edilerek insülin varlığında normal nesfatin-1 davranışları açığa çıkmaya başlamıştır) ile de korelasyon gösterecek şekilde tedrici olarak azalmaya başlamış ve 7 günlük beslenme sonrasında neredeyse kontrol (normal doyurulan) değerlerine dönmüştür (sırasıyla 2. 83±0. 40 ve 2. 16±0. 40) (43). Bu sonuçlarda tamamıyla literatürde bildirilen nesfatin-1 davranış kalıbı ile uyumludur ve modelimizi doğrulamaktadır (108,185,191,251).

Bu açıklamalarla birlikte çoktan çalışmamızın sonuçlarını değerlendirmekle sınırlı kalması gereken bir tartışmanın ötesine geçtiğimiz ayırdında olmakla beraber belirtmek zorundayız ki nihai olarak bu metabolik yollar ve sinyalizasyon yolları ağı yönetiminin ve karşılıklı etkileşimlerinin detaylarının tam olarak ortaya konmasının bu çalışmanın sınırlarını bir hayli aşacağı ve esas olarak bu detaylandırmanın tek bir kişi tarafından yapılamayacağı veya en azından bir ekip veya birden fazla ekibin koordineli bir bütün halinde çalışması ile gerçekleştirilebileceğinin farkındayız. Ancak bu katkıları yazıya geçirmeyi gelecek süreçteki araştırmacılara bir ufuk açabilmesi için bir zorunluluk olarak değerlendirmekteyiz. Bu hususun dışında belirttiklerimiz ve deneysel olarak ortaya koyduğumuz sonuçlar yani bizim saptayabildiklerimiz (çalışmamızın sağladığı veriler ışığında) yetersiz olmakla birlikte bunlardır.

Klasik ve vazgeçilmez ancak günümüzde artık sonuçları değerlendirmede birinci plan olma özelliğini kaybetmek üzere olduğu düşünülen (makroskobik sonuçlar vermesi ve pek ince ayrımları ve detayları açıklamada ve karar verdirici

olmada göreceli olarak geri plana düşmesi veya atılması ve fakat hala yönlendirici olma özelliğinden yararlanılabilmesi nedeniyle vazgeçilemeyen konumundan dolayı) IM mikroskobik bulgulara değinmek atlanması halinde süreci eksik bırakacak bir aşama olduğundan, kaçınılmaz bir zorunluluktur.

Bu nedenle çalışmamızın IM bulguları ele alındığında beş gün sadece su verilerek aç bırakılan Grup II hayvanların, açlık sonrasında mide dokularından alınan kesitler incelendiğinde apikal mukoza dejenere olmuş ve bütünlüğü bozulmuştu. Yer yer parçalanmalar kopmalarla birlikte dökülmeler vardı. Yüzey mukoza hücreleri lümenine hafif çıkıntı yapmıştı (kript düzensizliği). Müköz ve oksintik bezlerin lümenlerinde ileri derecede genişlemeler ve köpüksü görünüm mevcuttu. Bezlerin mukozasında Polimorf nüveli lökosit (PNL) infiltrasyonu vardı. Bezlerin taban kısımlarında bazı alanlarda oksintik genişleme ile birlikte de mukozada PNL infiltrasyonu izlendi.

1975 ve 1977 yılında Zaviacic ve ark. yaptıkları çalışmalarda 72 saat açlık sonrasında yüzey mukus hücrelerinde dökülme, parietal ve esas hücrelerde ise kollaps görmüşlerdir. Foveolar hücrelerin herbirinde ise deskuamasyon tespit etmişlerdir (74,79). 1988 yılında Auguste ve ark. açlık ve mukozal Prostaglandin-E2 (PGE2) ilişkisini belirlemek için 100 Holtzman ratı ile yaptıkları çalışmada izole açlık grubunda inisiyal 24 saatlik sürede hiç gastrik ülser gözleyemeyip sadece mukozal PGE2’de bir azalma saptamışken açlık süreci ilerledikçe muhtemelen SYA salınımına (açlık lipemisi) bağlı olarak mukozal PGE2’nin arttığını ve açlıkla birlikte strese tabi tutulan gruplarda tam aksine PGE2’nin belirgin ve inatçı bir şekilde azaldığını ama buna rağmen açlık olgusunun direk olarak mukozal gastrik ülserasyonların sayısındaki artışla ilgili olduğunu belirtmişlerdir (74,262). 1989

yılında ise Matsumoto ve ark. 4-6 gün açlıktan sonra sırasıyla ön mide ve korpusda gastrik ülserler saptamışlardır (89).

1999 yılında Çolakoğlu ve ark. yaptıkları çalışmada 3 günlük açlıktan sonra korpusun bazal bölgesindeki bez lümenlerinin çok genişlemiş olduğunu, 5 günlük açlıktan sonra ise mukozada ve bağ dokuda kan damarlarının oldukça dolgunlaştığını ve yüzey mukoza hücrelerinin lümenine hafif çıkıntı yaptığını gözlemlemişlerdir. Çolakoğlu ve ark. ayrıca 9 gün açlıktan sonra yüzey mukus hücrelerinde belirgin şekilde daha da artmış bir bombeleşme, 11 günlük açlıktan sonra ise bazı deneklerin mukozalarında hücre dejenerasyonu, ödem, iltihabi hücre infiltrasyonu ve mukozal kanama odakları izlemişlerdir. 14 günlük açlıktan sonra ise iltihabi hücrelerin yoğunlaştığı ve lokal ülseratif alanların varlığının sözkonusu olduğunu bildirmişlerdir (28). 2004 yılında Uçar ve ark. ise yaptıkları çalışmada 6. saatte lamina propria derininde bez lümeninde genişleme, 12. saatte yüzey epiteli ve bez epitelinde yassılaşma ve dejenerasyonla birlikte lamina propriada ve submukozada lenfosit ve eozinofil infiltrasyonu izlemişlerdir. Yüzey epitelinde yer yer parçalanma ve dökülme ise 36. Saatten sonra gözlemlenmiştir (100). 2005 yılında Sönmez tarafından yapılan çalışmada ise 7 gün açlıktan sonra kesitlerin apikal mukozasında yer yer bozulmalar ve dökülmeler, gastrik bezlerin lümenlerinde genişlemeler ve köpüksü görünüm, gastrik bezlerin tabanında lenfosit hücrelerinde yoğunlaşma izlendiği belirtilmiştir (7,102). 2007 yılında Koç ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise 24. saat sonunda yüzey epitelinde ve bez epitelinde bir miktar düzleşme ve dejenerasyon, 48. saat sonunda yüzey epitelinde kısmi destrüksiyon ve parietal hücrelerin morfolojisinde dejenerasyon, 3. gün sonunda gastrik bezlerde genişlemeler ve mukus bezlerinin bütünlüğünde bozulma parietal hücrelerde

büzüşme, 5. gün sonunda ise muskular yapıda dejenerasyon, parietal hücrelerde yapısal harabiyetten dolayı katlanma, parietal hücre sayısında artış tespit edilmiştir (103).

Biz çalışmamızda 5 günlük açlıktan sonra apikal mukozada dejenerasyon, bütünlük bozulması, yer yer kopmalarla birlikte parçalanmalar ve dökülmeler, yüzey mukoza hücrelerinin lümenine hafif çıkıntı yapması (kript düzensizliği), gastrik bezlerin (müköz ve oksintik) lümenlerinde ileri derecede genişlemeler ve köpüksü görünüm ve bu genişlemeler ile birlikte de PNL infiltrasyonu izledik. Ancak parietal hücrelerde kollaps, dejenerasyon ve yapısal harabiyet, kan damarlarında dolgunlaşma, muskular tabakada dejenerasyon ve gastrik ülser oluşumu izlemedik.

Ayrıca Grup II yani beş gün boyunca aç bırakılan hayvanların mide dokusunda yukarıdaki bulgulara ilave olarak oksintik bölgede hücrelerde apoptozis izlendi ve ayrıca piknotik çekirdekli parietal hücreler gözlemlendi. Yine oksintik bölgede piknotik çekirdekli parietal hücreler, apoptotik hücreler ve bezlerde köpüksü görünüm aynı anda izlendi. Yüzey müköz hücreleri ile boyun müköz hücreleri PAS (+) olarak boyandı.

Apoptozis programlanmış bir şekilde hücrenin fizyolojik veya patolojik koşullar altında kendi ölümünü gerçekleştirmesidir. 2000 yılında Cao ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada açlık durumunda genel olarak mide epitelyumunun ve gastrin hücrelerinin apoptotik indeksinin önemli ölçüde arttığı ancak somatostatin hücrelerinde böyle bir değişikliğin gözlenmediği bildirilmiştir (263). 2001 yılında Fukuyama ve ark. tarafından ratlarda yapılan bir diğer çalışmada ise, apoptozis oluşumu yönünden iskemi-reperfüzyon ve açlık koşullarında kıyaslamalı olarak mide mukozası ve ince barsak mukozası incelenmiş ve hem iskemi ve iskemi/reperfüzyon

sonrasında hem de 48 saatlik açlıktan sonra ince barsaklarda apoptozisin indüklendiği, mide dokusunda ise bir değişikliğin olmadığı bildirilmiştir (97). Yukarıda zikredilen ardışık çalışmalar içerisinde apoptozis olgusuna yalnızca Sönmez rastladığını belirtmiştir. Sönmez çalışmalarında yedi gün açlıktan sonra ve doyurulmanın birinci gününde gastrik bezlerde apoptotik görünümlü hücreler tespit edildiğini ancak doyurulmanın diğer günlerinde apoptotik görünüme rastlanmadığını belirtmiştir (7,102). Bizde beş günlük açlıktan sonra çalışmamızda oksintik bölgede apoptotik görünüm izledik. Ayrıca Sönmez'den farklı olarak oksintik bölgede piknotik çekirdekli parietal hücreler, apoptotik hücreler ve bezlerde köpüksü görünümü aynı anda ilk kez bu çalışmada tarafımızdan demonstre edildiği üzere biz izledik. Biz bu apoptotik görünüm için eldeki literatüre dayanarak iki olasılığın açlığa bağlı olarak ve büyük olasılıklarda nesfatin-1'le ilişkili bir şekilde gelişmiş olabileceğini düşündük. Şöyle ki; açlığa bağlı olarak Faz III'e giren bir hücrede daha öncede belirttiğimiz gibi proteolitik yollar çalışmaya başlayarak otofaji olgusu dominans bir karakter kazanmaktadır. Bu otofaji esnasında özel proteozom yapıları (Ubiquitin proteozom sistemi) yalnızca yakıt kazanmak için değil aynı zamanda yakıt tasarrufu içinde bazı molekülleri parçalamaktadır. Çünkü artık öncelik hücrenin rutin faaliyetlerinin devam ettirilmesi değil varlığının ve hayatiyetinin korunmasıdır. Bu amaçla da yakıt harcayan veya fazla ATP tüketen bir sentez gerektiren yollara ve süreçlere ait proteinler degrade edilir. Bunlar içinde hücre siklusunda görevli olan ve hücre bölünmesinde regülasyon yapan moleküllerde (Siklin A, B, C, D, E vb) yer alır (34). Ancak bilinmektedir ki apoptozisin kendisinde çok ATP tüketen bir süreçtir (264). Burada ortaya çıkan ve çelişkili gibi görünen durum aslında açlık gibi tüm sistemleri etkileyen bir durumda sadece hücresel düzeyde değil total olarak

organizmanın bütününde bir tasarruf uygulaması yapılmak suretiyle vitaliteyi sürdürebilmek için mevcut koşullarda gerek duyulmayan veya atıl kalan tüm yakıt harcamalı süreçlerin durdurulduğu hatta organik olarak bazı yapılarında defonksiyone hale getirildiği veya yıkıldığıdır. Bunun en güzel kanıtı daha önce belirttiğimiz gibi 1992 ve 1993 yılında Alvares ve ark. ları, 2000 yılında Cao ve ark. ve 2001 yılında Fukuyama ve ark. larının yaptığı çalışmalarda açlık koşullarında gastrik mitoz faaliyetlerinin ve proliferasyonun baskılanmasının ama aksine özellikle ince barsaklarda ve daha az olarak da mide dokusunda apoptozisin arttığının bildirilmesidir (92,93,97,263).

Hücre içinde ise apoptozis olgusu organizmanın planlamasını adeta nefatin eliyle yürütür gibi görünmektedir. Şöyle ki; uzamış açlıkta artmış nefatin miktarları (bizim çalışmamızın bulguları) son yapılan çalışmalarda öne sürüldüğü gibi apoptozisle ilgili olabilir. Çünkü nefatin-1'in over karsinom hücrelerinin proliferasyonu üzerinde etkisini inceleyen 2013 tarihli bir çalışmada nefatin-1'in mTOR ve RhoA/ROCK sinyalizasyon yolağı aracılığıyla apoptozu idükleyebileceği gösterilmiş ve hatta bu yolla over epitel karsinom hücre hattının proliferasyonunun inhibe edildiği bildirilmiştir (235). Söz konusu açıklamamızda bizce en dikkat çekici nokta hem mide ve ince barsakda ve hemde over karsinomlu çalışmada apoptozis gözlenen dokunun epitelyum olmasıdır.

Zaviacic ve ark. tarafından yapılan IM, EM ve histoenzimolojik çalışmalarda açlık lipemisine bağlı olarak parietal hücrelerde ve insan gastrik bezlerinin diğer hücrelerinde aşırı miktarlara ulaşan yağlanma görülmüştür. Ayrıca açlığın 72 ile 240. saatinden sonra muhtemelen HCl üretiminin azalması ile ilişkili olarak, parietal hücrelerde kollaps, intrasellüler kanaliküllerde az gelişmişlik ve

tubuloveziküllerde daralma ile ifade edilebilecek bir profil izlenmiştir. İnsan gastrik mukozasının parietal ve diğer hücrelerine ait mitokondrial yapıda ise hafif derecede belirgin değişiklikler gözlenmiştir. Esas olarak parietal hücreler alındığında ise açlık zarfında mitokondrilerin genişlediği ve mitokondrial kristaların seyrekleştiği gözlemlenmiştir. Bazı mitokondrilerin ise bütünlüğünün bozularak dağıldığını ve lizozomlar tarafından ortadan kaldırıldığını bildirmişlerdir. Parietal hücrelerde ise (esasını sitosergrezomlar teşkil etmek üzere)lizozomların sayısında bir artışın meydana geldiğini, intrasellüler kanaliküllerde kollaps oluştuğunu ve tubuloveziküler profilde bir daralma olduğunu kaydetmişlerdir (74,79).

1975 yılında Morozov ve ark., tedavi amacıyla yiyecek kısıtlaması (therapeutic food deprivation) uygulanan ve hastanede yatmakta olan 18 hastada aynı gastrik mukozal alanlarda meydana gelebilecek pH değişiklikleri ile fundusun parietal hücrelerindeki submikroskopik değişiklikleri kıyaslamalı olarak incelemişlerdir. 36 saatlik kısa açlıktan sonra ne parietal hücrelerde ultrastrüktürel değişiklikler ne de muköz membranda pH farklılığı saptanmamıştır. Ancak açlık süresi arttıkça (20-30 gün açlığı takiben ve 3 günlük açlıktan sonra) pH değişikliklerine paralel olarak parietal hücrelerde, tubuloveziküllerde sonradan meydana gelen görünüm kaybı ile birlikte düzleşme, intrasellüler kanalların lümeninde daralma ve mikrovillüslerde kısalma ortaya çıkmıştır. Ortaya çıkan bu submikroskopik değişiklikleri, parietal hücrelerin fonksiyonel aktivitesinde, açlığa bağlı olarak ortaya çıkan bir depresyon olarak yorumlamışlardır (72).

Ayrıca Jacobs ve Sturtevent, ratları ya 4 saatlik bir ılımlı doyurulma periyoduna ya da 40 saatlik açlığa maruz bırakarak gastrik parietal hücrelerin ultrastrüktürü üzerine yaptıkları çalışmada günün tüm ölçüm zamanlarında boyun

bezlerindeki her iki deney grubuna ait hücrelerin kanaliküllerine ve düz endoplazmik retikulumlarına ait değerleri bezlerin basalindeki hücrelerinkinden daha yüksek bulmuş ve bu durumu boyun bezlerinde bulunan parietal hücrelerin mide lümeninden daha uzakta yerleşmiş bulunanlardan daha aktif olabileceği şeklinde yorumlamışlardır (84).

Çolakoğlu ve ark. açlığın birinci ve ikinci gününde kontrollere göre daha belirgin, yoğun boyanmış parietal hücrelerin arlığını bildirmişlerdir. Ancak Uçar ve ark. gibi asidofil bir boyanma veya Sönmez gibi eozinofilik değişken yoğunlukta bir boyanmadan bahsetmemişlerdir (28).

Uçar ve ark. ise çalışmalarında açlığın 36. saatinde ve 2., 4. ile 7. günün sonunda mide bezlerinde heterokromatik, yer yer piknotik nükleuslu, koyu asidofil sitoplazmalı çok sayıda hücreye rastlamışlar ve bu hücrelerin açlığa bağlı olarak değişmiş parietal hücreler olduğunu düşünmüşler ve hatta daha önceki çalışmalarda bu tarzda gözlemlenen hücrelerin ilerleyen açlık saatlerinde büzüştüğünün rapor edildiğini ve bir kısım araştırmacılarında 18 saat açlıktan sonra sıçan mide bezlerinde bu hücrelere rastlamış olup ancak bu durumun durdurulmuş mitoz olarak değerlendirildiğini belirtmişlerdir (100).

Sönmez ise 7 günlük açlık sonunda piknotik çekirdekli parietal hücreler ve parietal hücrelerin eozinofilik boyanmasında kontrol grubuna göre azalma saptamıştır. Ancak doyurulmanın birinci gününde ise bu kez parietal hücrelerin açlık grubuna göre daha yoğun eozinofilik boyandığını bildirmiştir (7,102).

Koç ve ark. ise açlığın 48. Saatinin sonunda parietal hücrelerin morfolojisinde dejenerasyon, üçüncü günün sonunda parietal hücrelerde büzüşme ve

beşinci günün sonunda ise parietal hücrelerde yapısal harabiyetten dolayı katlanma ve sayısal olarak artış saptamışlardır (103).

Biz çalışmamızda piknotik çekirdekli parietal hücreler izledik. Ancak parietal hücrelerin sayısında artış ve heterokromazi ve eozinofilik boyanmada kontrole göre veya doyurulma sonrası günlerde açlık durumuna göre bir farklılık saptamadık. Ayrıca bez epitelinde heterokromazinin ve piknotik nükleusların eşlik ettiği asidofil sitoplazmalı ve çok sayıda hücreye rastlamadık. İlave olarak parietal hücrelerde büzüşmede gözlemedik.

Sönmez yaptığı çalışmada parietal hücrelerin eozinofilik boyanmasında değişikliklerden bahsetmiş ve açlık grubunda bu parietal hücre eozinofilik boyanmasının kontrollere göre azaldığını aksine doyurulma sonrası beşinci günde ise parietal eozinofilinin açlık grubuna göre oldukça arttığını ve doyurulmanın yedinci gününde de bu belirginliğin devam ettiğini rapor etmiştir. Sönmez bu olguyu Ogawa ve ark. ile Coulton ve ark. 'nın aç bırakılan koyalarda parietal hücrelerde açlıktan dolayı meydana gelmiş metabolik hasarla ortaya çıkan mitokondrial boyut artışına ve parietal hücrelerde ki potasyuma bağlı p-nitrofenil fosfataz aktivitesinin açlıkla önce azalıp sonra doyurulma ile artmış olmasına bağlamıştır. Ve özellikle de mitokondri sayısının ve aktivasyonunun artışının hücrede eozinofilik boyanma sebebi olduğunu bildirmişlerdir. Bu yorumun kısmen doğru olduğu kanaatindeyiz. Çünkü Sönmez tarafından Ogawa ve ark. 60-72 saat açlıktan sonra parietal hücrelerin mitokondrilerinin büyüklüğünün arttığı bildirilmesine rağmen, Zaviacic ve ark. tarafından açlığın 72. ve 240. saatinden sonra insan gastrik mukozasının parietal ve diğer hücrelerine ait mitokondrial yapıda ise hafif derecede belirgin değişiklikler gözlemlendiği, esas olarak parietal hücreler alındığında ise açlık zarfında

mitokondrilerin genişlediği ve mitokondrial kristalların seyrekleştiğinin izlendiği üstelik bazı mitokondrilerin ise bütünlüğünün bozularak dağıldığı ve lizozomlar tarafından ortadan kaldırıldığı bildirilmiştir:Ayrıca Morozov ve ark. da insan çalışmalarında neredeyse benzer ultrastruktürel değişiklikleri bildirmişlerdir. (7,72,74,79,99,101).

Halbuki biz bilmekteyiz ki parietal hücrelerin sitoplazması, intrasellüler kanaliküllerin, tubuloveziküler sistemin ve mitokondriyonların yüksek miktardaki membranları ve nispeten az miktardaki ribozomlar nedeniyle eozin ile büyük ölçüde boyanır (4). Halbuki Koç ve ark. IM çalışmalarında parietal hücrelerde büzüşmeden bahsetmiş ancak IM, EM ve histoenzimolojik olarak yaptıkları çalışmalarda parietal hücrelerde kollapsla birlikte ultrastruktürel olarak intrasellüler kanaliküllerde az gelişmişlik ve tubuloveziküllerde daralma olduğunu rapor etmişlerdir. Bu durumda açlık süresini takiben eozinofilik boyanma azalmasını ve doyurulma sonrası artışını mitokondrial boyut ve aktiviteye bağlamaktansa eozinofil karakterde boyanma sağlayan ve parietal hücrelerde bu boyanmanın sebebi kabul edilen ultrastruktürel yapılarıdaki değişikliklere bağlamak daha doğru gibi görünmektedir. Bu saptamaya ilave olarak ne Koç ve ark. ile Sönmez ve ne de Zaviacic ve ark. ları ile Ogawa ve ark. ları ve ayrıca da Morozov ve ark. bahsettikleri parietal hücrelerin lümene mi yoksa bazaline mi yakın olduğunu belirtmemişlerdir. Bir kriter olarak dikkate almak gerektiğinde eğer hücre ve ultrastruktürünün şartlara bağlı olarak ortaya koyacağı değişikliklerin histolojik boyanmaya etkisi söz konusu edilecekse, Jacobs ve Sturtevent tarafından ratlarda 4 saatlik bir ılımlı doyurulma periyoduna ya da 40 saatlik açlığa maruz bırakılarak gastrik parietal hücrelerin ultrastruktürü üzerine yapılan bir çalışmada boyun bezlerindeki her iki deney grubuna ait hücrelerin

kanaliküllerine ve düz endoplazmik retikulumlarına ait değerlerin bezlerin basalindeki hücrelerinkinden daha yüksek bulunduğunu ve bu bulgununda boyun bezlerinde bulunan parietal hücrelerin, mide lümeninden daha uzakta yerleşmiş bulunanlardan daha aktif olabileceği şeklinde yorumlandığı bilgisini göz önünde bulundurmayı gerektireceği kanaatindeyiz. Daha geniş bir bakış yapıldığında ise tüm bu çalışmalarda deneklerin tür farklılığının (ginea pig, rat ve insan) ve türlerin aynı olduğu çalışmalarda ise bu kez açlık saatlerinin farklılığının (60-72,72-240,4-40 vb) ve daha ayrıntıcı düzeyde değerlendirildiğinde deneye aynı vücut ağırlığı ile başlayıp başlamamış olmanın ve genetik yanıt verebilme kapasitesindeki farklılıkların bile hücresel düzeyde IM veya EM olarak meydana gelebilecek yapısal ve biyokimyasal değişikliklerin sırasını ve derecesini etkileyebileceğini düşünmek şüpheli veya hayalci bir yaklaşım olmayacaktır. Böyle bir kabulde rahatlıkla farklı yorumlara kapı aralayacaktır.

Alvares ve ark. ardışık olarak yaptıkları seri çalışmalarda ise açlığın yetişkin sıçanlar için söz konusu olduğu şekilde proliferasyonu düşürmekten ziyade emme dönemindeki sıçanların gastrik mukozasında hücre proliferasyonunu stimüle ettiğini ve yine açlığın, yetişkin hayvanlarda gözlenen inhibitör etkisine kıyasla süt alım dönemi esnasında mide epitelindeki hücre proliferasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir (92,93).

Aynı şekilde Uçar ve ark. açlığın 36. Saatinde bezlerde bol miktarda mitoz figürü belirlemişlerdir (100). Koç ve ark. ise parietal hücre sayısında artıştan bahsetmişlerdir (103). Uçar ve ark. literatür bulgularına atıfla aç, erişkin hayvanlarda artış gösteren somatostatinin hücre proliferasyonunu azalttığının ve ayrıca açlığın hücre siklusunda uzamaya yol açtığının, açlığı takiben yemenin ise hücre siklusunda

kısalmaya neden olarak proliferasyonda değişikliklere yol açtığının bilindiğini ancak kendi çalışmalarındaki mitoz figürlerinin varlığının bu fikirden uzaklaşmalarına yol açtığını belirtmişlerdir. Bu nedenle özellikle uzun süreli açlığın midede hücre proliferasyon oranında azalmaya neden olduğu düşüncesinde olmadıklarını bildirmişlerdir (100). Bizde çalışmamızda bu düşüncenin aksine olarak ve genel literatür bilgisini doğrular mahiyette açlık ve doyurulma sonrasında mitoz figürüne rastlamadık.

Bu bulgulara ilave olarak Uçar ve ark. açlığı takiben ikinci gün sonunda ve dördüncü gün sonunda bez epitelinin orta bölümünde ve bez epitelinin boyun kısmında dördüncü gün daha yoğun olduğunu belirttikleri piknotik çekirdekli ve şeffaf sitoplazmalı hücreler saptandığını bildirmişlerdir. Bu şeffaf sitoplazmalı hücrelerden oluşan alanın ise yedinci gün sonu itibarıyla belirginleştiğini rapor etmişlerdir. Bu durumu açıklamak için ise esas hücrelerdeki açlığa bağlı değişikliklerin özelliklerine (granüler endoplazma retikulumu ve golgi kompleksinde azalma, esas hücrenin kendisinde büzüşme, granüler endoplazma retikulum keselerinde daralma ve kapanma, golgi aparatının veziküllerinde belirgin azalma ) atıfta bulunmuş ve bir yandan bu şeffaf sitoplazmalı hücrelerin varlığının açlığın neden olduğu hücre dejenerasyonunun erken bir bulgusu olabileceğini belirtirken diğer yandan bu hücrelerin dejenere olmuş olabilecek esas hücrelerde olabileceğini hatırlatmış ve çağrıştırmışlardır (100). Bu durum açlık olgusuna özel bir durum gibi görünmemektedir. Çünkü başta Zaviacic ve ark. olmak üzere ve diğer bir çok araştırmacıda (Morozov ve ark., Jacobs ve Sturtevent, Çolakoğlu ve ark., Sönmez, Koç ve ark. gibi) benzer bir durumu parietal hücreler için rapor etmişlerdir (7,28,72,74,79,84,102,103). Ancak durum açlık için mide dokusuna has spesifik

bulgularmış gibi gözlensedede aslında organizmanın patolojik bir strese karşı verdiği ve diğer tüm dokular içinde geçerli olan genel ve karakteristik bir yanıtın patolojik sonuçlarıdır. Çünkü yine biz bilmekteyiz ki bir hücre fizyolojik olmayan bir stresle karşılaştığında zedelenmeye uğrar ve koşullara bağlı olarak reversibl veya irreveribl bir hasara doğru yönelir. Bu stres durumlarının en önemlilerinden biriside beslenme eksikliği yani besin yoksunluğuna maruziyettir. Yani organizmanın uğradığı besin yoksunluğunun hücrenel sonucu ATP azalmasıdır. ATP azalmasıda hücrede dejeneratif değişikliklere ve erken bir bulgu olarakda hücre şişmesine yol açar. Uçar ve ark. 'da belirttiği gibi bu durum hücre için adaptif bir yanıt veya reversibl bir hasara karşı koyma mekanizması olurken pekçok histopatolojik görünüme sebep olur (265).

Biz çalışmamızda beş günlük açlık sonrasında şeffaf sitoplazmalı hücrelere rastlamadık. Ancak beş gün sadece su verilerek açlığı takiben beş gün doyurulan sıçanların kesitlerinde principal hücrelerde boyanma farklılığı saptadık. Bu hücreler bazofilik boyanmanın azalması sonucu asidofilik boyanma göstermekteydi. Diğer çalışmalarda böyle bir bulguya rastlanmamıştı ve ilk kez olarak biz rapor ettik. Biz bu durumun yukarıda da bahsettiğimiz üzere tıpkı parietal hücrelerde olduğu gibi ve az evvel şeffaf sitoplazmalı hücrelerin görünümünü açıklamak için vurguladığımız şekilde açlık gibi fizyolojik olmayan bir strese karşı hücrenin adaptif olarak verdiği ultrastruktürel yapıdaki değişiklik yanıtının neden olduğunu düşündük. Öyleki belirli organellerin reversibl hasarı kimyasal farklılıklar doğurmakta ve stresin ortadan kalkmasıyla birlikte yeniden fonksiyone olan yapılar ya miktarca veya boyutça artmakta ve buda hücre içi ortamın madde içeriğini (protein, karbonhidrat ve lipit oranını) ve dolaylı olarak pH'sını değiştirdiğinden bu durumda histolojik preparatlara

boyanma farklılığı bazofilide artma veya azalma, asidofilik karakter alma veya en nihayetinde eozinofilik boyanmada artış veya azalış olarak yansımaktadır.

Uçar ve ark. yedi gün açlık sonrasında yüzey epitelinin ve bez epitelinin hücrelerinin yassılaşması sonucunda yüzeyde çok sıralı yassı hücrelerden oluşan tabakalar izlenmiştir (100). Biz böyle bir bulguya rastlamadık.

Çolakoglu ve ark. açlığın onbirinci gününden itibaren bazı deneklerin mukozalarında hücrelerin dejenerasyonu, ödem ve iltihabi hücre infiltrasyonu olduğunu ve açlığın ondördüncü gününde bu bulguların daha da şiddetlendiğini ve iltihabi hücrelerin yoğunlaştığını rapor etmişlerdir.

Uçar ve ark. açlığın 12. saatinde lamina propria ve submukozada lenfosit ve eozinofil infiltrasyonu izlenmiştir. Yine Açlığın 36. saatinde bezler arasında lamina propriada eozinofil infiltrasyonu izlediklerini rapor etmişlerdir (100).

Sönmez'de benzer şekilde yedi gün açlık sonrasında gastrik bezlerin tabanında lenfosit hücrelerinde yoğunlaşma ve submukozada oldukça fazla sayıda eozinofilik boyanan hücreler tespit etmiştir. İlave olarak Sönmez açlık çalışmasına yeniden doyurulma ile devam ettiklerinden dolayı doyurulmanın birinci ve beşinci gününde submukoza ve bezlerin bazal kısmında eozinofilik hücrelerin gene gözlenmeye devam ettiğini de rapor etmiştir (7,102).

Biz çalışmamızda lamina propriada ve submukozada eozinofilik infiltrasyona ve eozinofilik olarak boyanan hücelere rastlamadık. Ancak gastrik bezlerin tabanında PNL infiltrasyonunu ve bezlerdeki köpükleşme ve genişleme ile birlikte aynı anda PNL infiltrasyonunu gözlemledik. Diğer araştırmacılar aynı anda köpüksü görünüm, bezlerde genişleme ve hücre infiltrasyonuna rastlamamışlardı. Yine buduruma ek olarak ve diğer araştırmacılardan farklı ve ilk kez olarak bu

çalışmamızda doyurulmanın beşinci gününde epitelin altındaki lamina propriada bağ dokusunun artış gösterdiği alanlar ve genişlemiş bez alanlarının erafında artmış hücresel görünüm (mononükleer hücreler) izledik.

Uçar ve ark. bu konu ile ilgili olarak yalnızca açlığın 12. saatinde izledikleri hücre infiltrasyonunun tüm çalışmalar arasında böyle bir infiltrasyonu en erken izleyen araştırmacılar olduklarını vurgulamışlardır. Sönmez ise bağırsaklarla ilgili lenfoid dokunun peyer plakları, lamina propria ve intraepitelyal bölgedeki lenfositleri kapsadığını ek olarak gastrointestinal sistemde yerleşik eozinofillerin olduğunu ve ilginç olarak da gastrointestinal sistemdeki eozinofil sayısının diğer dokulardan daha yüksek olduğunu vurgulamışlardır (7,100,102).

Gerçektende yapılan pek çok çalışmada gastrointestinal sistemdeki eozinofillerle ilgili pek çok ve çelişkili daha doğrusu tereddütlü ve kararsız görüşler bildirilmiştir. Durum öyle bir hal almıştırki 2015 yılında yayınlanan makalesinde Yantiss gastrointestinal sistemdeki eozinofillerle ilgili olarak normal sınırı ve artmış patolojik sınırı belirlemenin güçlüğüne vurgu yapmıştır. Ve ne zaman eozinofil sayısı için artmış denileceğine karar vermenin zorluğuna dikkat çekmiştir. Çünkü gastrointestinal sistemde pek çok eozinofil vardır ancak bu popülasyondaki artışın üst sınırı hala tartışılmaktadır. Nitekim 2011 yılında Lwin ve ark. tarafından eozinofilik gastritle ilgili bir çalışmada özellikle eozinofil sayısının normal limitleri ile ilgili olarak çok sınırlı bilgi mevcut olduğu vurgulanmıştır. Ancak kendileri çalışmalarında ABD popülasyonunda gastrik eozinofil sayısı için normal sınırı genel olarak  $<38$  eosinophils/mm<sup>2</sup> teyit ettiklerini ve histolojik eozinofilik gastrit tanısı içinde sınırın  $\geq 127$  eosinophils/mm<sup>2</sup> olabileceğini belirtmişlerdir (266,267).

Biz saptadığımız PNL infiltrasyonunun ve mononükleer hücre artışının bezlerde meydana gelen ve fizyolojik olmayan açlık stresine (zedelenmeye) karşı bez hücrelerinin vermiş olduğu adaptif ve reversibl hasar yanıtının organizma tarafından algılanarak hasar etkenini sınırlamak amacıyla bu bölgeye iltihabi hücreleri yönlendirmesinin bir sonucu olduğunu düşündük. Dolaylı bir düşünüş olsa da daha önceki çalışmalardan biliyoruz ki nesfatin-1 (ki çalışmamızda artmıştır) enflamatuar süreçlerde de etkin rol oynamakta ve inflammatuar mediatörlerin açığa çıkmasında ve salınmasında etkili olmaktadır. Kuvvetle muhtemeldir ki doğal olarak artan endojen nesfatin-1 enflamatuar sitokinleride (Interlökin6 ve 8, siklooksijenaz-2 vb diğer) harekete geçirmekte ve açlığın hasarladığı bölgeye inflammatuar yanıt hücreleri yığılmaktadır. Ancak bu açıklamayı yaparken hücre hasarından kaynaklanan ve doğal olarak endojen nesfatin-1'den bağımsız şekilde serbestlenen inflammatuar mediatörleri ve sürecide göz ardı etmemek ve çelişkili olarak tam aksine nesfatin-1'in dışarıdan tedavi amacıyla (ekzojen) verildiğinde gastrik mukozayı koruyucu ve antiinflammatuar etkilerine vurgu yapan çalışmalarıda hatırlatmak durumundayız (132,221,222,230,268). Doyurulmayı takiben beşinci günde meydana gelen bağ dokusu artışının ise açlıktan dolayı meydana gelmiş olan enflamatuar dejenerasyona karşı organizmanın rejeneratif ve repare edici kompansatuar bir yanıtı olduğunu düşündük (268).

Çolakoğlu ve ark. yüzey müköz hücrelerinin PAS (+) boyanmasının açlık günü ilerledikçe azaldığını ve doyurulmanın yedinci gününde mukozal iyileşme henüz yeni başladığından halen PAS (+) boyanmanın ondört günlük açlık grubuna benzediğini belirtmişlerdir (28).

Uçar ve ark. ise PAS –Alcian mavisi ile açlığın 1. saat sonrasında mide epitelinin yüzeyinde menekşe boyanan müsün tabakasının yedinci günün sonunda belirgin şekilde azaldığını bildirmişlerdir. Ve açlığın mide mukozasında hemorajik lezyonlar, müsün kaybı ve hassasiyet artışına neden olduğuna ve müsün glikoproteininin yüzeyden kaybolmasının mide mukozasını çeşitli hasarlayıcı ajanlara karşı daha hassas kıldığına işaret etmişlerdir. Ayrıca sıçanlarda epitel yüzeyinde yer alan mukus tabakasının asidik ve nötral müsinden oluştuğunu ancak çalışmalarında yüzeyde yer alan mukus tabakasının daha çok menekşe renkte izlenmesinden dolayı sözkonusu müsünün kimyasal içeriğinin daha çok PAS ile menekşe boyanan nötral müsün özelliğinde olduğu düşüncesinde olduklarını bildirmişlerdir. Ve nötral müsün tabakasının esas olarak HCL ve lümendeki sindirim enzimlerine karşı koruyucu olduğunu hatırlatmışlardır. Sonuç olarakda çalışmalarında açlığın mide epitel yüzeyinde mukus tabakasında belirgin azalmaya neden olduğunu izlediklerini rapor etmişlerdir (94,100).

Sönmez ise çalışmasında PAS ile yapılan boyamada mukozadaki boyanmanın açlık grubunda kontrole göre azaldığını belirtmiştir. Ancak doyurulma ile mide asiditesi ve müsün içeriğinin arttığını ve kendi çalışmalarında da doyurulmanın birinci gününde PAS ile yapılan boyamada açlık grubuna göre daha çok alanın daha koyu boyandığının tespit edildiğini ve doyurulmanın diğer günlerinde ise PAS boyanmasının açlıktan daha fazla ama doyurulmanın birinci gününe göre az olarak devam ettiğini vurgulamıştır (7,102).

Biz ise çalışmamızda Çolakoğlu ve ark., Uçar ve ark. ve Sönmez’le uyumsuz olarak PAS (+)’likte kontrollere göre artmış ve daha yoğun bir boyanma saptadık. Doyurulmanın beşinci gününde ise diğer araştırmacılarla uyumlu olarak açlığa göre

daha artmış PAS (+) boyanma vardı. Doyurulmanın yedinci gününde ise PAS (+) boyanma doyurulmanın beşinci gününe göre azalmıştı ve bu durumda diğer araştırmacılarla uyumlu idi.

Ancak Sönmez'in çalışmasında PAS (+)'liğin doyurulmanın birinci gününde açlık grubuna göre arttığı, doyurulmanın üçüncü gününde ise açlık grubuna göre daha yoğun düzeyde olmasına rağmen doyurulmanın birinci gününe göre azaldığı, doyurulmanın beşinci gününde ise doyurulmanın üçüncü günüyle aynı olduğu ve doyurulmanın yedinci gününde ise doyurulmanın beşinci gününe göre herhangi bir değişiklik saptanmadığı belirtilmiştir. Kalıp olarak Sönmez'in çalışmasında PAS (+)'lik kontrollere göre açlık grubunda azalmış, doyurulma sonrası birinci günde açlığa göre artmış, üçüncü günde açlığa göre artmışken birinci güne göre azalmış, beşinci günde ise doyurulmanın üçüncü günüyle aynı kalmış, yedinci günde ise beşinci güne göre farklılık göstermemiştir. Sönmez'in çalışmasında niteleyici bir saptama yapılırsa PAS (+)'lik kontrol-azalış-artış-önceki artışa göre azalma-değişmemiş –değişmemiş olarak bir seyir izlemiştir. Çolakoğlu ve ark. ise niteleyici bir saptama yapıldığında kontrol-açlık günü ilerledikçe korelasyon gösteren bir boyanma azalması-doyurulmanın yedinci gününde ise açlık grubuna benzeyen bir PAS (+)'lik rapor etmişlerdir. Bizim ise niteleyici saptama yapıldığında PAS (+)'lik için kalıbımız kontrol-artma-daha artma –önceki artışa göre azalma şeklindedir. Bu karşılaştırma aslında diğer araştırmacılarla uyumsuz gibi görünen açlık grubumuzdaki PAS (+) daha yoğun boyanmanın aslında beklenmesi gereken bir sonuç olabileceğini ve aynı zamanda kıyaslama yaptığımız araştırmacıların atıfta buldukları ve literatürde de genel anlamda belirtilen açlıkla birlikte müsün tabakasının azalmasının ve PAS (+)'liğin mutlaka azalmasının kesin bir kural

olmayabileceğini düşündürmektedir. Zaten yukarda zikrettiğimiz üç araştırmacının ve bizim çalışmamızın doyurulma sonrası PAS (+)'lik kalıpları bile kesin bir kabulün aykırılığını ve varyasyonun genişliğini doğrulamaktadır. Çünkü bu genel kabule aykırı yayınlarda mevcuttur. Şöyle ki; 2000 yılında Kinoshita ve ark. ve İgarashi ve ark. diabetik ratlarla yaptıkları açlık çalışmalarında gastrik mukus kaybının ve buna bağlı gastrik hasarın normal ratlara (diabetik olmayan) göre kolaylaştığını belirlemişlerdir. Ve diabet olgusunun açlıkla uyarılmış gastrik mukozal bozulmayı şiddetlendirebileceğini göstermişlerdir. Ancak ilginç olarak İgarashi ve ark. çalışmalarında normal ratlarda açlığın ne gastrik müsin içeriğini ne de gastrik mukozal hasar oluşumunu etkilemediği gözlenirken tam tezat olarak diabetik ratlarda açlığın, mukozal lezyonların formasyonundan önce total gastrik mukus glikoprotein miktarının azalmasına yol açtığını vurgulamışlardır (95,96).

Yine 1992 yılında Yamazaki ve ark. yaptıkları çalışmalarında kontrol ve aç sığınların kıyaslanmasında açlık grubunda müsinlerle, HCL'nin baskılanan sekresyonlarının kolaylıkla gösterilebildiğini ancak kontrollerde gösterilmeyen alsiyan mavisini-pozitif ama yüksek demir-diyamin-negatif siyalomüsin birikiminden ötürü; parietal hücrelerle yakından ilişkili olarak mevcut olan çoğu muköz boyun hücresi şiştiğini ve şişmiş muköz boyun hücrelerinde bulunan siyalomüsin sekretuar granüllerinin, asit mukopolisakkaridleri gösterebilmek için ancak kakodilat-ferrik koloid ile ultrastrüktürel olarak pozitif boyanabildiğine dikkati çekmişlerdir (91).

İlave olarak 2000 yılında Eşrefoğlu ve ark. müsinlerle ilgili yayınlarında; çeşitli patolojik ve deneysel koşullarda gastrointestinal sistemden salgılanan müsinlerin kimyasal yapısının değiştiğini; barsak epitel hücreleri, hücre farklılaşması ve karsinogenez sırasında farklı tür glikoproteinler salgılandığını, son yıllarda

duodenum, jejunum, ileum ve kalın barsağı ilgilendiren premalign ve malign lezyonlarda mûsin histokimyasının değiştiğinin saptandığını ve bu nedenle mûsin histokimyasının gûnümüzde gastrointestinal sistemin premalign ve malign lezyonlarının erken teşhisinde kullanılan kolay ve etkili bir metot olduğunu bildirmişlerdir (94).

Yine ve son olarak 2003 yılında Svestka ve ark. laboratuvar ratları üzerinde açlığın gastrik mukoza kalınlığına etkilerini çalışmışlardır. Ve 8 ve 24 saatlik açlık periyotlarında gastrik mukusun kalınlığında meydana gelen değişiklikleri ölçmeyi amaçlamışlardır. Grup I olarak, 8 saat açlıktan sonra 279 laboratuvar ratında, Grup II olarak ise 24 saat açlıktan sonra 70 laboratuvar ratında mikroelektrodlarla mukoza kalınlığı ölçülmüştür. Her iki grubun homojenite yönünden istatistiksel analizi yapıldıktan sonra gastrik mukus kalınlığının 24 saat açlıktan sonra azaldığı tespit edilmiştir. Değerlendirmede mukus tabakasındaki % 1lik değişim önemli istatistiksel farklılık olarak kabul edilmiştir. Meydana gelen bu değişikliğin anlamlılığı  $P < 0.01$  olarak saptanmıştır.

Yukarıdaki bilgilerin ışığında değerlendirdiğimizde PAS (+)'likte açlık grubunda daha yoğun boyanma bulgumuzun uyumsuz değilde aslında karşılaşılabilmesi mümkün olabilecek bir sonuç olduğu kanaatindeyiz. Nihai olarak mukus kaybı olgusundan bahsetmek için kalitatif değerlendirmelerin yeterli olamayabileceği ve yanıtıcı bulgular doğurmasının olası olduğu ve Svestka ve ark. tarafından yapılan kantitatif ölçümlerin çelişkileri ortadan kaldıracak daha kesin ve tartışmasız sonuçlar için elzem olduğu açıktır.

Tüm bu değerlendirmelere rağmen unutulmaması gereken ve bizce önemli olan bir hususda, uzamış açlık nedeniyle Faz III'e yani katabolik strese girmiş ve

protein yıkımına başlamış bir hücrede yüzeyel müsinlerin/glikoproteinlerin sentezinin mutlak olarak bu süreçten etkileneceğidir (44,94).

Ayrıca yukarıda yaptığımız açıklamaların kayıtları ile sınırlı kalmak kaydıyla biz mevcut deneyimizde beş gün aç bırakılan sıçanların incelenen preparatlarında mukozada göreceli ve kantitatif bir incelmeye gözlemledik. Beş gün aç bırakılarak beş gün doyurulan sıçanlarda ise mukozanın halen kontrole kıyasla dökülmeye bağlı daha ince görünümü ve mukozal dejenerasyon, bütünlükte bozulma, yer yer dökülme ve ayrılmalarla birlikte devam ediyordu.

Diğer araştırmacılardan farklı olarak ve daha önce literatürde rastlayamadığımızdan dolayı ilk kez olarak demonstre ettiğimiz iki bulgudan biri açlık grubunda piknotik çekirdekli parietal hücreleri, apoptotik hücreleri ve bezlerde köpüksü görünümü aynı sahada izlememizdi. Diğerleri ise beş gün açlık sonrası beş gün doyurulan grupta yine ilk kez olarak gastrik mukozanın tabanında ki bezler arasında aşırı biçimde genişlemiş alanların varlığıydı. Daha önceki araştırmalarda bu bulgulardan bahsedilmemekteydi. Biz bu durumun principal bezlerin aşırı salgısına bağlı olabileceğini düşündük.

Çolakoğlu ve ark. doyurulduktan sonraki gruplarda mukozal düzelmelerin yaklaşık yedinci günde başladığını ve yine yedinci günde mukozal dejenerasyonun hafiflediğini izlediklerini, doyurulmanın sekizinci gününe ise yer yer kript düzensizliklerinin devam ettiğini ve kriptlerde genişlemelerin dikkat çekici olduğunu ve doyurulmanın onikinci gününde ise yapısal bozuklukların düzeldiğini ve hemen hemen kontrol grubuna benzediğini belirtmişlerdir.

Sönmez ise doyurulmanın doyurulmanın birinci gününde apikal mukozadaki epitel hücrelerin yapısındaki bozulmaların devam ettiğini, gastrik bezlerin

lūmenindeki geniřlemelerin açlık grubuna gōre daha ileri dūzeyde olduėunu ama lūmendeki kōpūksū gōrūnūmūn kaybolduėunu, doyurulmanın ūncū gūnūnde apikal mukozadaki bozuklukların bŷyŷk oranda dŷzeldiėini ancak gastrik bezlerdeki geniřlemelerin devam ettiėini, doyurulmanın beřinci gūnūnde apikal mukozadaki yapısal bozuklukların dŷzeldiėini ancak gastrik bezlerdeki geniřlemelerin halen devam ettiėini, mukozadaki damarlarda kŷcŷk çaplı konjesyon ve dilatasyon olduėunu, doyurulmanın yedinci gūnūnde ise apikal mukozanın dŷzenli olarak ayırt edildiėini ama gastrik bezlerdeki geniřlemelerde beřinci gŷne gōre herhangi bir deėiřiklik saptanmadıėını bildirmiřtir (7,102).

Bizim alışmamızda ise doyurulmanın beşinci gūnūnde yŷzey epitelinin normale yakın gōrŷnŷm sağladığı alanlar olmakla birlikte, bunlara ilave olarak mukozanın halen normale kıyasla dōkŷlmeye bağlı daha ince gōrŷnŷmŷ ve hala dejenerasyon, bŷtŷnlŷkte bozulma, yer yer dōkŷlme ile ayrılımlar devam ediyordu. Bezlerdeki genişlemelerde hala devam etmekteydi. Ayrıca mukozada damarlarda dilatasyon mevcuttu. Doyurulmanın yedinci gūnūnde ise apikal mukozanın bŷyŷk oranda normalleşip dŷzenli gōrŷlmesine rağmen bazı alanlarda yŷzey epitelinde dōkŷlmenin devam ettiğini ve mŷkōz bezlerin yoğunluğunun arttığı alanların mevcut olduğunu izledik. Ayrıca gastrik bezlerdeki genişlemelerin ve mukozal damarlardaki konjesyon ve dilatasyonların doyurulmanın beşinci gŷnŷne kıyasla azalarak devam ettiğini saptadık.

Apikal mukozada dŷzenli gōrŷnŷm Sōnmez tarafından doyurulma sonrası yedinci gŷnde, olakoğlu ve ark. tarafından doyurulma sonrası onikinci gŷnde ayırtedilmīřti. Biz ise kısmi normal alanları Sōnmez'le uyumlu olarak doyurulma sonrası yedinci gŷnde ayırt ettik. Tıpkı Sōnmez'in çalışmasında olduğu gibi

doyurulma sonrası yedinci günde bile gastrik bez genişlemeleri devam etmekteydi ama Sönmez'le uyumlu olarak azalarak düzelme gösteriyordu. Sönmez doyurulmanın beşinci gününde konjesyone ve dilate damarların varlığından bahsederken aynı olguyu doyurulmanın beşinci gününde bizde gözlemledik. Ancak biz doyurulmanın yedinci gününde de mukozada azalmakla birlikte varlığını sürdüren konjesyone ve dilate damarlar izlememize rağmen Sönmez'in çalışmasında bu oluşumlardan (damarlardan) bahsedilmemişti. Çolakoğlu ve ark. ile uyumlu olarak ise doyurulmanın yedinci gününde bizim çalışmamızda da normal alanlar gözlenmekle birlikte yer yer bu alanlarla beraber epitel dökülmelerinin de olduğunu demonstre ettik.

Hülasa, açlık organizmanın ve hücrelerinin yakıt teminini engelleyerek veya tamamıyla ortadan kaldırarak ve süresine ve kronikliğine bağlı olarak genel anlamda tüm dokularda özel çalışma konumuz olarakda mide dokusunda histopatolojik değişiklikler oluşturur. Bu yapısal bozuklukların oluşumunda yakıt yokluğu nedeniyle ortaya çıkan ATP kazanımının engellenmiş olması ve ATP kazanabilmek için hücrenin geliştirdiği adaptif yöntem ve yollar büyük önem taşır. Bu adaptif amaçlı fizyopatolojik yol ve yöntemler hücreden başlamak üzere bir kaskad halinde dokuyu, organları ve nihayetinde organizmayı stres etkeninin şiddet ve süresine de bağlı olarak histopatolojik olarak da görülebilecek dejeneratif sonuçlarla karşı karşıya getirir. Doyurulma ile bu değişiklikler kısmen azalır. Açlık mide dokusunun nesfatin-1 immün reaktivitesini artırır. Özellikle uzamış açlık mide dokusunun nesfatin immün reaktivitesinin artması için fizyopatolojik bir tetikçi görevi yapar. Daha önceki yayınlarda dışarıdan (ekzojen) tedavi amacıyla verilen nesfatin-1'in mide mukozasını hasarlayıcı etkenlere karşı koruyucu olduğu raporlanmıştır

(221,222). Ancak çalışmamızda nesfatin-1 normalin çok üstünde (endojen olarak) artmış olmasına rağmen mide mukozası ve mide mukusu için koruyucu olmamıştır. Bu bulgu özellikle nesfatin-1'in mide koruyucu etkisinin doza bağımlı olduğunu düşündürmektedir. Ancak şu açıktır ki nesfatin-1 ekspresse eden hücreler, mide lümeninin içeriğindeki değişikliklere yanıtı ve duyarlıdır. Dışarıdan verilen nesfatin-1 tokluk hissi oluşturarak anoreksijenik bir etki göstermektedir. Uzamış açlık hali değil ancak normal bir açlık-tokluk döngüsü söz konusu olduğunda bu döngünün tokluk safhasında ortaya çıkan pozitif enerji dengesine karşı bir yanıt olarak nesfatin-1 ekspresse eden hücreler artmaktadır.

Sonuç olarak genel bir bakış yapıldığında veya toplu bir değerlendirmeye öyle görünmektedir ki nesfatin-1 hücrenin ATP sayacı olan AMPK ile henüz ispatlanmamış ama bizim AMPK' yı aşağı yönde regüle ettiğini düşündüğümüz bir mekanizma ile, AMPK' nın sayma işlemini tamamladıktan sonra hücre ve organizma için en yüksek yararlılığa sahip olasılığa yönelik olarak harekete geçireceği metabolik ve sinyalizasyon yollarının hücre için stratejik bir uygulamaya yönelmek üzere kesiştiği kavşak moleküllerinden (henüz pek çoğunu bilmediklerimizi veya keşfedemediklerimizi veya henüz üzerinde çalışılan ve kullanılabilir /aşkar edilebilir hale gelmemiş olanları da varsayarsak) yalnızca birisidir. Öyle görünmektedir ki nesfatinin görevi ve fonksiyonu AMPK yoluyla almış olduğu sellüler iç ortamın enerji durumuna dair bilgiyle, hücrenin maruz kaldığı veya maruz kalacağı stresleri veya fizyolojik etkenleri daima yüksek ATP statüsünü düşürmek (birikmiş potansiyel enerjiyi biyolojik kinetik bir enerjiye ve çoğu kez organizmanın yararına olacak yönde; örneğin tokluk, ergenlik, üreme aksı) amacıyla hücreyi ya kontrollü ve olağan kabul edilebilecek şekilde organizma

yararına apoptozis, differansiyasyon veya proliferasyon işlemlerinden birine ya da kanser ve kronik açlık gibi olumsuz bir durum ortaya çıktığında kontrollü bir ölüm sağlamak üzere yine organizmanın yararını temin edecek zorunlu bir apoptozise sürmektir. Aynı zamanda pek çok çalışma nesfatin-1'in bu yüksek enerji statüsünü düşürme fonksiyonunu organizma düzeyinde pek çok hormon ve diğer peptidlerle işbirliği yaparak organizmanın iç ortamını koruma yönünde de sistematik olarak gerçekleştirdiğini göstermektedir.

Bu haliyle hem merkeze sürekli bir dizi sinyal iletmesi ve hem daima merkezden efferent komutları getirmesi ve ayrıca hücre içi pek çok sinyalizasyon yolağıyla karşılıklı etkileşim göstermesi ve ayrıca merkeze ait kritik odaklar arasındaki etkileşimde düzenleyici rol oynaması bu molekülün ne bir nörotransmitter ne bir hormon ne bir multifonksiyonel peptid olamayacağını düşündürmüştür. Bizim kanaatimiz nesfatin henüz adlandırılmamış bir molekül grubuna aittir. Biz bu gruba transpeptidler (geçiş peptidleri) adının uygun olabileceğini düşündük. Ve inanıyoruzki "future research " başlığı altında zamanla daha da gelişecek olan teknolojik imkanlarla ve o güne kadar daha da artacak olan bilimsel birikime dayanarak yapılacak yeni çalışmalar henüz pek az üyesi belirlenmiş (leptin, ghrelin, adiponektin, adropin, visfatin, bombesin, obestatin, noronostatin benzeri pek çoğu) bu grubun tüm özelliklerini, etkilerini, işleyiş mekanizmalarını ve reseptörlerini tanımlayacak ve belkide insanlık adına bugün çözümsüz gibi görünen pek çok kronik patolojik (obezite, DM, kardiovasküler hastalıklar vb) durumun tedavisinde yeni ufuklar açacaktır. Ve bizim şimdilik geçici olarak düşündüğümüz/teklif ettiğimiz bu grup ismi elde edilmiş olacak olan yeni bilgilerin ışığında en doğru biçimine kavuşturulmak üzere düzeltilecektir.

## 7. KAYNAKLAR

- 1- Sadler TW. Langman Medikal Embriyoloji. Başaklar AC (Çeviren). 11. BaskıdanÇeviri, Ankara: Palme, 2011: 209-218.
- 2- Kuran O. Sistematik Anatomi. 3. Basım. İstanbul: Filiz Kitabevi, 1993: 388-395.
- 3- Dere F. Anatomi Atlası ve Ders Kitabı. 6. Baskı. Adana: Nobel, 2010: 868-874.
- 4- Pawlina W, Ross MH. Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas. Baykal B (Çeviri Editörü). 6. Baskıdan Çeviri, Ankara: Palme, 2014: 573-586.
- 5- Taşkın M. Beslenme Fizyolojisi ve Biyokimyası. Türkiye Klinikleri J Surg Med Sci 2007; 3: 18-25.
- 6- Hall JE. Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji. Yeğen BÇ (Çeviri Editörü/Çeviren). 12. Baskı, İstanbul: Nobel, 2013: 843-857.
- 7- Sönmez MF. Sıçanlarda Açlık ve Doyurulma Sonrası Midede Ghrelin İmmun Reaktivitesinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji -Embriyoloji Ana Bilim Dalı, 2005.
- 8- Widmaier EP, Raff H, Strang KT. Vander İnsan Fizyolojisi. Demirgören S (Çeviri Editörü/Çeviren). 10. Basım, İzmir: Güven Bilimsel, 2010: 615-50.
- 9- Yosten GLC. Anorexia. In: Litwack G. (Editor). Novel Neuropeptides in the Control of Food Intake: Neuronostatin and Nesfatin-1. Chapter One. Vitamins ve Hormones, Elsevier 2013; 92 1-25.
- 10- Zhang LN, Mitchell SE, Hambly C, Morgan DG, Clapham JC, Speakman JR. Physiological and behavioral responses to intermittent starvation in C57BL/6J mice. Physiology ve Behavior 2012; 105: 376-387.
- 11- Becer E. Obez Kişilerde Q223RPolimorfizmi İle Leptin, Adiponektin, Resistin ve İnsülin Direnci Arasındaki İlişkinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Lefkoşa: Yakın Doğu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2012.
- 12- Berthoud, HR. Multiple Neural Systems Controlling Food İntake and Body Weight. Neuroscience and Biobehavioral Reviews 2002,26: 393-428.
- 13- Boitano S, Brooks H L. Ganong'un Tıbbi Fizyolojisi. Gökbel H (Çeviri Editörü/Çeviren). 23. Baskı, İstanbul: Nobel, 2011: 274.
- 14- Cone, R D. Anatomy and regulation of the central melanocortin system. Nature Neuroscience 2005; 8: 571-578.
- 15- Ferguson, AV, Latchford, KJ, ve Samson, WK. The paraventricular nucleus of the hypothalamus-A potential target for integrative treatment of autonomic dysfunction. Expert Opinion on Therapeutic Targets 2008; 12: 717-727.
- 16- Hall JE. Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji. Yeğen BÇ (Çeviri Editörü/Çeviren). 12. Baskı, İstanbul: Nobel, 2013: 711-720.
- 17- Köylü H. Klinik Anlatımlı Tıbbi Fizyoloji. 1. Baskı, İstanbul: Nobel, 2014: 45-83.

- 18- Lustig RH. Pediatric Obesity: Etiology, Pathogenesis and Treatment. In: Freemark M. (Editor). The Neuroendocrine Control of Energy Balance. XVI. Contemporary Endocrinology, Springer 2010: 15-32. <http://www.springer.com/978-1-60327-873-7>
- 19- Kishi T, Aschkenasi CJ, Lee CE, Mountjoy KG, Saper, CB, Elmquist JK. Expression of melanocortin 4 receptor mRNA in the central nervous system of the rat. The Journal of Comparative Neurology 2003; 457: 213–235.
- 20- Dursun N. Leptinin Kardiyovasküler Etkileri. Erciyes TıpDergisi (Erciyes Medical Journal) 2005; 27: 167-176.
- 21- Arıkan Ş. İnsanlarda Açlık ve Tokluk Hissinin Oluşumu. <http://unikop.org/makale/KS13-5-01.pdf> Erişim tarihi: 10.03.2015
- 22- William F Ganong. Tıbbi Fizyoloji. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği (Çeviren). 20. baskı, İstanbul: Nobel, 2002: 249-270.
- 23- Kök AN, Tunalı İ. Açlığın Adli Tıp Yönünden Değerlendirilmesi. Adli Tıp Dergisi 1992; 8: 85-91.
- 24- Caquineau C, Leng G, Guan XMM, Jiang M, VanDer Ploeg L, Douglas AJ. Effects of alpha-melanocyte-stimulating hormone on magnocellular oxytocin neurones and their activation at intromission in male rats. Journal of Neuroendocrinology 2006; 18: 685–691.
- 25- Mc Cue MD. Starvation physiology: Reviewing the different strategies animals use to survive a common challenge. Comparative Biochemistry and Physiology 2010; 156: 1-18.
- 26- Elia M. Hunger Disease. Clinical Nutrition 2000; 19: 379-386.
- 27- West KP. Famine. Caballero B, Allen L, Prentice A. (Editors). Famine. Article title ‘‘F’’. Encyclopedia Human Nutrition. 2nd Edition, Elsevier 2005: 169-177.
- 28- Çolakoğlu N, Kükner A, Canpolat L, Gezen MR, Öner J, Ozan E. Açlıkta mide mukozası değişikliklerinin ışık mikroskopik incelenmesi. Fırat Tıp Dergisi 1999; 8: 575-579.
- 29- Speakman JR, Mitchell SE. Caloric Restriction. Molecular Aspects of Medicine 2011; 32: 159-221.
- 30- Cahill GF Jr. Starvation in man. N Engl J Med. 1970 Mar 19; 282: 668-75.
- 31- Cahill G Jr, Felig P, Owen O, Wahren J. Metabolic adaptation to prolonged starvation in man. Nord Med 1970;15; 83: 89.
- 32- Viscarra JA, Ortiz RM. Cellular mechanisms regulating fuel metabolism in mammals: Role of adipose tissue and lipids during prolonged food deprivation. Metabolism Clinical and Experimental 2013; 62: 889-897.
- 33- Marliss EB, Aoki TT, Unger RH, Soeldner JS, Cahill GF. Glucagon levels and metabolic effects in fasting man. J Clin Invest 1970; 49: 2256-70.
- 34- Finn FP, Dice JF. Proteolytic and lipolytic responses to starvation. Nutrition 2006; 22: 830-844.
- 35- Cahill GF Jr, Owen OE. Body fuels and starvation. Int Psychiatry Clin. 1970; 7: 25-36.
- 36- Cahill GF, Marliss EB, Aoki TT. Fat and nitrogen metabolism in fasting man. Horm Metab Res 1970; 2: 181-5.

- 37- Reichard GA, Haff AC, Skutches CL, Paul P, Holroyde CP, Owen OE. Plasma acetone metabolism in the fasting human. *J Clin Invest.* 1979; 63: 619-626.
- 38- Awad S, Constantin-Teodosiu D, Macdonald IA, Lobo DN. Short-term starvation and mitochondrial dysfunction –A possible mechanism leading to postoperative insulin resistance. *Clinical Nutrition* 2009; 28: 497-509.
- 39- Cahill GF. Fuel Metabolism In Starvation. *Annual Review of Nutrition* 2006; 26: 1-22.
- 40- Song B, Thomas DM. Dynamics of starvation in humans. *Journal of Mathematical Biology* 2007; 54: 27-43.
- 41- Belkhou R, Cherel Y, Heitz A, Robin J-P, Maho YL. Energy contribution of proteins and lipids during prolonged fasting in the rat. *Nutrition research* 1991; 11: 365-374.
- 42- Cherel Y, Burno A-F, Leturque A, Maho YL. In vivo glucose utilization in rat tissues during three phases of starvation. *Metabolism* 1988; 37: 1033-1039.
- 43- Bertile F, Raclot T. The melanocortin system during fasting. *Peptides* 2006; 27: 291-300.
- 44- Chediack JG, Funes SC, Cid FD, Filipa V, Caviedes-Vidal E. Effect of fasting on the structure and function of the gastrointestinal tract of house sparrows (*Passer domesticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2012; 163: 103-110.
- 45- Haller W, Bines JE. Starvation and Fasting. Caballero B. (Editor). *Starvation and Fasting: Biochemical Aspects.* Article title ‘S’. *Encyclopedia of Human Nutrition* 3rd Edition, Amsterdam, The Netherlands, Oxford UK, Italy: Elsevier 2013: 209-218.
- 46- Li R-Y, Zhang Q-H, Liu Z, Qiao J, Zhao S-X, Shao L, Xiao H-S, Chen J-L, Chen M-D, Song HD. Effect of short-term and long-term fasting on transcriptional regulation of metabolic genes in rat tissue. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2006; 344: 562-570.
- 47- Carlson NR. *Fizyolojik Psikoloji.* Şahin M (Çeviri Editörü). 8. Baskı, Ankara: Nobel, 2012.
- 48- <http://www.norecopa.no/norecopa/vedlegg/Food-deprivation.pdf> Erişim tarihi: 10.03.2015
- 49- Cherel Y, Attaix D, Rosolowska-Huszcz D, Belkhou R, Robin JP, Arnal M, Le Maho Y. Whole-body and tissue protein synthesis during brief and prolonged fasting in the rat. *Clin Sci (Lond)* 1991; 81: 611-619.
- 50- Prentice AM. Starvation in humans: Evolutionary background and contemporary implications. *Mechanism of Ageing and Development* 2005; 126: 976-981.
- 51- Owen OE, Hanson RW. Starvation. Lennarz WJ, Lane MD. (Editors). *Metabolism, Vitamins and Hormones (Section).* Article title ‘S’. *Encyclopedia of Biological Chemistry* 2nd Edition, London UK, Burlington USA, San Diego USA: Elsevier 2013: 298-307.
- 52- Kirk LK. Starvation in Rotifers: Physiology in an Ecological Context. In: McCue MD. (Editor). *Physiological Responses to Starvation.* Chapter 3. *Comparative Physiology of Fasting, Starvation, and Food Limitation.* E-book, San Antonio (USA): Springer, 2012: 25-35.
- 53- Inoue W, Luheshi GN. Acute starvation alters lipopolysaccharide-induced fever in leptin-dependent and -independent mechanisms in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; 299: 1709-1719.

- 54- Salin K, Voituron Y, Mourin J, Hervant F. Cave colonization without fasting capacities: an example with the fish *Astyanax fasciatus mexicanus*. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2010; 156: 451-457.
- 55- Penicaud L, Le Magnen J. Recovery of body weight following starvation or food restriction in rats. *Neurosci Biobehav* 1980; 4: 47-52.
- 56- Nakahara K, Okame R, Katayama T, Miyazato M, Kangawa K, Murakami N. Nutritional and environmental factors affecting plasma ghrelin and leptin levels in rats. *J Endocrinol* 2010; 207: 95-103.
- 57- Bruijine JJ, Altszuler N, Hampshire J, Visser TJ, Hackeng WHL. Fat mobilization and plasma hormone levels in fasted dogs. *Metabolism* 1981; 30: 190-194.
- 58- Salgin B, Marcovecchio ML, Hill N, Dunger DB, Frystyk J. The effect of prolonged fasting on levels of growth hormone-binding protein and free growth hormone. *Growth Hormon veIGF research* 2012; 22: 76-81.
- 59- Ichikawa T, Ishihara K, Nozue K, Miyazawa S, Nemoto N, Hotta K. Serum and antral gastrin levels in fed and fasted rats: relation to aging. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 1998; 121: 223-228.
- 60- Koop H, Schwab E, Arnold R, Creutzfeldt W. Effect of food deprivation on rat gastric somatostatin and gastrin release. *Gastroenterology* 1982; 82 (5 Pt 1): 871-6.
- 61- Landmann EM, Schellong K, Melchior K, Rodekamp E, Ziska T, Harder T, Plagemann A. Short-term regulation of the hypothalamic melanocortineric system under fasting and defined glucose-refeeding conditions in rats: A laser-capture microdissection (LMD)-based study. *Neuroscience Letters* 2012; 515: 87-91.
- 62- Longo VD, Mattson MP. Fasting: Molecular Mechanisms and Clinical Applications. *Cell Metabolism* 2014; 19: 181-192.
- 63- Alessi D, Kozlowski MT, Weng Q-P, Morrice N, Avruch J. 3-Phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PDK1) phosphorylates and activates the p70 S6 kinase in vivo and in vitro. *Current Biology* 1997; 8: 69-81.
- 64- Hardie DG. Minireview: The AMP-Activated Protein Kinase Cascade: The Key Sensor of Cellular Energy Status. *Endocrinology* 2003; 144: 5179-5183.
- 65- Hay N, Sonenberg N. Upstream and downstream of mTOR. *Genes ve Development* 2004; 18: 1926-1945.
- 66- Um SH, D'Alessio D, Thomas G. Nutrient overload, insulin resistance, and ribosomal protein S6 kinase 1, S6K 1. *Cell Metabolism* 2006; 3: 393-402.
- 67- Zhang J, Gao Z, Yin J, Quon MJ, Ye J. S6K Directly Phosphorylates IRS-1 on Ser-270 to Promote Insulin Resistance in Response to TNF-Signaling through IKK2. *The Journal of Biological Chemistry* 2008; 283: 35375-35382.
- 68- Vogel T, Wislet-Gendebien S. (Editor). Insulin/IGF-Signalling in Embryonic and Adult Neural Proliferation and Differentiation in the Mammalian Central Nervous System. Chapter 2. *Trends in Cell Signaling Pathways in Neuronal Fate Decision*. InTech 2013: 37-74.
- 69- [http://wikipedia.org/wiki/Extracellular signal-regulated kinases](http://wikipedia.org/wiki/Extracellular_signal-regulated_kinases). Erişim tarihi: 10.03.2015

- 70- Some Cytosolic Proteins Are Directly Transported into Lysosomes for Degradation. Transport from the Trans Golgi Network to Lysosomes. Vesicular Traffic in the Secretory and Endocytic Pathways. *Molecular Biology of The Cell*. [www.bion.com/.../mboc.cgi?code=1302061](http://www.bion.com/.../mboc.cgi?code=1302061) Erişim tarihi: 10.03.2015
- 71- Knecht E, Salvador N. Chaperone-Mediated Autophagy. *Madame Curie Bioscience Database* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6036/> Erişim tarihi: 10.03.2015
- 72- Morozov IA, Kovanova LA, Vodolagin VD, Miniailenko MI. The ultrastructure of the parietal cells of the stomach and their functional activity. *Biull Exsp Biol Med* 1975; 79: 14-18.
- 73- Butterfield WC. Experimental stress ulcers: a review. *Surg Annu* 1975; 7: 261-78.
- 74- Zaviacic M, Brozman M, Jakubovsky J. Histoenzymatic and ultrastructural findings in the human gastric mucosa during fasting. *Gastroenterol Jpn* 1975; 10: 261-270.
- 75- Zaviacic M, Brozman M, Jakubovský J. Influence of fasting and stimulation on the rat gastric endocrine cells. Histochemical and ultrastructural study. *Histochemistry*. 1976; 49: 315-325.
- 76- Zaviacic M, Brozman M. Histochemical findings in the rat gastric mucosa during starvation. Springer-Verlag, 1976: 327-35.
- 77- Sano M. Electron microscopic studies on endocrine cells and exocrine cells in gastric mucosa of rats. II. Morphological changes in chief cells and parietal cells after fasting, refeeding, and electric vagal stimulation. *Nihon Geka Hokan*. 1976; 45: 265-278.
- 78- Zaviacic M, Brozman M, Jakubovský J, Duris I. Ultrastructure of the human antral G cells during fasting. *Exp Pathol (Jena)*. 1977; 14: 131-135.
- 79- Zaviacic M, Brozman M, Jakubovsky J. Influence of starving on the rat gastric mucosa-light and electron microscopic findings. *Exp Pathol (Jena)* 1977; 14: 122-130.
- 80- Mortensen NJ, Morris JF, Owens C. Gastrin and the ultrastructure of G cells in the fasting rat. *Gut* 1979; 20: 41-50.
- 81- Zaviacic M, Brozman M, Jakubovský J, Mikulecký M, Blazeková J. Circadian ultrastructural changes in rat gastric parietal cells. *Exp Pathol (Jena)* 1980; 18: 85-95.
- 82- Bertrand P, Williams G. Induction of antral gastrin cell proliferation by refeeding of rats after fasting. *Gastroenterology*. 1980; 78: 918-924.
- 83- Siniavskaia IM, Vinogradova MS. Ultrastructure of the gastric endocrine cells of hungry and fed sexually immature rats. *Biull Eksp Biol Med* 1981; 91: 238-2341.
- 84- Jacobs DM, Sturtevant RP. Circadian ultrastructural changes in rat gastric parietal cells under altered feeding regimens: a morphometric study. *Anat Rec* 1982; 203: 101-113.
- 85- Schwarting H, Koop H, Gellert G, Arnold R. Effect of starvation on endocrine cells in the rat stomach. *Regul Pept* 1986; 14: 33-39.
- 86- Solomon TE. Trophic effects of pentagastrin on gastrointestinal tract in fed and fasted rats. *Gastroenterology* 1986; 91: 108-116.
- 87- Oomori Y. Immunohistochemistry and morphometry of gastrin cells in the rat pyloric antrum during starvation. *Anat Embryol (Berl)* 1986; 175: 7-14.

- 88- Alvares EP. Circadian rhythms of mitotic activity in gastric mucosa of feeding and fasting rats. *Prog Clin Biol Res* 1987; 227: 353-60.
- 89- Matsumoto A, Asada S, Saitoh O, Tei H, Okumura Y, Hirata I, Ohshiba S. A study on gastric ulcer induced by long-term fasting in rats. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1989; 162: 75-78.
- 90- Uspenskiĭ VM, Shcherbak SG, Mironov A, Golofeevskĭ VI, Sergeev ST, Antropov VI. Functional and morphological characteristics of the digestive reaction of gastric mucosa. *Arkhn Anat Gistol Embriol* 1990; 99: 21-31.
- 91- Yamazaki Y, Ueda T, Kohli Y, Fujiki N, Imamura Y, Fukuda M. Importance of acidic mucin secretions by foveolar and mucous neck cells of rat fundic mucosa as the defence mechanisms against HCl as revealed by fasting. *Eur J Histochem* 1992; 36: 161-76.
- 92- Alvares EP. The effect of fasting on cell proliferation in the gastric mucosa of the 14-day-old suckling rat. *Braz J Med Biol Res* 1992; 25: 641-649.
- 93- Alvares EP, Gama P. Fasting enhances cell proliferation of gastric epithelium during the suckling period in rats. *Braz J Med Biol Res* 1993; 26: 869-873.
- 94- Eşrefoğlu M, Selimoğlu MA. Wistar albino farelerde sindirim kanalı müsınlerinin histokimyasal özellikleri. *T Klin Gastroenterohepatol* 2000; 11: 25-35.
- 95- Kinoshita M, Igarashi S, Kume E, Saito N, Arakawa K. Fasting induces impairment of gastric mucosal integrity in non-insulin dependent diabetic (db/dd) mice. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 359-366.
- 96- Igarashi S, Kume E, Narita H, Kinoshita M. Food Deprivation Depletes Gastric Mucosa Glycoprotein in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Jpn j Pharmacol* 2000; 84: 51-55.
- 97- Fukuyama K, Iwakiri R, Noda T, Kojima M, Utsumi H, Tsunada S, Sakata H, Ootani A, Fujimoto K. Apoptosis induced by ischemia-reperfusion and fasting in gastric mucosa compared to small intestinal mucosa in rats. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 545-549.
- 98- Svestka T, Krechler T, Zák A, Fabry TL, Zhang ZG. Effect of fasting on gastric mucosa thickness: experimental study in laboratory rats. *Cas Lek Cesk* 2003; 142: 751-754.
- 99- Ogawa K, Noguchi H, Tsuji M, Sasaki F. Starvation induces the formation of giant mitochondria in gastric parietal cells of guinea pigs. *J Electron Microsc* 2003; 52: 217-225.
- 100- Uçar M, Eşrefoğlu M, Gül M. Kısa ve uzun süreli açlığın sıçan mide mukozasında oluşturduğu histolojik ve histokimyasal değişiklikler. *T Klin Gastroenterohepatoloji* 2004; 15: 23-30.
- 101- Ogawa K, Tsuji M, Noguchi H, Tsuyama S, Sasaki F. Reversible formation of giant and normal-sized mitochondria in gastric parietal cells of guinea pigs. *The Anatomical Record Part A* 2004; 278: 533-539.
- 102- Sönmez MF, Ozan E. Fasting and refeeding effects on rats stomach tissue: Light microscopic study. *Fırat Tıp Dergisi* 2005; 10: 96-102.
- 103- Koç ND, Muslu MN. The Histological Examination of *Mus musculus*' Stomach Which Was Exposed to Hunger and Thirst Stress: A Study with Light Microscope. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 2007; 10: 2988-2991.

- 104- Oh-I S, Shimizu H, Satoh T, Okada S, Adachi S, Inoue K, Eguchi H, Yamamoto M, Imaki T, Hashimoto K, Tsuchiya T, Monden T, Horiguchi K, Yamada M, Mori M. Identification of nesfatin-1 as a satiety molecule in the hypothalamus. *Nature* 2006; 443: 709-712.
- 105- [http://www.rndsystems.com/Products/dy5949/Related Information](http://www.rndsystems.com/Products/dy5949/Related%20Information). Molecule Information: Nesfatin-1/Nucleobindin-2. Erişim tarihi: 10.03.2015
- 106- Barnikol-Watanabe S, Gross NA, Götz H, Henkel T, Karabinos A, Kratzin H, Barnikol HU, Hilschmann N. Human protein NEFA, a novel DNA binding/EF-hand/leucine zipper protein. Molecular cloning and sequence analysis of the cDNA, isolation and characterization of the protein. *Biol Chem Hoppe Seyler*. 1994; 375: 497-512.
- 107- [http://www.prospecbio.com/NUCB2\\_Mouse\\_10\\_334/](http://www.prospecbio.com/NUCB2_Mouse_10_334/). Erişim tarihi: 10.03.2015
- 108- Li Z, Mulholland M, Zhang W. Regulation of Gastric Nesfatin-1/NUCB2. *Curr Pharm Des* 2013 25: 6981-6985.
- 109- García-Galiano D, Navarro VM, Gaytan F, Tena-Sempere M. Expanding roles of NUCB2/nesfatin-1 in neuroendocrineregulation. *J Mol Endocrinol* 2010; 45: 281-90.
- 110- <http://www.abbomax.com/ProductUploads/PDFs/600-660-NEFA.pdf> Erişim tarihi: 10.03.2015
- 111- <http://en.wikipedia.org/wiki/NUCB2>. Erişim tarihi: 10.03.2015
- 112- Foo KS, Brauner H, Ostenson CG, Broberger C. Nucleobindin-2/nesfatin in the endocrine pancreas: distribution and relationship to glycaemic state. *J Endocrinol* 2010; 204: 255-63.
- 113- Mori M, Yamada M, Okada S, Hashimoto K, Satoh T, Shimizu H, Yada T. Discovery of Nesfatin-1 and Overview of Biological Actions and New Developments. *Curr Pharm Des* 2013; 25: 6921-6926.
- 114- Shimizu H, Oh-I S, Okada S, Mori M. Nesfatin-1: an overview and future clinical application. *Endocr J* 2009; 56: 537-43.
- 115- Shimizu H, Oh-I S, Hashimoto K, Nakata M, Yamamoto S, Yoshida N, Eguchi H, Kato I, Inoue K, Satoh T, Okada S, Yamada M, Yada T, Mori M. Peripheral administration of nesfatin-1 reduces food intake in mice: the leptin-independent mechanism. *Endocrinology* 2009; 150: 662-671.
- 116- Aydin S. Role Of NUBC2/Nesfatin1 As A Possible Biomarker. *Curr Pharm Des* 2013; 25: 6986-6992.
- 117- Aydin S. Multi-functional peptide hormone NUCB2/nesfatin-1. *Endocrine*. 2013 Mar 23: 312-325.
- 118- Shimizu H, Osaki A. Nesfatin/Nucleobindin-2 (NUCB2) and Glucose Homeostasis. *Curr Hypertens Rev* 2014 [Epub ahead of print]
- 119- Yamada M, Horiguchi K, Umezawa R, Hashimoto K, Satoh T, Ozawa A, et al. Troglitazone, a ligand of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ , stabilizes NUCB2 (Nesfatin) mRNA by activating the ERK1/2 pathway: isolation and characterization of the human NUCB2 gene. *Endocrinology* 2010; 151: 2494-503.
- 120- Goebel-Stengel M, Wang L. Central And Peripheral Expression And Distribution Of NUBC2/Nesfatin-1. *Curr Pharm Des* 2013; 19: 6935-6940.

- 121- Foo KS, Brismar H, Broberger C. Distribution and neuropeptide coexistence of nucleobindin-2 mRNA/nesfatin-like immunoreactivity in the rat CNS. *Neuroscience* 2008; 156 (3): 563-79.
- 122- Goebel M, Stengel A, Wang L, Lambrecht NW, Taché Y. Nesfatin-1 immunoreactivity in rat brain and spinal cord autonomic nuclei. *Neurosci Lett* 2009; 452: 241-6.
- 123- Kohno D, Nakata M, Maejima Y, Shimizu H, Sedbazar U, Yoshida N, et al. Nesfatin-1 neurons in paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus coexpression oxytocin and vasopressin and are activated by refeeding. *Endocrinology* 2008; 149: 1295-301.
- 124- Fort P, Salvert D, Hanriot L, Jégo S, Shimizu H, Hashimoto K, et al. The satiety molecule nesfatin-1 is co-expressed with melanin concentrating hormone in tuberal hypothalamic neurons of the rat. *Neuroscience* 2008 31; 155 (1): 174-8.
- 125- Xu L, Bloem B, Gaszner B, Roubos EW, Kozicz T. Sex-specific effects of fasting on urocortin 1, cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide and nesfatin-1 expression in the rat Edinger-Westphal nucleus. *Neuroscience* 2009 15; 162: 1141-1149.
- 126- Maejima Y, Sedbazar U, Suyama S, Kohno D, Onaka T, Takano E, et al. Nesfatin-1-regulated oxytocinergic signaling in the paraventricular nucleus causes anorexia through a leptin-independent melanocortin pathway. *Cell Metab* 2009; 10: 355-65.
- 127- Özşavcı D, Erşahin M, Şener A, Özakpınar ÖB, Toklu HZ, Akakın D, et al. The novel function of nesfatin-1 as an anti-inflammatory and anti apoptotic peptide in subarachnoid hemorrhage-induced oxidative brain damage in rats. *Neurosurgery* 2011; 68: 1699-708.
- 128- Goebel-Stengel M, Wang L, Stengel A, Taché Y. Localization of nesfatin-1 neurons in the mouse brain and functional implication. *Brain Res* 2011 17; 1396: 20-34.
- 129- Gaigé S, Bonnet MS, Tardivel C, Pinton P, Trouslard J, Jean A, et al. c-Fos immunoreactivity in the pig brain following deoxynivalenol intoxication: focus on NUCB2/nesfatin-1 expressing neurons. *Neurotoxicology* 2013; 34: 135-49.
- 130- Senejani AG, Gaupale TC, Unniappan S, Bhargava S. Nesfatin-1/nucleobindin-2 like immunoreactivity in the olfactory system, brain and pituitary of frog, *Microhyla ornata*. *Gen Comp Endocrinol* 2014; 202: 8-14.
- 131- Stengel A, Goebel M, Yakubov I, Wang L, Witcher D, Coskun T, et al. Identification and characterization of nesfatin-1 immunoreactivity in endocrine cell types of the rat gastric oxyntic mucosa. *Endocrinology* 2009; 150: 232-8.
- 132- Jiang L, Bao J, Zhou X, Xiong Y, Wu L. Increased serum levels and chondrocyte expression of nesfatin-1 in patients with osteoarthritis and its relation with VKI, hsCRP, and IL-18. *Mediators Inflamm* 2013; 2013: 631251(9 pages).
- 133- Hatef A, Shajan S, Unniappan S. Nutrient status modulates the expression of nesfatin-1 encoding nucleobindin 2A and 2B mRNAs in zebrafish gut, liver and brain. *Gen Comp Endocrinol* 2015; 215: 51-60.
- 134- Gonzalez R, Kerbel B, Chun A, Unniappan S. Molecular, cellular and physiological evidences for the anorexigenic actions of nesfatin-1 in goldfish. *PLoSOne* 2010; 5(12): e15201.

- 135- Lin F, Zhou C, Chen H, Wu H, Xin Z, Liu J, et al. Molecular characterization, tissue distribution and feeding related changes of NUCB2A/nesfatin-1 in Ya-fish (*Schizothorax prenanti*). *Gene* 2014; 536: 238-246.
- 136- Caldwell LK, Pierce AL, Riley LG, Duncan CA, Nagler JJ. Plasma nesfatin-1 is not affected by long-term food restriction and does not predict rematuration among iteroparous female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *PLoS One* 2014; 9(1): e85700.
- 137- Stengel A, Taché Y. Minireview: nesfatin-1-an emerging new player in the brain-gut, endocrine, and metabolic axis. *Endocrinology* 2011; 152: 4033-4038.
- 138- Brailoiu GC, Dun SL, Brailoiu E, Inan S, Yang J, Chang JK, Dun NJ. Nesfatin-1: distribution and interaction with a G protein-coupled receptor in the rat brain. *Endocrinology* 2007; 148: 5088-94.
- 139- Iwasaki Y, Nakabayashi H, Kakei M, Shimizu H, Mori M, Yada T. Nesfatin-1 evokes Ca<sup>2+</sup> signaling in isolated vagal afferent neurons via Ca<sup>2+</sup> influx through N-type channels. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 390: 958-62.
- 140- Price TO, Samson WK, Niehoff ML, Banks WA. Permeability of the blood-brain barrier to a novel satiety molecule nesfatin-1. *Peptides* 2007; 28: 2372-2381.
- 141- Pan W, Hsueh H, Kastin AJ. Nesfatin-1 crosses the blood-brain barrier without saturation. *Peptides* 2007; 28: 2223-2228.
- 142- Türkoğlu A, Büyük A, Tanrıverdi MH, Gündüz E, Dusak A, Kaplan İ, Gümüş M. The potential role of VKI, plasma leptin, nesfatin-1 and ghrelin levels in the early detection of pancreatic necrosis and severe acute pancreatitis: A prospective cohort study. *Int J Surg* 2014; 12: 1310-1313.
- 143- Deniz R, Gurates B, Aydın S, Celik H, Sahin I, Baykus Y, et al. Nesfatin-1 and other hormone alterations in polycystic ovary syndrome. *Endocrine* 2012; 42: 694-699.
- 144- Ademoglu EN, Gorar S, Carlıoglu A, Yazıcı H, Dellal FD, Berberoglu Z, Akdeniz D, Uysal S, Karakurt F. Plasma nesfatin-1 levels are increased in patients with polycystic ovary syndrome. *J Endocrinol Invest* 2014; 37: 715-9.
- 145- Cetinkaya H, Karagöz B, Bilgi O, Ozgün A, Tunçel T, Emirzeoğlu L, Top C, Kandemir EG. Nesfatin-1 in advanced lung cancer patients with weight loss. *Regul Pept* 2013; 181: 1-3.
- 146- Zhang Z, Li L, Yang M, Liu H, Boden G, Yang G. Increased plasma levels of nesfatin-1 in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2012; 120: 91-5.
- 147- Li QC, Wang HY, Chen X, Guan HZ, Jiang ZY. Fasting plasma levels of nesfatin-1 in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus and the nutrient-related fluctuation of nesfatin-1 level in normal humans. *Regul Pept* 2010; 159: 72-7.
- 148- Tan BK, Hallschmid M, Kern W, Lehnert H, Randeve HS. Decreased cerebrospinalfluid/plasmaratio of the novel satiety molecule, nesfatin-1/NUCB-2, in obese humans: evidence of nesfatin-1/NUCB-2 resistance and implications for obesity treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 669-673.
- 149- Ramanjaneya M, Chen J, Brown JE, Tripathi G, Hallschmid M, Patel S, et al. Identification of nesfatin-1 in human and murine adipose tissue: a novel depot-specific adipokine with increased levels in obesity. *Endocrinology* 2010; 151: 3169-3180.

- 150- Çatlı G, Olgaç Dünder N, Dünder BN. Adipokines in breast milk: an update. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2014; 6: 192-201.
- 151- Aydın S. The presence of the peptides apelin, ghrelin and nesfatin-1 in the human breast milk, and the lowering of their levels in patients with gestational diabetes mellitus. *Peptides*. 2010; 31: 2236-2240.
- 152- Ari M, Ozturk OH, Bez Y, Oktar S, Erduran D. High plasma nesfatin-1 level in patients with major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2011; 35: 497-500.
- 153- Bloem B, Xu L, Morava E, Faludi G, Palkovits M, Roubos EW, Kozicz T. Sex-specific differences in the dynamics of cocaine- and amphetamine-regulated transcript and nesfatin-1 expressions in the midbrain of depressed suicide victims vs. controls. *Neuropharmacology* 2012; 62: 297-303.
- 154- Celik A, Gurger M, Can C, Balin M, Gul E, Kobat MA, et al. The effect of nesfatin-1 levels on paroxysmal supraventricular tachycardia. *J Investig Med* 2013; 61: 852-855.
- 155- Gungor S, Gurates B, Aydın S, Sahin I, Kavak SB, Kumru S, Celik H, Aksoy A, Yilmaz M, Catak Z, Citil C, Baykus Y, Deniz R, Karakaya F, Ozdemir N. Ghrelins, obestatin, nesfatin-1 and leptin levels in pregnant women with and without hyperemesis gravidarum. *Clin Biochem* 2013; 46: 828-30.
- 156- Cohen RI, Ginsberg N, Tsang D, Wann LC, Ye X, Liu SF. Association of Nesfatin-1 and Fat Mass in Cystic Fibrosis. *Respiration* 2013; 86(4):312-7.
- 157- Gungunes A, Ozbek M, Ginis Z, Sahin M, Demirci T, Cakir Ozkaya E, et al. Serum nesfatin-1 levels in overt and subclinical hyperthyroidism. *Minerva Endocrinol* 2014; 39: 209-14.
- 158- Xia Z, Wang G, Li H, Hu C, Wang Q, Li A, et al. Influence of Bariatric Surgery on the Expression of Nesfatin-1 in Rats with Type 2 Diabetes Mellitus. *Curr Pharm Des* 2015; 21: 1464-71.
- 159- Gil K, Bugajski A, Thor P. Electrical vagus nerve stimulation decreases food consumption and weight gain in rats fed a high-fat diet. *J Physiol Pharmacol* 2011; 62: 637-646.
- 160- Stengel A, Goebel-Stengel M, Jawien J, Kobelt P, Taché Y, Lambrecht NW. Lipopolysaccharide increases gastric and circulating NUCB2/nesfatin-1 concentrations in rats. *Peptides* 2011; 32: 1942-7.
- 161- Zhao Y, Ma X, Wang Q, Zhou Y, Zhang Y, Wu L, et al. Nesfatin-1 correlates with hypertension in overweight or obese Han Chinese population. *Clin Exp Hypertens* 2015; 37: 51-6.
- 162- Guo Y, Xing M, Sun W, Yuan X, Dai H, Ding H. Plasma nesfatin-1 level in obese patients after acupuncture: a randomised controlled trial. *Acupunct Med* 2014; 32: 313-317.
- 163- Gunay H, Tutuncu R, Aydın S, Dag E, Abasli D. Decreased plasma nesfatin-1 levels in patients with generalized anxiety disorder. *Psychoneuroendocrinology* 2012; 37: 1949-53.
- 164- Aslan M, Celik O, Celik N, Turkcuoglu I, Yilmaz E, Karaer A, et al. Cord blood nesfatin-1 and apelin-36 levels in gestational diabetes mellitus. *Endocrine* 2012; 41: 424-9.
- 165- Tsuchiya T, Shimizu H, Yamada M, Osaki A, Oh-I S, Ariyama Y, et al. Fasting concentrations of nesfatin-1 are negatively correlated with body mass index in non-obese males. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010; 73 (4): 484-90.

- 166- Su Y, Zhang J, Tang Y, Bi F, Liu JN. The novel function of nesfatin-1: anti-hyperglycemia. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 391: 1039-1042.
- 167- Emul M, Karamustafalioglu N, Kalelioglu T, Genc A, Tasdemir A, Gungor FC, et al. The nesfatin 1 level in male patients with manic episode and alterations of nesfatin 1 level after antipsychotic and electroconvulsive treatment. *J Affect Disord* 2013; 151: 849-53.
- 168- Ogiso K, Asakawa A, Amitani H, Nakahara T, Ushikai M, Haruta I, et al. Plasma nesfatin-1 concentrations in restricting-type anorexia nervosa. *Peptides* 2011; 32: 150-153.
- 169- Başar O, Akbal E, Köklü S, Koçak E, Tuna Y, Ekiz F, et al. A novel appetite peptide, nesfatin-1 in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Scand J Clin Lab Invest* 2012; 72: 479-483.
- 170- Boutsikou T, Briana DD, Boutsikou M, Kafalidis G, Piatopoulou D, Baka S, et al. Cord blood nesfatin-1 in large for gestational age pregnancies. *Cytokine* 2013; 61: 591-594.
- 171- Cheng YY, Zhao XM, Cai BP, Ma LN, Yin JY, Song GY. Nesfatin-1 in newborns: relationship with endocrine and metabolic and anthropometric measures. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2012; 25: 727-732.
- 172- Ghanbari-Niaki A, Kraemer RR, Soltani R. Plasma nesfatin-1 and glucoregulatory hormone responses to two different anaerobic exercise sessions. *Eur J Appl Physiol* 2010; 110: 863-868.
- 173- Chaolu H, Asakawa A, Ushikai M, Li YX, Cheng KC, Li JB, et al. Effect of exercise and high-fat diet on plasma adiponectin and nesfatin levels in mice. *Exp Ther Med* 2011; 2: 369-373.
- 174- Aydin S, Dag E, Ozkan Y, Arslan O, Koc G, Bek S, et al. Time-dependent changes in the serum levels of prolactin, nesfatin-1 and ghrelin as a marker of epileptic attacks young male patients. *Peptides* 2011; 32: 1276-80.
- 175- Saldanha JF, Carrero JJ, Mafra D. The possible role of nesfatin-1 on appetite regulation in hemodialysis patients. *Med Hypotheses* 2011; 77: 654-657.
- 176- Saldanha JF, Carrero JJ, Lobo JC, Stockler-Pinto MB, Leal VO. The newly identified anorexigenic adipokine nesfatin-1 in hemodialysis patients: Are there associations with food intake, body composition and inflammation? *Regul Pept* 2012; 173: 82-825.
- 177- Aksu O, Aydın B, Doguç DK, İlhan I, Oztürk O, Altuntas A, Demirkan H, et al. The evaluation of Nesfatin-1 levels in patients with OSAS associated with metabolic syndrome. *J Endocrinol Invest* 2014 Nov 29. [Epub ahead of print]
- 178- Shen P, Han Y, Cai B, Wang Y. Decreased levels of serum nesfatin-1 in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep Breath* 2015; 19: 515-22.
- 179- Şengül Ö, Dilbaz B, Halıcı Z, Ferah I, Çadırcı E, Yılmaz F. Decreased serum nesfatin-1 levels in endometriosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2014; 177: 34-37.
- 180- Catak Z, Aydın S, Sahin I, Kuloglu T, Aksoy A, Dagli AF. Regulatory neuropeptides (ghrelin, obestatin and nesfatin-1) levels in serum and reproductive tissues of female and male rats with fructose-induced metabolic syndrome. *Neuropeptides* 2014; 48: 167-77.
- 181- Zhang C, Wang Y, Wang Y, Li J, Liu R, Liu H. Decreased levels of serum nesfatin-1 in patients with preeclampsia. *Biomarkers*. 2014; 19: 402-406.

- 182- Albayrak A, Demiryilmaz I, Albayrak Y, Aylu B, Ozogul B, Cerrah S, Celik M. The role of diminishing appetite and serum nesfatin-1 level in patients with burn wound infection. *Iran Red Crescent Med J* 2013; 15: 389-392.
- 183- Štimac D, Klobučar Majanović S, Franjić N. Stomach-key player in the regulation of metabolism. *Dig Dis* 2014; 32: 192-201.
- 184- Gonzalez R, Tiwari A, Unniappan S. Pancreatic beta cells colocalize insulin and nesfatin immunoreactivity in rodents. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 17; 381: 643-648.
- 185- Mortazavi S. Nesfatin-1: A novel endocrine regulator of energy balance in rodents: York University (Canada) 2009; 112 <http://tmclibrary.summon.serialssolutions.com> Erişim tarihi: 10.03.2015
- 186- Zhang AQ, Li XL, Jiang CY, Lin L, Shi RH, Chen JD, Oomura Y. Expression of nesfatin-1/NUCB2 in rodent digestive system. *World J Gastroenterol* 2010; 14; 16: 1735-1741.
- 187- Goebel M, Stengel A, Wang L, Taché Y. Central nesfatin-1 reduces the nocturnal food intake in mice by reducing meal size and increasing inter-meal intervals. *Peptides* 2011; 32(1):36-43.
- 188- Tagaya Y, Osaki A, Miura A, Okada S, Ohshima K, Hashimoto K, Yamada M, Satoh T, Shimizu H, Mori M. Secreted nucleobindin-2 inhibits 3T3-L1 adipocyte differentiation. *Protein Pept Lett* 2012; 19: 997-1004.
- 189- Ishida E, Hashimoto K, Shimizu H, Okada S, Satoh T, Kato I, et al. Nesfatin-1 induces the phosphorylation levels of cAMP response element-binding protein for intracellular signaling in a neural cell line. *PLoS One* 2012; 7(12):e50918.
- 190- Tagaya Y, Miura A, Okada S, Ohshima K, Mori M. Nucleobindin-2 is a positive modulator of EGF-dependent signals leading to enhancement of cell growth and suppression of adipocyte differentiation. *Endocrinology* 2012; 153: 3308-3019.
- 191- Li Z, Xu G, Li Y, Zhao J, Mulholland MW, Zhang W. mTOR-dependent modulation of gastric nesfatin-1/NUCB2. *Cell Physiol Biochem* 2012; 29: 493-500.
- 192- Zhang W, Zhang C, Fritze D, Chai B, Li J, Mulholland M. Modulation of food intake by mTOR signaling in the dorsal motor nucleus of vagus in male rats: Focus on ghrelin and nesfatin-1. *ExpPhysiol* 2013; 98: 1696-704.
- 193- Folgueira C, Seoane LM, Casanueva FF. The brain-stomach connection. *Front Horm Res* 2014; 42: 83-92.
- 194- Nakata M, Manaka K, Yamamoto S, Mori M, Yada T. Nesfatin-1 enhances glucose-induced insulin secretion by promoting Ca<sup>2+</sup> influx through L-type channels in mouse islet  $\beta$ -cells. *Endocr J* 2011; 58: 305-13.
- 195- Stengel A, Taché Y. Yin and Yang - the Gastric X/A-like Cell as Possible Dual Regulator of Food Intake. *J Neurogastroenterol Motil* 2012; 18: 138-149.
- 196- Stengel A, Taché Y. Gastric peptides and their regulation of hunger and satiety. *Curr Gastroenterol Rep* 2012; 14: 480-488.
- 197- Stengel A, Hofmann T, Goebel-Stengel M, Lembke V, Ahnis A, Elbelt U, Lambrecht NW, Ordemann J, Klapp BF, Kobelt P. Ghrelin and NUCB2/nesfatin-1 are expressed in the same gastric cell and differentially correlated with body mass index in obese subjects. *Histochem Cell Biol* 2013; 139: 909-918.

- 198- Varricchio E, Russolillo MG, Russo F, Lombardi V, Paolucci M, Maruccio L. Expression and immunohistochemical detection of nesfatin-1 in the gastrointestinal tract of Casertana pig. *Acta Histochem* 2014; 116: 583-587.
- 199- Stengel A, Taché Y. Role of NUCB2/Nesfatin-1 in the Hypothalamic Control of Energy Homeostasis. *Horm Metab Res* 2013; 45: 975-9.
- 200- Colmers WF. Less fat with nesfatin. *Trends Endocrinol Metab* 2007; 18: 131-2.
- 201- Stengel A, Goebel M, Wang L, Rivier J, Kobelt P, Mönnikes H, et al. Central nesfatin-1 reduces dark-phase food intake and gastric emptying in rats: differential role of corticotropin-releasing factor 2 receptor. *Endocrinology* 2009; 150: 4911-9.
- 202- Stengel A, Goebel M, Taché Y. Nesfatin-1: a novel inhibitory regulator of food intake and body weight. *Obes Rev* 2011; 12: 261-71.
- 203- Stengel A, Taché Y. Role Of Brain NUCB2/Nesfatin-1 In The Regulation Of Food Intake. *Curr Pharm Des* 2013; 19 (39): 6955-9.
- 204- Sedbazar U, Maejima Y, Nakata M, Mori M, Yada T. Paraventricular NUCB2/nesfatin-1 rises in synchrony with feeding suppression during early light phase in rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2013; 434: 434-8.
- 205- Keklikoğlu N. c-fos Gene and Fos Proteins. *Cerrahpaşa J Med* 2004; 35: 1-14.
- 206- Rouquet T, Clément P, Gaigé S, Tardivel C, Roux J, Dallaporta M, Bariohay B, Troadec JD, Lebrun B. Acute oral metformin enhances satiation and activates brainstem nesfatergic neurons. *Obesity (Silver Spring)* 2014; 22: 2552-2562.
- 207- Dong J, Guan HZ, Jiang ZY, Chen X. Nesfatin-1 influences the excitability of glucosensing neurons in the dorsal vagal complex and inhibits food intake. *PLoS One* 2014; 9(6): e98967.
- 208- Yosten GL, Samson WK. Cardiovascular And Antidipsogenic Effects Of Nesfatin-1. *Curr Pharm Des* 2013; 19: 6973-695.
- 209- Darambazar G, Nakata M, Okada T, Wang L, Li E, Shinozaki A, Motoshima M, Mori M, Yada T. Paraventricular NUCB2/nesfatin-1 is directly targeted by leptin and mediates its anorexigenic effect. *Biochem Biophys Res Commun* 2015 Jan 24; 456: 913-8.
- 210- Könczöl K, Pintér O, Ferenczi S, Varga J, Kovács K, Palkovits M, et al. Nesfatin-1 exerts long-term effect on food intake and body temperature. *Int J Obes (Lond)* 2012; 36: 1514-21.
- 211- Jégo S, Salvert D, Renouard L, Mori M, Goutagny R, Luppi PH, Fort P. Tuberal hypothalamic neurons secreting the satiety molecule Nesfatin-1 are critically involved in paradoxical (REM) sleep homeostasis. *PLoS One* 2012; 7(12): e52525.
- 212- Vas S, Ádori C, Könczöl K, Kátai Z, Pap D, Papp RS, et al. Nesfatin-1/NUCB2 as a potential new element of sleep regulation in rats. *PLoS One* 2013; 8(4): e59809.
- 213- Yosten GL, Samson WK. The anorexigenic and hypertensive effects of nesfatin-1 are reversed by pretreatment with an oxytocin receptor antagonist. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2010; 298: 1642-1647.
- 214- Price CJ, Samson WK, Ferguson AV. Nesfatin-1 inhibits NPY neurons in the arcuate nucleus. *Brain Res* 2008 16; 1230: 99-106.

- 215- Li C, Zhang F, Shi L, Zhang H, Tian Z, Xie J, Jiang H. Nesfatin-1 Decreases Excitability of Dopaminergic Neurons in the Substantia Nigra. *J Mol Neurosci* 2014; 52: 419-24.
- 216- Cristina Brailoiu G, Deliu E, Tica AA, Rabinowitz JE, Tilley DG, Benamar K, Koch WJ, Brailoiu E. Nesfatin-1 activates cardiac vagal neurons of nucleus ambiguus and elicits bradycardia in conscious rats. *J Neurochem* 2013; 126: 739-48.
- 217- Bonnet MS, Ouelaa W, Tillement V, Trouslard J, Jean A, Gonzalez BJ, et al. Gastric distension activates NUCB2/nesfatin-1-expressing neurons in the nucleus of the solitary tract. *Regul Pept* 2013; 187: 17-23.
- 218- Kuksis M, Ferguson AV. Cellular actions of nesfatin-1 in the subfornical organ. *J Neuroendocrinol* 2014; 26: 237-246.
- 219- Nakata M, Yada T. Role Of NUCB2/Nesfatin-1 In Glucose Control: Diverse Functions In Islets, Adipocytes And Brain. *Curr Pharm Des* 2013; 19 (39): 6960-5.
- 220- Li Z, Gao L, Tang H, Yin Y, Xiang X, Li Y, et al. Peripheral effects of nesfatin-1 on glucose homeostasis. *PLoSOne*. 2013; 8(8): e71513.
- 221- Kolgazi M, Cantali-Ozturk C, Deniz R, Ozdemir-Kumral ZN, Yuksel M, Sirvanci S, Yeğen BC. Nesfatin-1 alleviates gastric damage via direct antioxidant mechanisms. *J Surg Res* 2015 Jan; 193 (1): 111-8.
- 222- Szlachcic A, Majka J, Strzalka M, Szmyd J, Pajdo R, Ptak-Belowska A, et al. Experimental healing of preexisting gastric ulcers induced by hormones controlling food intake ghrelin, orexin-A and nesfatin-1 is impaired under diabetic conditions. A key to understanding the diabetic gastropathy. *J Physiol Pharmacol*. 2013; 64: 625-637.
- 223- Szlachcic A, Sliwowski Z, Krzysiek-Maczka G, Majka J, Surmiak M, Pajdo R, et al. New satiety hormone nesfatin-1 protects gastric mucosa against stress-induced injury: Mechanistic roles of prostaglandins, nitric oxide, sensory nerves and vanilloid receptors. *Peptides* 2013; 49: 9-20.
- 224- Atsuchi K, Asakawa A, Ushikai M, Ataka K, Tsai M, Koyama K, et al. Centrally administered nesfatin-1 inhibits feeding behaviour and gastroduodenal motility in mice. *Neuroreport*. 2010; 21: 1008-1011.
- 225- Watanabe A, Mochiki E, Kimura A, Kogure N, Yanai M, Ogawa A, Toyomasu Y, Ogata K, Ohno T, Suzuki H, Kuwano H. Nesfatin-1 Suppresses Gastric Contractions and Inhibits Interdigestive Migrating Contractions in Conscious Dogs. *Dig Dis Sci* 2015. [Epub ahead of print]
- 226- Dai H, Li X, He T, Wang Y, Wang Z, Wang S, Xing M, Sun W, Ding H. Decreased plasma nesfatin-1 levels in patients with acute myocardial infarction. *Peptides* 2013; 46: 167-171.
- 227- Feijóo-Bandín S, Rodríguez-Penas D, García-Rúa V, Mosquera-Leal A, Otero MF, Pereira E, et al. Nesfatin-1 in Human and Murine Cardiomyocytes: Synthesis, Secretion, and Mobilization of GLUT-4. *Endocrinology*. 2013; 154: 4757-4767.
- 228- Ayada C, Turgut G, Turgut S, Güçlü Z. 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. *Gen Physiol Biophys* 2015; 34: 81-8.
- 229- Dong J, Xu H, Xu H, Wang PF, Cai GJ, Song HF, et al. Nesfatin-1 stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase in STZ-induced type 2 diabetic mice. *PLoS One* 2013; 8(12): e83397.

- 230- Scotece M, Conde J, Abella V, López V, Lago F, Pino J, et al NUCB2/nesfatin-1: a new adipokine expressed in human and murine chondrocytes with pro-inflammatory properties, an in vitro study. *J Orthop Res* 2014 May; 32 (5): 653-60.
- 231- Leivo-Korpela S, Lehtimäki L, Hämäläinen M, Vuolteenaho K, Kööbi L, Järvenpää R, et al. Adipokines NUCB2/nesfatin-1 and visfatin as novel inflammatory factors in chronic obstructive pulmonary disease. *Mediators Inflamm* 2014; 2014: 232167.
- 232- Haghshenas R, Jafari M, Ravasi A, Kordi M, Gilani N, Shariatzadeh M. The effect of eight weeks endurance training and high-fat diet on appetite-regulating hormones in rat plasma. *Iran J Basic Med Sci* 2014; 17: 237-43.
- 233- Mirzaei K, Hossein-Nezhad A, Keshavarz SA, Koohdani F, Eshraghian MR, Saboor-Yaraghi AA, et al. Association of nesfatin-1 level with body composition, dietary intake and resting metabolic rate in obese and morbid obese subjects. *Diabetes Metab Syndr* 2014; 1871-4021 22-28.
- 234- Mohan H, Ramesh N, Mortazavi S, Le A, Iwakura H, Unniappan S. Nutrients Differentially Regulate Nucleobindin-2/Nesfatin-1 In Vitro in Cultured Stomach Ghrelinoma (MGN3-1) Cells and In Vivo in Male Mice. *PLoS One* 2014; 9(12): e115102.
- 235- Xu Y, Pang X, Dong M, Wen F, Zhang Y. Nesfatin-1 inhibits ovarian epithelial carcinoma cell proliferation in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 440: 467-472.
- 236- Jiang G, Wang M, Wang L, Chen H, Chen Z, Guo J, et al. The protective effect of nesfatin-1 against renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Ren Fail* 2015: 1-8.
- 237- Mohebbi H, Nourshahi M, Ghasemikaram M, Safarimosavi S. Effects of exercise at individual anaerobic threshold and maximal fat oxidation intensities on plasma levels of nesfatin-1 and metabolic health biomarkers. *J Physiol Biochem.* 2015; 71: 79-88.
- 238- Gantulga D, Maejima Y, Nakata M, Yada T. Glucose and insulin induce Ca<sup>2+</sup> signaling in nesfatin-1 neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012; 420: 811-815.
- 239- Liu F, Yang Q, Gao N, Liu F, Chen S. Decreased plasma nesfatin-1 level is related to the thyroid dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Res* 2014; 2014: 128014(5 pages).
- 240- Sawicka B, Bossowski A. Analysis of serum levels of nesfatin-1 in children and adolescents with autoimmune thyroid diseases. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab* 2013; 19: 5-10.
- 241- Könczöl K, Bodnár I, Zelena D, Pintér O, Papp RS, Palkovits M, Nagy GM, Tóth ZE. Nesfatin-1/NUCB2 may participate in the activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in rats. *Neurochem Int* 2010; 57: 189-197.
- 242- Inhoff T, Mönnikes H, Noetzel S, Stengel A, Goebel M, Dinh QT, Riedl A, Bannert N, Wisser AS, Wiedenmann B, Klapp BF, Taché Y, Kobelt P. Desacyl ghrelin inhibits the orexigenic effect of peripherally injected ghrelin in rats. *Peptides* 2008; 29: 2159-2168.
- 243- Ülger BV, Gül M, Uslukaya Ö, Oğuz A, Bozdağ Z, Yüksel H, Böyük A. New hormones to predict the severity of gallstone-induced acute pancreatitis. *Turk J Gastroenterol* 2014; 25: 714-717.
- 244- Chung Y, Kim J, Im E, Kim H, Yang H. Progesterone and 17 $\beta$ -estradiol regulate expression of nesfatin-1/NUCB2 in mouse pituitary gland. *Peptides* 2014; 63: 4-9.

- 245- Gonzalez R, Shepperd E, Thiruppugazh V, Lohan S, Grey CL, Chang JP, Unniappan S. Nesfatin-1 regulates the hypothalamo-pituitary-ovarian axis of fish. *Biol Reprod* 2012; 87(4):84, 1–11.
- 246- Bali A, Singh N, Jaggi AS. Neuropeptides as therapeutic targets to combat stress-associated behavioral and neuroendocrinological effects. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2014; 13: 347-68.
- 247- Maejima Y, Shimomura K, Sakuma K, Yang Y, Arai T, Mori M, Yada T. Paraventricular nucleus nesfatin-1 neurons are regulated by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP). 2013; 551: 39-42.
- 248- Yang M, Zhang Z, Wang C, Li K, Li S, Boden G, Li L, Yang G. Nesfatin-1 action in the brain increases insulin sensitivity through Akt/AMPK/TORC2 pathway in diet-induced insulin resistance. *Diabetes* 2012; 61: 1959-1968.
- 249- Xia ZF, Fritze DM, Li JY, Chai B, Zhang C, Zhang W, Mulholland MW. Nesfatin-1 inhibits gastric acid secretion via a central vagal mechanism in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2012 Sep 1; 303 (5): G570-7.
- 250- Finelli C, Martelli G, Rossano R, Padula MC, La Sala N, Sommella L, Tarantino G. Mini review: Nesfatin-1, Role As Possible New Anti-obesity Treatment. *EXCLI Journal* 2014; 13: 586-591.
- 251- Mortazavi S, Gonzalez R, Ceddia R, Unniappan S. Long-term Infusion of Nesfatin-1 Causes a Sustained Modulation of Whole-Body Energy Homeostasis of Male Fischer 344 Rats. *Front Cell Dev Biol* 08 April 2015, [http://dx. doi. org/10. 3389/fcell. 2015. 00022](http://dx.doi.org/10.3389/fcell.2015.00022) Erişim tarihi: 10.03.2015
- 252- Catli G, Abaci A, Anik A, Böber E. Low serum nesfatin-1 levels may be a contributing factor for monogenic obesity due to prohormone convertase 1 deficiency. *Med Hypotheses* 2013; 81: 172-4.
- 253- [http://en.wikipedia.org/wiki/intracellular\\_pH](http://en.wikipedia.org/wiki/intracellular_pH) Erişim tarihi: 10.03.2015
- 254- García-Galiano D, Navarro VM, Roa J, Ruiz-Pino F, Sánchez-Garrido MA, et al. The anorexigenic neuropeptide, nesfatin-1, is indispensable for normal puberty onset in the female rat. *J Neurosci* 2010; 30: 7783-92.
- 255- Inhoff T, Stengel A, Peter L, Goebel M, Taché Y, Bannert N, Wiedenmann B, Klapp BF, Mönnikes H, Kobelt P. Novel insight in distribution of nesfatin-1 and phospho-mTOR in the arcuate nucleus of the hypothalamus of rats. *Peptides* 2010; 31: 257-62.
- 256- Karbowniczek M, Robertson GP, Henske EP. Mechanisms of Signal Transduction: Rheb Inhibits C-Raf Activity and B-Raf/C-Raf Heterodimerization. *J Biol Chem* 2006; 281: 25447-25456.
- 257- Steelman LS, Chappell WH, Abrams SL, Kempf CR, Long J, Laidler P, et al. Roles of the Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR pathways in controlling growth and sensitivity to therapy-implications for cancer and aging. *Aging* 2011; 3: 192-222.
- 258- <http://www.cellsignal.com/contents/science-pathway-research-cellular-metabolism/insulin-receptor-signaling-pathway/pathways-irs>. Erişim tarihi: 10.03.2015
- 259- Hardie DG. The AMP-activated protein kinase pathway-newplayers upstream and downstream. *Journal of Cell Science* 2004; 117: 5479-5487.

- 260- Sahani MH, Itakura E, Mizushima N. Expression of the autophagy substrate SQSTM1/p62 is restored during prolonged starvation depending on transcriptional upregulation and autophagy-derived amino acids. *Autophagy*. 2014; 10: 431-41.
- 261- Hardie DG. AMP-activated protein kinase-an energy sensor that regulates all aspects of cell function. *Genes ve Development* 2011; 25: 1895–1908.
- 262- Auguste LJ, Angus L, Stein TA, Wise L. Starvation and mucosal prostaglandin-E2 in gastric stress ulceration. *Crit Care Med* 1988; 16: 610-611.
- 263- Cao BH, Mortensen K, Tornehave D, Larsson LI. Apoptosis in rat gastric antrum: evidence that regulation by food intake depends on nitric oxide synthase. *J Histochem Cytochem*. 2000; 48: 123-31.
- 264- Aşan E, Dağdeviren A. *Moleküler Histoloji, Hücre*. 1. Baskı, Ankara: Atlas, 2012: 154-168.
- 265- Robbins SL and Kumar V. *Patoloji*. Uluoğlu Ö (Çeviri Editörü). 1. Baskı, Ankara: Güneş, 1990: 1-31.
- 266- Lwin T, Melton SD, Genta RM. Eosinophilic gastritis: histopathological characterization and quantification of the normal gastric eosinophil content. *Mod Pathol*. 2011; 24 (4): 556-63.
- 267- Yantiss RK. Eosinophils in the GI tract: How many is too many and what do they mean? *Mod Pathol* 2015; 28: 7-21.
- 268- Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN. *Temel Patoloji*. Çevikbaş U (Çeviri Editörü). 8. Baskı, İstanbul: Nobel, 2007: 31-58.

## **8.ÖZGEÇMİŞ**

26.10.1970 tarihinde Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ'da tamamladım. 1986 yılında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesini kazandım. 1993 yılında bu fakülteden mezun oldum. 1997 yılında TUS sınavını kazanarak Aile Hekimliği ihtisasına başladım. 2001 yılında Uzmanlık Jüri Sınavını geçerek, Aile Hekimliği Uzmanı oldum. Halen Aile Hekimliği Uzmanı olarak Elazığ Halk Sağlığı Müdürlüğü'nde görev yapmaktayım.